مجله علمی-پژوهشی

علوم کشاورزی

سال دوازدهم، شماره (۱) ۱۳۸۵

تجزیه تلاقی برگشتی پیشرفته برای شناسایی ژن‌های تحمل به شوری در برنج با استفاده از نشانگرهای میکروساتلیت*

محمدحسین فتوکیان[۱]

دانشجوی دکتری دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

علی‌رضا طالعی

استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

بهزاد قره‌یاضی

استادیار پژوهش موسسه بیوتکنولوژی کشاورزی-کرج

کاظم پوستینی

دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

علی‌اکبر شاه‌نجات بوشهری

استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

Zhikang Li

محقق بین المللی موسسه بین المللی تحقیقات برنج (IRRI) - فیلیپین

Archive of SID

چکیده

برنج به شوری نسبتاً حساس بوده و شوری رشد گیاه برنج را در مراحل مختلف از جوانه‌زنی تا رسیدن کامل به درجات مختلف تحت تاثیر قرار می‌دهد. تحمل به شوری یک صفت پیچیده ژنتیکی و فیزیولوژیکی است و دارای توارث کمی می‌باشد. گزینش برای تحمل به شوری به کمک نشانگرهای مولکولی، پیشرفت اصلاح را از طریق افزایش کارآیی گزینش سرعت می‌بخشد. به منظور مکان‌یابی QTLهای مرتبط با تحمل به شوری و تعیین سهم هر QTL در تنوع فنوتیپی صفت مربوطه، ۶۲ لاین BC_2F_5 که حاصل تلاقی واریته Tiqing بعنوان والد دوره‌ای با واریته طارم مولائی بعنوان والد دهنده می‌باشند مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه برای بررسی فنوتیپی عبارت‌اند از: غلظت سدیم و پتاسیم در ریشه و ساقه، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوائی، ارزیابی تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای در فیتوترون، و نسبت سدیم به پتاسیم در ریشه و اندام هوائی. بررسی چند شکلی در والدین با ۲۳۵ نشانگر میکروساتلیت که کل ژنوم برنج را به طور یکنواخت پوشش می‌دادند هم در ژل آگاروز و هم در ژل پلی آکریل آمید

* این تحقیق در موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج(IRR) در کشور فیلیپین انجام گرفت.

1. شماره تماس (منزل) ۵۲۴۰۱۶۶- ۰۱۹۲، fotokian@shahed.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله ۸۲/۹/۹ تاریخ دریافت نسخه نهایی ۸۳/۳/۹

www.SID.ir

انجام گرفت که در نهایت ۱۱۴ نشانگر چندشکلی کاملاً واضح نشان دادند و برای بررسی ژنوتیپی جمعیت مورد مطالعه استفاده گردیدند. طول نقشه کروموزمی مورد استفاده ۱۷۴۷/۳ سانتی مورگان با متوسط فاصله ۱۵/۳ سانتی مورگان بین دو نشانگر مجاور بود. برای همه صفات تفرق فرارونده مثبت و یا منفی مشاهده گردید. حداکثر همبستگی بین وزن تر و وزن خشک اندام هوائی (r= .94**) مشاهده گردید. برای همه صفات مورد مطالعه به استثنای غلظت سدیم در اندام هوائی و ارزیابی تحمل به شوری تیمار ۲۱ روزه شوری در فیتوترون، حداقل یک QTL بدست آمد که دارای اثرات افزایشی بودند. در هر یک از کروموزم ۱، ۴ و ۸ یک QTL شناسایی گردید که هر سه در کنترل ژنتیکی پتاسیم ریشه و نسبت سدیم به پتاسیم ریشه دارای اثرات افزایشی بودند.

واژه‌های کلیدی: برنج، تلاقی برگشتی پیشرفته، تحمل به شوری، میکروساتلیت، مکان‌یابی QTL

مقدمه

پنج درصد اراضی زراعی دنیا و نود درصد شالیزارهای دنیا بنوعی تحت تاثیر شوری هستند (۳،۹). برنج به شوری نسبتا حساس است (۱۳،۲۲،۲۳). گیاه برنج در مرحله جوانه‌زنی به شوری نسبتا متحمل و در اوایل دوره گیاهچه‌ای (۳ برگی) خیلی حساس شده و مجددا در مرحله رشد رویشی مقاوم می‌گردد. در مرحله گرده‌افشانی و لقاح نیز به شوری حساس شده و در مرحله رسیدن بطور فزاینده‌ای مقاومتر می‌گردد (۲۲،۲۳،۳۰).

اصلاح تحمل به شوری توسط محققین زیادی مطالعه شده است (۳۴، ۳۶، ۱۶). موفقیت‌های بدست آمده در گذشته به دلیل پیچیدگی کار برای اصلاح تحمل به شوری (۹)، 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 تکنیک های گزینشی کارآ چندان قابل توجه نبوده است (۸،۱۵). در حال حاضر با پیشرفت‌های که در اصلاح ژرم پلاسم، تکنیک‌های ارزیابی (۱۵)، توارث ژنتیکی (۱۴،۲۵)، تکنیک نشانگرهای ملکولی و مکان‌یابی و نرم‌افزاری (۱۸، ۱۹، ۲۰) انجام گرفته، پیشرفت اصلاح برای تحمل به شوری و سایر تنش‌های غیر زنده را تسهیل کرده است.

در برنج چندین مکانیسم برای تحمل به شوری شناسایی شده‌اند (۴۰) که عبارتند از: ممانعت از ورود نمک، جذب نمک اضافی از آوند چوبی پس از جذب اولیه ، ارتباط الکترولیتی ریشه با اندام هوائی، انتقال نمک اضافی از برگهای جوان به برگهای پیرتر، ذخیره نمک در واکوئل و رقیق نگه داشتن نمک در داخل برگ. همه این مکانیسم ها باعث کاهش یون سدیم در بافت های فعال و در نتیجه منجر به کاهش نسبت یون سدیم به یون پتاسیم در اندام های هوائی می‌گردد. نسبت یون سدیم به یون پتاسیم معیار مناسبی برای ارزیابی تحمل به شوری است. واریته‌های برنج متحمل به شوری یک یا دو مکانیسم فوق را دارند نه همه آنها را. بهترین واکنش برای افزایش تحمل به شوری با بهینه کردن چندین صفت فیزیولوژیکی که احتمالاً مستقل از هم هستند بدست می‌آید (۱۰، ۳۷). 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 تاثیر شرایط محیطی نیز می‌باشند (۲۱).

مطالعات ژنتیکی در موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج[1] نشان می‌دهد که هم اثرات افزایشی و هم اثرات غالبیت ژن در توارث تقریباً همه صفات مرتبط با شوری دخالت دارند (۱۵،۲۴،۲۸). گریگوریو و سنادهیرا (۱۴) 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

1- International Rice Research Institute(IRRI)

Archive of SID

www.SID.ir

سدیم و پتاسیم متفاوت هستند و جذب آنها در دو مسیر مختلف و مستقل از هم انجام می‌گیرد (۱۱،۱۴). اصولاً جذب سدیم به صورت آپوپلاستیک و برای پتاسیم انتقال یک فرآیند مبتنی بر غشاء است (۱۴).

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 است (۴). مطالعه پیرامون مکان‌یابی و یا نشانمند کردن، اطلاعاتی در مورد تعداد ژن‌های کنترل کننده صفت و محل این ژن‌ها در نقشه لینکاژ ارائه می‌دهد.

ترکیب تجزیه QTL[1] با تلاقی برگشتی استراتژی نوینی است جهت کشف و انتقال ژن‌های با ارزش از لاین‌های دهنده به لاین‌های اصلاحی الیت. در این استراتژی تجزیه QTL تا نسل BC_2 یا BC_3 به تاخیر انداخته می شود و در آن گزینش منفی برای کاهش یا حذف آلل های نامناسب اعمال می‌گردد (۳۸). در برنج بطور بالقوه ۵۷۰۰ الی ۱۰۰۰۰ توالی میکروساتلیت با واحدهای تکراری[2] ۲، ۳ و یا ۴ نوکلئوتیدی متفاوت وجود دارد که می‌تواند برای ساخت یک نقشه ژنتیکی کامل برنج مورد استفاده قرار گیرد (۴). میکروساتلیت یا ریزماهواره که به آنها توالی تکراری ساده[3] نیز می‌گویند دارای یک الی ۶ جفت باز هستند و در ژنوم یوکاریوت‌ها وجود دارند (۲۶). این نشانگر ملکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[4] است و دارای کاربرد فراوان در مطالعات ملکولی می‌باشد.

مک‌کوچ و همکاران (۲۶) توانستند نقشه‌ای شامل ۲۲۴۰ نشانگر میکروساتلیت را تهیه نمایند که کل ژنوم برنج را پوشش می‌دهد. در برنج این نشانگرها برای مکان‌یابی ژن و گزینش به کمک نشانگر مفید هستند (۷،۲۹) و قادرند در بین و در درون واریته‌های برنج چندشکلی نشان دهند (۱،۲،۳۲،۳۳،۳۹) . در برنج برای تحمل به شوری تعدادی از ژن‌های صفات فیزیولوژیکی مکان‌یابی شده‌اند (۱۲،۲۱،۳۵). کویاما و همکاران (۲۱) با استفاده از نشانگرهای ملکولی AFLP, RFLP, و SSR در لاین‌های اینبرد نوترکیب نشان دادند که QTLهای مربوط به جذب سدیم و پتاسیم و نسبت ایندو در گروه‌های لینکاژ متفاوت قرار دارند. آنها برای جذب پتاسیم در کروموزم‌های یک، ۴ 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 QTL شناسایی کنند. گونگ و همکاران (۱۲) نیز در کروموزم یک برنج یک QTL اصلی برای تحمل به شوری گزارش دادند. لانگ و همکاران (۲۲) 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 و زایشی به این مکان ژنی نسبت داده شد.

هدف از اجرای این تحقیق مکان‌یابی QTLهای تحمل به شوری در جمعیت BC_2F_5 حاصل از تلاقی واریته Tiqing(TQ) با واریته طارم مولائی (TM)، 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 میکروساتلیت بوده است.

مواد و روش‌ها

۱- بررسی فنوتیپی[5]

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق ۶۲ لاین تلاقی برگشتی پیشرفته BC_2F_5 بود که از تلاقی دو واریته زراعی برنج Tiqing(TQ) به عنوان والد دوره‌ای و واریته طارم مولائی به عنوان والد دهنده بدست آمدند. واریته TQ یک واریته ایندیکا اصلاح شده از کشور چین می‌باشد که نسبت به شوری دارای تحمل متوسط می‌باشد واریته طارم مولائی که واریته بومی شمال کشور است دارای کیفیت پخت عالی است و تحمل آن به شوری قابل توجه می‌باشد.

1. Quantitative Trait Loci
2. motif
3. Simple Sequence Repeat(SSR)
4. Polymerase Chain Reaction(PCR)
5. phenotyping

Archive of SID

www.SID.ir

۱-۱- ارزیابی لاین‌ها در شرایط شوری در فیتوترون

ابتدا بذور در دستگاه جوانه‌زنی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار شدند. بذور جوانه زده در درون سوراخ‌های استیروفوم[1] قرار گرفتند. برای هر لاین ۵ سوراخ در هر تکرار در نظر گرفته شد و در هر سوراخ دو بذر جوانه زده قرار گرفت. بذور جوانه زده بمدت ۳ روز بر روی آب مقطر قرار گرفتند. سپس به جای آب مقطر از محلول غذایی یوشیدا استفاده شد. گیاهچه‌ها بمدت یک هفته با محلول غذایی دارای هدایت الکتریکی ۶ دسی زیمنس بر متر ($EC=6\ dsm^{-1}$) و بمدت دو هفته با محلول دارای هدایت الکتریکی ۱۲ تیمار گردیدند. pH محلول غذایی بطور روزانه روی اسیدیته ۵/۵ تنظیم گردید. دمای روزانه و شبانه فیتوترون بترتیب ۲۹ و ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد بوده است. واریته‌های برنج FL478 و IR29 بترتیب بعنوان شاهد متحمل و حساس به شوری همراه با والدین و لاین‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. این آزمایش در دو تکرار و در فیتوترون موسسه بین المللی تحقیقات برنج-فیلیپین اجرا گردید. ارزیابی گیاهچه‌ها از نظر واکنش به شوری با استفاده از سیستم ارزیابی استاندارد (۱۷) طی دو مرحله- ۱۵ و ۲۲ روز پس از تیمار شوری - انجام گرفت. ریشه و اندام هوائی گیاهچه‌های ارزیابی شده از هم جدا و وزن تر با ترازوی حساس توزین گردید. برای اندازه گیری وزن خشک ابتدا اندام‌های فوق بمدت ۳ روز در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و سپس توزین شدند (۱۵،۱۷).

۱-۲- اندازه گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم

بیست میلی‌گرم از نمونه‌های کاملاً خرد شده ریشه و یا انـدام هوائی با ۱۰ میلی‌لیتر اسید استیک ۱٪ نرمال مخلوط و سپس بمدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. یک میلی لیتر از محلول صاف شده با ۹ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و با دستگاه جذب اتمی اسپکتروفتومتر ۳۱۰۰ مقادیر تراکم بهینه(OD) نمونه‌ها ثبت گردید. با استفاده از فرمول خط رگرسیون حاصل از تراکم بهینه و غلظت بر حسب قسمت در میلیون (ppm) نمونه‌های استاندارد شده، مقادیر OD به ppm تبدیل گردید.

۲- بررسی ژنوتیپی[2]

۲-۱- استخراج DNA

استخراج DNA به شرح زیر انجام گرفت. چهار میلی‌گرم از نوک برگ گیاهچه‌ها در ۸۰۰ میکرولیتر محلول CTAB کاملاً له گردید. هفتصد میکرولیتر از مخلوط حاصل بمدت ۱۵ دقیقه در حمام آب ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. هفتصد میکرولیتر کلروفورم پس از خنک شدن به آن اضافه وبمدت ۱۵ دقیقه مخلوط با شیکر تکان داده شد. پس از سانتریفوژ بمدت ۴ دقیقه در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، ۵۰۰ میکرولیتر از محلول روئی با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول خالص مخلوط و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد بمدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. عمل سانتریفوژ به شرح فوق مجدداً انجام گرفت. توده DNA بدست آمده با اتانول ۷۰ درصد شسته و در ۵۰ میکرولیتر محلول TE حل گردید. محلول حاصل جهت استفاده در واکنش زنجیره ای پلیمراز ۱۰۰ برابر با TE رقیق گردید.

۲-۲- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و الکتروفورز DNA

برای تهیه محصول PCR به حجم ۱۰ میکرولیتر، از دو میکرولیتر محلول DNA، ۴/۷۵ میکرولیتر آب مقطر یون‌زدایی شده، یک میکرولیتر بافر PCR ۱۰ x، یک میکرولیتر dNTP، نیم میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای جلوبر[3] و عقب‌بر[4] و ۲۵/. میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز استفاده گردید. برنامه ماشین PCR به شرح زیر تنظیم گردید: یک چرخه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه و هر چرخه شامل دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه- دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد بمدت یک

1. styrofoam
2. Genotyping
3. forward
4. backward

Archive of SID

www.SID.ir

دقیقه (برای بعضی از نشانگرها این دما ۶۱ یا ۶۷ درجه سانتی‌گراد بوده است)- دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه، یک چرخه به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (۴).

مطالعه چند شکلی در والدین با استفاده از ۲۳۵ نشانگر میکروساتلیت و در ژل‌های پلی آکریل آمید ٪۵ و آگاروز ٪۳ انجام گرفت. تعداد ۷۲ نشانگر با ژل پلی آکریل آمید و ۴۲ نشانگر با ژل آگاروز الکتروفورز گردیدند. رنگ آمیزی ژل پلی آکریل آمید با نیترات نقره (۳۳) ورنگ آمیزی ژل آگاروز با اتیدیوم بروماید انجام گرفت (۴). انتخاب نشانگر برای مطالعه چندشکلی در والدین بر اساس توزیع یکنواخت در سطح ژنوم و بررسی منابع انجام گرفت (۲۱،۲۲،۲۳).

۳- تجزیه های آماری، لینکاژ و QTL

محاسبه توزیع فراوانی صفات با نرم افزار Excel، محاسبه ضریب همبستگی فنوتیپی پیرسون با نرم‌افزار SPSS، تجزیه لینکاژ با نرم‌افزار Mapmaker و تجزیه QTL با نرم افزار QTL Cartographer V.2 (۵) انجام گرفت. شناسایی ژن‌ها یا QTLهای صفات تحمل به شوری طی دو مرحله انجام گرفت. در مرحله نخست تجزیه با دو روش مکان‌یابی فاصله‌ای(IM) و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب(CIM) بطور جداگانه انجام گرفت. در مرحله بعد فقط QTLهای که با هر دو روش دارای حداقل آستانه سه(LOD >۳) بودند انتخاب گردیدند. سرعت پیمایش بر روی کروموزم‌ها برای محاسبه لینکاژ ۵/. سانتی مورگان بود. برای تجزیه به روش CIM از رگرسیون جلوبر و مدل ۶ استفاده شد (۵). برای ۱۱۴ نشانگر میکروساتلیت که در والدین چندشکلی واضح نشان داده بودند نقشه لینکاژ تعیین گردید. این نشانگرها کل ژنوم برنج را با ۱۷۴۷/۳ سانتی مورگان با متوسط فاصله ۱۵/۳ سانتی مورگان بین دو نشانگر مجاور پوشش دادند. حداکثر طول گروه لینکاژ در کروموزم ۳ با ۲۳۱ سانتی مورگان و حداقل ۹۵/۳ سانتی مورگان در کروموزم ۱۱ بوده است. نسبت کل واریانس فنوتیپی قابل توجیه بوسیله هر QTL با معیار R^2 (نسبت مجموع مربعات قابل توجیه بوسیله هر QTL به کل مجموع مربعات) برآورد گردید (۵). نام گذاری QTLها بر اساس مک‌کوچ و همکاران (۲۷) انجام گرفت.

نتایج و بحث

۱- توزیع فراوانی صفات

نمودار یک توزیع فراوانی صفات را در لاین‌های BC_2F_5 به همراه میانگین والدین نشان می‌دهد. به استثنای ارزیابی‌های تحمل به شوری که دارای توزیع ناپیوسته بودند در بقیه صفات توزیع پیوسته مشاهده گردید. برای همه صفات تفرق فرارونده مثبت و یا منفی مشاهده گردید. برای صفات پتاسیم در اندام هوایی و نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی چولگی به سمت والد دوره‌ای مشاهده گردید. برای صفات پتاسیم ریشه، وزن خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه چولگی به سمت والد دهنده (طارم مولائی) مشاهده شد. برای سدیم ریشه و نسبت سدیم به پتاسیم ریشه هتروزیس مثبت خیلی قوی در بعضی از نتاج مشاهده گردید که برای سدیم ریشه این مقدار در بعضی از لاین‌ها حدود دو برابر بوده است. لاین‌های مورد مطالعه از نظر پتاسیم اندام هوائی و نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی در مقایسه با والد دهنده مقدار کمتری داشتند. در همه صفات مورد مطالعه (باستثنای سدیم اندام هوائی) که از اجزاء فیزیولوژیکی تحمل به شوری هستند، والد دهنده در مقایسه با والد دوره‌ای TQ دارای علائم تحمل بیشتر به شوری بود. این موضوع در پتاسیم اندام هوائی و ریشه قابل توجه بوده است. با توجه به نتایج ارزیابی تحمل به شوری در فیتوترون پس از ۲۲ روز تیمار شوری، در تعدادی از لاین‌ها تحمل به شوری بیشتر از والدین بوده است. با توجه به وجود تفرق فرارونده معنی‌دار در صفات مورد مطالعه می‌توان نسبت به استخراج لاین‌های امیدبخش از نظر تحمل به شوری و در نتیجه به انتقال و هرمی کردن ژن‌های مربوطه اقدام کرد.

Archive of SID

www.SID.ir

۲- همبستگی بین صفات

جدول یک نتایج همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه را نشان می‌دهد. وزن تر ریشه و اندام هوائی و همچنین ارزیابی تحمل به شوری در تیمار ۲۲ روزه در فیتوترون با همه صفات به استثنای سدیم ریشه دارای همبستگی معنی‌دار بودند. غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی دارای همبستگی معنی‌دار با یکدیگر نبودند و این روند برای غلظت پتاسیم نیز صادق بوده است. غلظت های سدیم و پتاسیم هم در ریشه و هم در اندام هوایی با هم ارتباط معنی‌دار نداشتند. غلظت سدیم در اندام هوایی با وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ارتباط معنی‌دار و منفی داشت، در حالیکه این رابطه برای غلظت سدیم ریشه مثبت و معنی‌دار بود واین بدان معنی است که هر چه غلظت سدیم در اندام هوایی بیشتر گردد بدلیل کاهش فتوسنتز و مواد آلی از میزان وزن کاسته میشود. ارزیابی تحمل به شوری در فیتوترون با غلظت سدیم در اندام هوایی دارای ارتباط معنی‌دار بود. این روند مورد انتظار بود زیرا با افزایش سدیم ، اثرات سوء شوری از طریق کاهش رشد و خشک شدن برگها ظاهر می‌گردد. بدلیل عدم مشاهده اختلاف معنی‌دار بین سدیم ریشه با ساقه، ارتباط صفت فوق با سدیم ریشه معنی‌دار نبوده است. غلظت سدیم در اندام هوائی و ریشه گرچه معنی‌دار نبوده است ولی هر دو با نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی دارای ارتباط معنی‌دار بودند و همانطور که انتظار می‌رفت جهت این ارتباط برای سدیم اندام هوائی مثبت و برای پتاسیم اندام هوائی منفی بوده است. غلظت سدیم در اندام هوایی با نسبت سدیم به پتاسیم ریشه همبستگی معنی‌دار داشت و این ارتباط از طریق همبستگی معنی‌دار و منفی سدیم اندام هوایی با سدیم ریشه ایجاد شده است گرچه سدیم اندام هوایی با سدیم ریشه فاقد ارتباط معنی‌دار بود. رابطه معنی‌دار ارزیابی‌های تحمل به شوری در تیمار شوری ۱۵ و ۲۲ روزه ($r= ./8^{**}$) و همسوئی واکنش آنها با سایر صفات می‌تواند موید استفاده از تیمار شوری ۱۵ روزه بجای ۲۲ روزه باشد که در این صورت در میزان مصرف امکانات و همچنین زمان صرفه جویی خواهد شد. گرچه سدیم اندام هوائی با سدیم ریشه و همچنین پتاسیم اندام هوائی با سدیم و پتاسیم ریشه دارای ارتباط معنی‌دار نبودند ولی نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی با نوع ریشه بخاطر همبستگی معنی‌دار سدیم اندام هوائی با پتاسیم ریشه، ارتباط معنی‌دار نشان داد با این توضیح که نوع ارتباط بین سدیم با اندام هوائی با پتاسیم ریشه منفی ولی بین نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی با نوع ریشه مثبت بوده است. حداکثر همبستگی بین وزن تر و وزن خشک اندام هوائی (r=./۹۴**) مشاهده گردید. همبستگی بین صفات می‌تواند ناشی از اثر پلیوتروپی ژن، اثر لینکاژ ژن‌ها، از اثر اپیستازی ژن‌ها و یا در اثر شرایط محیطی باشد.

۳- تجزیه لینکاژ و QTL

در جدول ۲ QTLهای بزرگ اثر برای صفات تحمل به شوری در جمعیت تلاقی پیشرفته حاصل از تلاقی TQ x TM ، به همراه موقعیت QTLها در کروموزم، LOD، نسبت واریانس فنوتیپی و اثر افزایشی ارائه شده است. با توجه به جمعیت مورد مطالعه که در آن لاین‌ها تقریبا خالص یا اینبرد هستند، همه اثرات ژنتیکی QTLها از نوع افزایشی می‌باشد. برای هیچیک از QTLهای مکان‌یابی شده در این تحقیق اثرات غالبیت و اپیستازی مشاهده نگردید. در همه ۱۲ کروموزم برنج باستثنای کروموزم ۲، ۹، ۱۰ و ۱۲ حداقل یک QTL بدست آمد. بزرگترین LOD در Qkr1 که غلظت پتاسیم در ریشه را کنترل می‌کند مشاهده گردید. این QTL از طریق نشانگرهای RM473A-RM128 که در کروموزم یک واقع است شناسایی گردید و با اثر افزایشی ۱۶- حدود ۳۰ درصد واریانس فنوتیپی صفت فوق را در جمعیت مورد مطالعه کنترل کرد. این QTL که از والد طارم مولائی در زمینه ژنتیکی والد دوره‌ای قرار گرفته است باعث افزایش این صفت در والد اخیر شده است. در کروموزم ۴ از طریق فواصل نشانگرهای RM241-RM348 یک QTL برای پتاسیم ریشه و یک QTL برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه مکان‌یابی گردید که برای هر دو صفت مقدار LOD برابر ۳ و اثر افزایشی حدود ۷ بوده است. این QTL توانست ۹ درصد واریانس فنوتیپی هر دو صفت را توجیه کند. در فواصل نشانگرهای RM473A-RM128 در کروموزم یک نیز برای صفات فوق QTL شناسایی گردید. این QTLها با اثر افزایشی منفی از والد دهنده وارد واریته TQ شدند. برای هر یک از صفات پتاسیم ریشه، وزن تر اندام هوائی و نسبت سدیم به پتاسیم ریشه

Archive of SID

www.SID.ir

یک QTL به کمک نشانگر RM149 در کروموزم ۸ با LOD حدود ۴-۳/۵ مکان‌یابی شد که دارای اثر افزایشی منفی بودند و باعث افزایش صفات فوق در نتاج گردید. QTL بدست آمده به کمک فواصل نشانگرهای RM431-RM14 در کروموزم یک در کنترل صفات وزن خشک و تر ریشه و همچنین وزن خشک اندام هوائی دارای اثر معنی‌دار بوده است. اثر افزایشی این QTL برای هر ۳ صفت فوق منفی بوده و حداکثر در وزن تر ریشه مشاهده گردید. مقدار LOD و همچنین مقدار واریانس فنوتیپی این QTL برای وزن تر ریشه بیش از دو صفت دیگر بوده است. در نمودار ۲ موقعیت QTL های دارای اثر پلیوتروپیک به همراه اثر افزایشی که در جمعیت گیاهی مورد مطالعه به دست آمدند نشان داده شده است. همبستگی معنی‌دار بین پتاسیم ریشه با نسبت سدیم به پتاسیم ریشه، همبستگی معنی‌دار بین پتاسیم ریشه، وزن تر اندام هوائی و نسبت سدیم به پتاسیم ریشه و همچنین همبستگی معنی‌دار بین وزن تر و خشک ریشه و وزن خشک اندام هوائی (جدول ۲) می‌تواند با توجه به مکان‌یابی QTLهای پلیوتروپیک در این تحقیق ناشی از اثر پلیوتروپی باشد. شناسایی بیش از یک QTL برای تعدادی از صفات بویژه در پتاسیم ریشه و نسبت سدیم به پتاسیم ریشه نشانگر کمی بودن و پلی ژنی بودن صفات مرتبط با تحمل به شوری است.

برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی گرچه هیچ QTL بدست نیامد ولی برای نسبت ایندو یک QTL در کروموزم یک مکان‌یابی شد که توانست ۱۹ درصد واریانس فنوتیپی صفت فوق را به خود نسبت دهد. برای وزن خشک اندام هوائی در کروموزم‌های ۱ و ۱۱ دو QTL بدست آمد که اولی دارای اثر افزایشی منفی و دیگری دارای اثر افزایشی مثبت بود. نوع منفی از والد دهنده وارد نتاج شده است. برای صفاتی که QTLهای مربوطه دارای اثر افزایشی منفی و مثبت بودند انتظار می‌رود که در نتاج حامل هر دو نوع QTL اثرات خنثی‌کنندگی مشاهده شود.

گریگوریو (۱۵) توانست با نشانگرهای AFLP برای جذب پتاسیم در کروموزم‌های یک و ۴ و برای جذب سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم در کروموزم یک، QTL مکان‌یابی کند. ما نیز در این تحقیق برای صفات فوق توانستیم در کروموزم‌های یاد شده QTL پیدا کنیم که ممکن است با نتایج گریگوریو مطابقت داشته باشند.

لانگ و همکاران (۲۳) با استفاده از نشانگرهای RFLP توانستند برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی در کروموزم یک، QTL شناسایی کنند. در این تحقیق نیز ما توانستیم برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی یک QTL با LOD= ۴ شناسایی کنیم که توانست بیش از ۱۹ درصد واریانس فنوتیپی این صفت را به خود نسبت دهد. این QTL ممکن است در ارتباط با QTL بدست آمده توسط لانگ و همکاران (۲۳) باشد. وی با نشانگر RM214 که در کروموزم ۷ قرار دارد توانست برای نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوائی یک QTL گزارش نماید. این نشانگر در تحقیق ما نتوانست در جمعیت مورد مطالعه QTL شناسایی نماید. با نشانگر RM223 یک QTL موثر بوسیله لانگ و همکاران (۲۴) در کروموزم ۸ برای تحمل به شوری در مرحله رویشی برنج مکان‌یابی شد. در تحقیق ما گرچه این نشانگر در بین والدین چندشکلی نشان داد ولی دارای لینکاژ کافی با QTL مربوطه نبوده است.

کویاما و همکاران (۲۱) با نشانگر RFLP توانستند برای غلظت پتاسیم در اندام هوائی در کروموزم یک QTL پیدا کنند. در این تحقیق نیز در این کروموزم برای صفت فوق QTL بدست آمد که ممکن است در همان مکان واقع باشد.

فلاور و همکاران (۱۰) با نشانگرهای AFLP توانستند برای هر یک از صفات جذب سدیم در کروموزم یک، نسبت سدیم به پتاسیم در کروموزم ۴، یک QTL شناسایی کنند. ما هم در این تحقیق برای صفات فوق در کروموزم‌های یاد شده توانستیم QTL مکان‌یابی کنیم که احتمالا ممکن است این QTLها در مکان‌های مشابه قرار داشته باشند.

کویاما وهمکاران (۲۱) توانستند با نشانگر RM5 که در کروموزم یک واقع است برای نسبت سدیم به پتاسیم و با نشانگر RM261 در کروموزم ۴ برای جذب پتاسیم یک QTL شناسایی نمایند. ما هم توانستیم با این نشانگرها QTL های مربوطه را شناسایی کنیم که دارای LOD حدود ۴ و اثر افزایشی حدود ۷/۵- بودند و توانستند هر کدام ۱۹ درصد واریانس فنوتیپی صفت مربوطه را توجیه کنند. وی توانست با OSR19 یک QTL مکان‌یابی کند که دارای اثر پلیوتروپیک برای صفات جذب پتاسیم، وزن

Archive of SID

www.SID.ir

خشک و غلظت سدیم بوده است. در این تحقیق این نشانگر بین والدین چندشکلی نشان داد ولی لینکاژ معنی‌داری با صفات فوق نشان نداد.

گرچه در جمعیت مورد مطالعه نشانگرهای بکار رفته کل ژنوم برنج را پوشش دادند ولی در بعضی نقاط و در بعضی از کروموزم‌ها مثل کروموزم‌های ۴، ۶، ۷، ۹ و۱۲ در مناطقی بدلیل فقدان چندشکلی بین والدین از نظر آغازگرهای این نواحی، این پوشش کامل نبوده است. بروندای و همکاران (۶) و همچنین عارف (۴) در کروموزم‌های ۱، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۱۰ چندشکلی کمتر از میزان مورد انتظار مشاهده کردند. تولید و تکثیر نشانگرهای میکروساتلیت بیشتر (۲۷) برای افزایش تعداد نشانگرهای مکان‌یابی شده در همه کروموزم‌ها مفید خواهد بود و همچنین دقت مکان‌یابی QTL را تسهیل خواهد کرد.

QTLهای ارائه شده در جدول ۲ دارای ۳ <LOD هستند. برای این صفات و تعداد دیگری از صفات نیز QTL با LOD کمتر از ۳ و بزرگتر از ۲/۵ بدست آمد که در جدول ارائه نشده‌اند. بعبارت دیگر نتایج بدست آمده حالت پلی ژن بودن صفات مورد مطالعه را مورد تائید قرار می‌دهد و این حالت برای صفات پتاسیم ریشه و نسبت سدیم به پتاسیم ریشه بسیار معنی‌دار است و برای این صفات تعداد قابل توجه‌ای QTL بدست آمد.

همان طوری که می‌دانیم یک QTL می‌تواند شامل یک ژن و یا بیش از یک ژن باشد که تحت حالت اخیر می‌توان برای همبستگی بین صفات علاوه بر پلیوتروپی، لینکاژ را نیز کاندید نمود.

QTLهای شناسایی شده با اثر افزایشی منفی در این تحقیق می‌تواند برای اصلاح تحمل به شوری برنج بویژه در هرمی کردن ژن‌ها مورد استفاده قرار گیرند. انتقال QTLهای موثر در این تحقیق بدرون یک زمینه ژنتیکی مناسب به کمک نشانگر می‌تواند روش خوبی در اصلاح تحمل به شوری در برنج باشد.

سپاسگزاری

از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری که با حمایت مالی زمینه حضور اینجانب را در موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج- فیلیپین جهت انجام این تحقیق فراهم نمود سپاسگزارم.

منابع و مأخذ:

1. Akagi H., Y. Yokozeki, A. Inagaki, and T. Fujimura. 1996. Microsatellite DNA markers for rice chromosomes.Theor. Appl. Genet. 93:1071-1077.
2. 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.
3. 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. 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.
4. 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.
5. 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.

Archive of SID

www.SID.ir

6. 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.
7. 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.
8. Flowers T.J. and A.R. Yeo.1995. Breeding for salinity resistance in crop plants:where next? Aust. J. Plant Physiology. 22:875-884.
9. Flowers T.J., A. Garcia, M. Koyama, and AR. Yeo. 1997. Breeding for salinity resistance in crop plants: The role of molecular biology. Acta Physiologiae Plantarum.19(4):427-433.
10. 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(342):99-106.
11. Garcia, A., CA. Rizzo, J. Ud-Din, S.L. Bartos, T.J. Flowers, and A.R. Yeo. 1997. Sodium and potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanism of sodium : Potassium selectivity differs between rice and wheat. Plant, Cell and Environment.20(9):1167-1174.
12. 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.
13. Gregorio, G.B. 1997. Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP). PhD thesis.University of Philippines in Los Banos.
14. Gregorio G.B. and D. Senadhira. 1993. Genetic analysis of salinity tolerance in rice. Theor. Appl. Genet. 86:333-338.
15. 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.
16. 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.
17. Internationl Rice Research Institute. 2002. Standard Evaluation System for rice (SES). Internationl Rice Research Institute.Philippines. 56 pages.
18. Jansen R.C. and P. Stam. 1994. High resolution of quantitatie traits into multiple loci via interval mapping. Genetics 136:1447-1455.
19. Kearsey, M.J. and A.G.L. Farquhar. 1998. QTL analysis in plants; where are we now?. Heredity 80:137-142.
20. Kearsey, M.J. and V. Hyne. 1994. QTL analysis: a simple marker-regression approach. Theor. Appl. Genet. 89:698-702.
21. 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.
22. Lang N.T., S. Yanagihara, and B.C. Buu. 2001. 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):1-10.
23. Lang N.T., S. Yanagihara, and B.C. Buu. 2001. QTL analysis of salt tolerance in rice (Oryza sativa L.). SABRAO Journal of Breeding and Genetics. 33(1):11-20.
24. Lee, K.S. 1995. Variability and genetics of salt tolerance in japonica rice. PhD thesis. University of Philippines, Los Banos, Philippines.
25. 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(2):7-13.
26. 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.

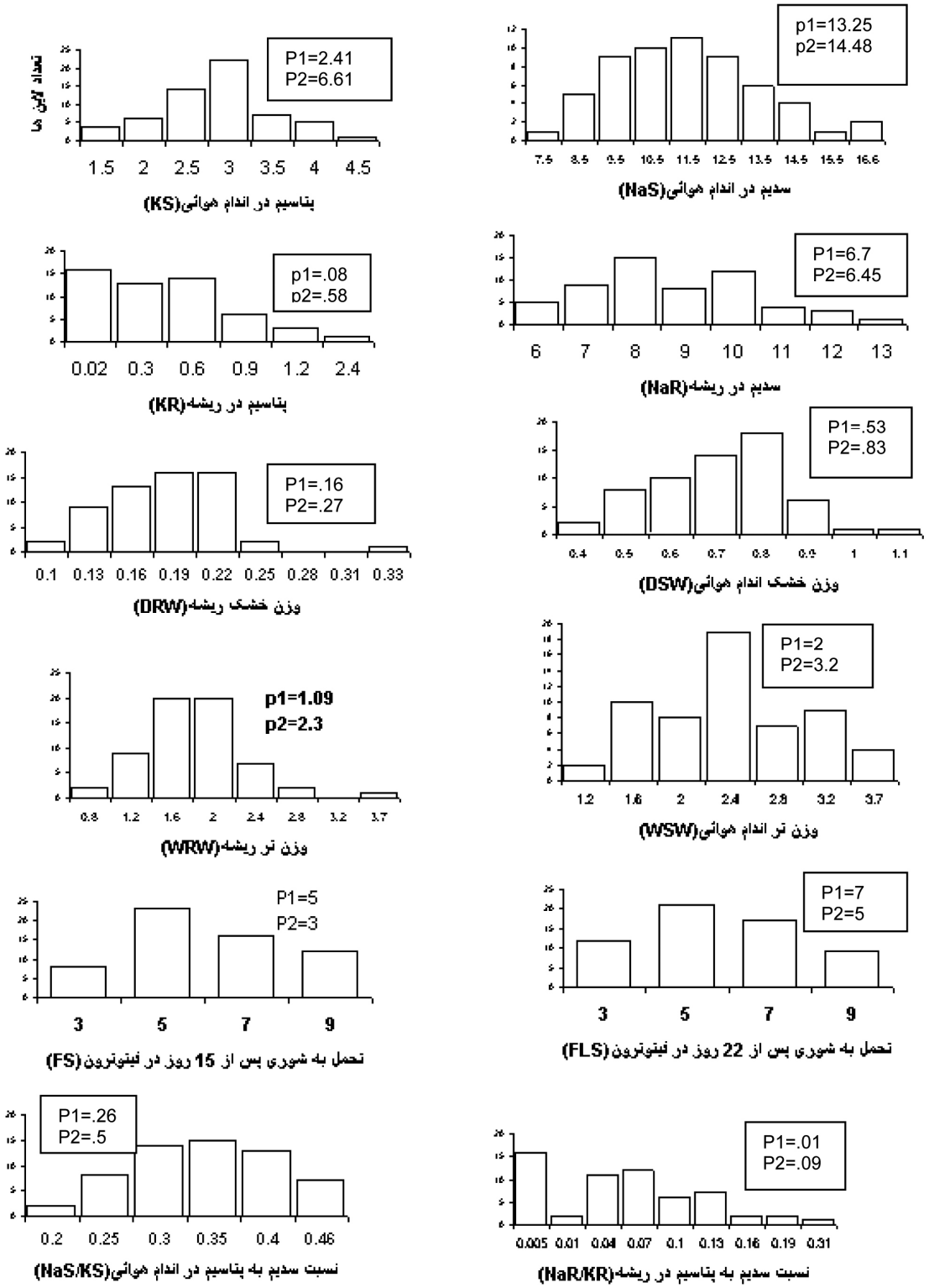
Archive of SID

www.SID.ir

27. McCouch S.R.,Y.G. Cho, M. Yano, E. Paul, and M. Blinstrub.1997. Report on QTL nomenclature. Rice Genetic Newsletter. 14:11-13.
28. Mishra B., M. Akbar, 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.
29. 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.
30. Moradi, F. 2002. Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stages. PhD thesis. University of Philippines,Los Banos.Philippines.
31. Mori, I. And T. Kinoshita. 1987. Salt tolerance of rice callus clones. Rice Genetic Newsletter 4:112-113.
32. 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.
33. 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.
34. Ponnamperuma, F.N. 1984. Role of cultivar tolerance in increasing rice production in saline landa. Strategies for crop improvement. John Willey and Sons.443 pages.
35. Prasad S.R., P.G. Bagali, S. Hiltalmani, H.E. Shashidhar. 2000. Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice. Curr. Sci. 78:162-164.
36. Shannon, M.C. 1984. Breeding, selection and the genetics of salt tolerance.In: Staples, R.CR and G.H. Toenniessen. Salinity tolerance in plants. Johan willey and Sons.pp:231-254.
37. Shehata Ismail, S.M. 1995. Genetic studies on salt and drought tolerance in rice. PhD thesis. Zagazig university. Egypt.
38. Tanksley, S.D. and J.C. Nelson. 1996. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. Theor. Appl. Genet. 92:191-203.
39. Yang G.P., M.A. Saghai Maroof, C.G. Xu, Q. Zhang, and R.M. Biyashew. 1994. Comparative analysis of microsatellited DNA polymophism in landraces and cultivars of rice. Mol. Gen. Genet. 245:187-194.
40. 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.
41. 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.

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۱. توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت BC_2F_5. والد دوره‌ای Tiqing با P1 و والد دهنده طارم مولائی با P2 نشان داده شده‌اند. در ارزیابی تحمل به شوری عدد ۳ تحمل و عدد ۹ حساسیت به شوری را نشان می‌دهد.

www.SID.ir

جدول ۱- ضرایب همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه در جمعیت BC_2F_5 حاصل از تلاقی TQ x TM .

a	Potas- ium in Shoot (KS)	NaS	KR	NaR	DSW	DRW	WRW	WSW	FS	FLS	NaS/KS
Sodium in Shoot (NaS)	-.12										
Potassium in Root (KR)	-.03	-.34**									
Sodium in Root (NaR)	-.08	.02	.48**								
Dry Shoot Weight (DSW)	.15	-.71**	.38**	.19*							
Dry Root Weight (DRW)	.15	-.63**	.35**	.19*	.89**						
Wet Root Weight (WRW)	.25**	-.62**	.3**	.09	.8**	.81**					
Wet Shoot Weight (wsw)	.24**	-.76**	.35**	.07	.94**	.85**	.89**				
Salinity Tolerance after 15 days(FS)	-.07	.71**	-.29**	-.06	-.75**	-.65**	-.67**	-.79**			
Salinity Tolerance after 22 days (FLS)	-.21*	.71**	-.34**	-.03	-.81**	-.72**	-.73**	-.86**	.8**		
NaS/KS	-.74**	.72**	-.16	.07	-.53**	-.5**	-.57**	-.64**	.51**	.6**	
NaR/KR	.005	.47**	-.73**	-.01	-.38**	-.3**	-.33**	-.39**	.33**	.4**	.23**

*,** بترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ٪۵ و ٪۱

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

Archive of SID

www.SID.ir

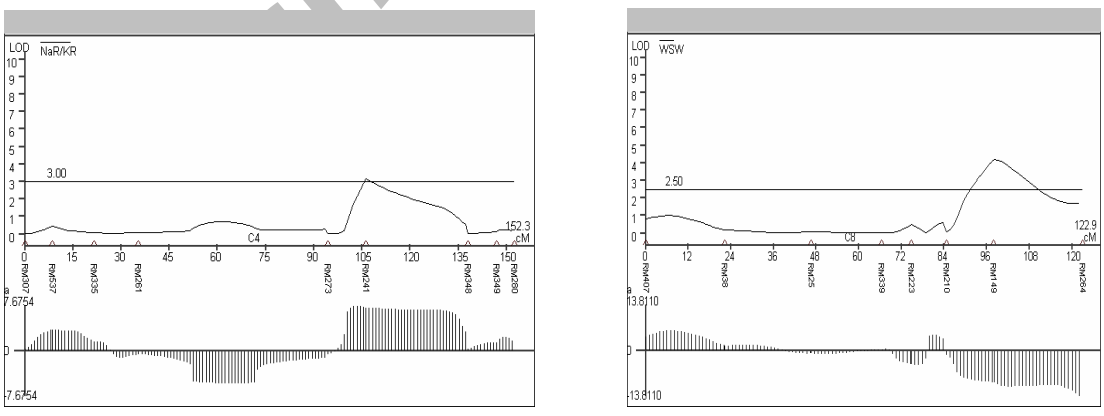
جدول ۲- QTLهای بزرگ اثر برای صفات تحمل به شوری در جمعیت BC2F5 حاصل از تلاقی .TQ x TM

صفات[1]	کروموزم	فواصل نشانگر[2]	QTL	LOD	R2	اثر افزایشی
Potassium in Shoot(KS)	4	RM261-RM273	QKs4	4.1	19	-8
	5	RM413-RM289	QKs5	5.7	22	13.7
Potassium in Root(KR)	1	RM200-RM220	QKr1	3.5	17	-13
	1	RM473A-RM128	QKr1	7.8	30	-16
	3	RM251-RM282	QKr3	4	11	-14
	4	RM241-RM348	QKr4	3	9	7
	8	RM149-RM264	QKr8	3.5	20	-10
Sodium in Root(NaR)	1	RM128-RM212	QNas1	3.8	15	-3.6
	6	RM3-RM528	QNas6	4	24	-2
Dry Root Weight(DRW)	1	RM431-RM14	QDrw1	5	23	-16
Dry Shoot Weight(DSW)	1	RM431-RM14	QDsw1	4.7	19	-5
	11	RM287-RM229	QDsw11	4.7	19	3.2
Wet Root Weight(WRW)	1	RM431-RM14	QWrw1	6.8	29	-21
	11	OSR1-RM287	QWrw11	4	16	-10
Wet Soot Weight(WSW)	8	RM149-RM264	QWsw8	4	20	-9.6
Salinity Tolerance after 15 days(FS)	7	RM481-RM180	QFs7	4.3	22	2
Sodium-potassium ratio in Shoot(NaS/KS)	1	RM23-RM5	QNas/Ks1	4	19	-7.4
Sodium-potassium ratio in Root(NaR/KR)	1	RM473A-RM128	QNar/Kr1	4	18.4	-12
	4	RM241-RM348	QNar/Kr4	3	9	7.3
	5	RM122-RM413	QNar/Kr5	5	27.6	-8.7
	8	RM149-M264	QNar/Kr8	3.7	16.7	-8.7

۱- KS = غلظت پتاسیم در اندام هوائی، KR = غلظت پتاسیم در ریشه، NaR = غلظت سدیم در ریشه، DRW و DSW: به ترتیب وزن خشک ریشه و اندام هوائی، WRW و WSW: به ترتیب وزن تر ریشه و اندام هوائی، FS= ارزیابی تحمل به شوری پس از ۱۵ روز تیمار شوری در فیتوترون، NaS/KS= نسبت غلظت سدیم به پتاسیم در اندام هوائی، NaR/KR= نسبت غلظت سدیم به پتاسیم در ریشه،

۲- نشانگرهایی که زیرشان خط کشیده شده به QTL مربوطه نزدیکتر هستند.

۳- واریانس فنوتیپی نسبت داده شده به هر QTL



نمودار ۲- مو قعیت نشانگر RM241-RM348 در کروموزم ۴ که با QTL نسبت سدیم به پتاسیم ریشه دارای لینکاژ معنی‌دار است در شکل چپ و موقعیت نشانگر RM149-RM264 در کروموزم ۸ که با QTL وزن تر اندام هوائی ارتباط معنی‌دار دارد در شکل راست ارائه شده است. اثر افزایشی QTLهای مربوطه در پایین نمودار مشخص است.

Archive of SID

www.SID.ir

JOURNAL OF
AGRICULTURAL
SCIENCES
Islamic Azad University

Advanced Backcross Analysis for the identification of Genes/QTLs Affecting Salt Tolerance in Rice (Oryza sativa L.) by Microsatellite Markers

M. Fotokian
Ph.D student in Biometrica genetic. Tehran university, College of agriculture
A. Taleei
Professor, Tehran University, College of Agriculture.
B. Ghareyazie
Scientific member of Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII)
K. Postini
Professor, Tehran University, College of Agriculture
A.A. Shahnejat Bushehri
Assistante Professor , Tehran University, College of Agriculture
Z-K Li
International Research Scientist (IRS). IRRI, Philippines

Archive of SID

Keywords: Rice (Oryza sativa L.), Advanced Backcross, Salinity tolerance, Microsatellite, QTL mapping

Abstract

Rice is moderately sensetive to salinity. Salinity affects virtually all aspects of rice growth in varying degree at all stages starting from germination through maturation. It is now recognized that tolerance to salinity is genetically and physiologically complex and also inherited quantitatively. Molecular-marker aided selection technique for salinity tolerance would accelerate breeding progress by increasing selection efficiency. In order to map the Genes/QTLs for salinity tolerance in rice, 62 advanced backcross lines (BC_2F_5) derived from a cross between Tiqing as recurrent parent and Tarom molaei as donor parent, investigated in International Rice Research Institute (IRRI). The map length was 1747.3 cM with an average interval size of 15.3 cM. The phenotypic traits under study included: Sodium (Na) and Potassium (K) concentration in root and shoot, Dry and Wet weight of root and shoot, Salinity tolerance at 15 and 22 days after salt treatment in phytotron, Na-K ratio in root and shoot. We analyzed 235 SSR markers with uniform coverage on all 12 linkage group for parental survey by agarose and polyacrylamide gels, through that 114 markers showed polymorphism and assigned for genotyping. Transgressive segregation observed in all traits. The maximum correlation observed between dry and wet weight of Shoot (r =.94**). At least one QTL with additive effects mapped for all traits except for Na in shoot and salinity tolerance after 21 days (FLS) .For K in root and Na-K ratio in root one QTL obtained with additive effect on each of chromosomes 1, 4, 8.

www.SID.ir