تحقیقات غلات
سال سوم/ شماره اول/ ۱۳۹۲ (۶۸-۵۳)

تجزیه ارتباط نشانگرهای مولکولی پیوسته با QTL های بزرگ‌اثر *Saltol* و *SKC1* و صفات مرتبط با تحمل به شوری در ارقام برنج

عاطفه صبوری[1*]، حسین صبوری[2] و احمدرضا دادرس[3]

۱ و ۳- به ترتیب استادیار و دانشجوی دکتری گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، ۲- استادیار گروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۵- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۲۳)

چکیده

در راستای بهبود ژنتیکی ارقام برنج نسبت به تنش شوری، حاصل پژوهش‌های متعدد مکان‌یابی QTL، شناسایی QTLهای بزرگ‌اثر *Saltol* و *SKC1* روی کروموزوم ۱ برنج بوده است که کنترل کننده برخی صفات مهم مرتبط با تنش شوری می‌باشند. پژوهش حاضر با هدف بررسی این QTLها و تعیین کارایی نشانگرهای پیوسته با آنها در ارقام بومی و اصلاح شده ایرانی اجرا شد. برای این منظور، ارزیابی فنوتیپی در مرحله گیاهچه‌ای به صورت یک آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور رقم (۴۵ ژنوتیپ) و شوری (در سه سطح شاهد، ۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. ارقام اهلمی طارم، بینام، پوکالی، حسن سرایی آتش‌گاه، دم زرد، شاه پسند مازندران، طارم محلی، غریب، قصرالدشتی، موسی طارم در شرایط ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در گروه متحمل قرار گرفتند. از سوی دیگر، تمامی ارقام از لحاظ ۲۳ نشانگر ریزماهواره که در برنامه‌های مکان‌یابی دقیق به عنوان نشانگرهای پیوسته با QTLهای بزرگ‌اثر *Saltol* و *SKC1* شناسایی شده بودند، تعیین ژنوتیپ شدند. نتایج نشان داد که گروه‌بندی ارقام از لحاظ صفات فنوتیپی مطابقت بالایی با گروه‌بندی ارقام از لحاظ ژنوتیپی ندارد، اما نتایج تجزیه ارتباط بیانگر این حقیقت بود که در ارقام بومی و اصلاح شده ایرانی، در این ناحیه از کروموزوم، نشانگرهای مولکولی آگاهی‌بخش و معنی‌داری مانند RM10136، RM10655 و RM3412 وجود دارند که مدل رگرسیونی آنها قادر است بخش قابل توجهی از تغییرات فنوتیپی صفات مرتبط با تحمل به تنش شوری را توجیه نماید. نتایج پژوهش حاضر با تأیید نتایج در شرایط مزرعه‌ای می‌تواند مستقیماً در برنامه‌های به‌نژادی مانند انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: انتخاب به کمک نشانگر، تنش شوری، نشانگر ریزماهواره

* نویسنده مسئول: atefeh_sabouri@yahoo.com; a.sabouri@guilan.ac.ir

مقدمه

اهمیت برنج در چرخه غذایی جهان به‌ویژه کشورهای آسیایی بر کسی پوشیده نیست. نقش مهم برنج در تغذیه تا جایی است که غذای اصلی بیش از ۵۰ درصد مردم جهان را به خود اختصاص می‌دهد و تقریباً زنده ماندن سه چهارم فقیرترین مردم دنیا وابسته به برنج است که بیش از ۹۰ درصد آن در آسیا تولید و مصرف می‌شود (Maclean and Hettel, 2007). بدیهی است با افزایش جمعیت نیاز به این محصول اقتصادی نیز بیش از پیش خواهد بود.

یکی از مهمترین تنش‌های غیرزیستی، تنش شوری است و با توجه به تأثیر منفی شوری بر رشد گیاهان، این عامل به طور وسیعی عملکرد گیاهان را کاهش می‌دهد. با توجه به نقش شوری به عنوان یکی از مهمترین تنش‌های غیر زیستی در کاهش عملکرد گیاهان از یک طرف و محدودیت منابع تولید و رشد بی‌رویه جمعیت از طرف دیگر، مقابله با مشکل شوری یکی از اولویت‌های های تحقیقات کشاورزی محسوب می‌شود. از جمله راهکارهای موجود در غلبه بر محدودیت‌های ایجاد شده، بهبود ژنتیکی و اصلاح تحمل گیاهان به شوری است. در این راستا، از مهمترین اهداف متخصصین ژنتیک و اصلاح نباتات بالابردن اطلاعات در زمینه ژن‌های درگیر در سازگاری گیاهان به تنش و شناسایی نواحی برجسته ژنومی در کنترل صفات مرتبط با تحمل به تنش است. در طول دو سه دهه اخیر، پیشرفت‌های چشمگیر در زمینه فناوری نشانگرهای مولکولی، ابزار قدرتمندی برای تکمیل روش‌های کلاسیک فراهم نموده‌اند، به طوری که افزایش کارایی در مکان‌یابی و نشانمندکردن ژن‌ها و انتقال ژن‌ها را به دنبال داشته‌اند. تا کنون برای بسیاری از صفات مهم و اقتصادی با استفاده از این فناوری، QTLهای (Quantitative Trait Loci) زیادی شناسایی شده‌اند که اطلاعات علمی و کاربردی ارزشمندی را در اختیار اصلاح گران قرار می‌دهد. در ارتباط با تنش شوری نیز در مراحل جوانه‌زنی، گیاهچه‌ای، رویشی و زایشی QTLهای بزرگ‌اثر زیادی در جمعیت‌های مختلف شناسایی شده است که می‌تواند در بهبود صفات مرتبط با تحمل به تنش نقش بسزایی داشته باشند. از مهمترین QTLهای بزرگ‌اثر شناسایی شده، *Saltol* و *SKC1* روی کروموزوم ۱ برنج هستند که مکان‌یابی دقیق آن صورت گرفته است (Gregorio, 1997; Bonilla *et al.,* 2002; Singh *et al*., 2007; Thomson *et al.,* 2007).

گریگوریو (Gregorio, 1997) توانست با استفاده از لاین‌های اینبرد نوترکیب F_8 حاصل از تلاقی پوکالی (متحمل به تنش شوری) و IR29 (حساس به شوری) یک QTL بزرگ اثر روی کروموزوم ۱ برنج شناسایی کند. این QTL که در کنترل نسبت جذب +Na به +K نقش داشت، ۶۴/۳ تا ۸۰/۲ درصد از تغییرات این صفت را توجیه نمود. بونیلا و همکاران (Bonilla *et al.,* 2002) این قسمت از کروموزوم ۱ را با استفاده از نشانگرهای RFLP، SSR و لاین‌های اینبرد نوترکیب اشباع نمود و QTLهای مربوط به +Na، +K و نسبت جذب +Na به +K به ترتیب ۳۹/۲، ۴۳/۹ و ۴۳/۲ درصد از تغییرات فنوتیپی این صفات را توجیه نمودند. بعلاوه، مکان‌یابی دقیق این قسمت از ژنوم برنج با استفاده از جمعیت لاین-های تقریباً ایزوژن حاصل از تلاقی IR29 و پوکالی به عنوان والد بخشنده توسط نیونز (Niones, 2004) انجام شده است. همچنین رن و همکاران (Ren *et al.,* 2005) با استفاده از جمعیت F_2 حاصل از تلاقی بین ارقام Niponbare و Koshihikari هشت QTL در ارتباط با غلظت +Na و +K شناسایی کردند که از بین این QTLها یک QTL بزرگ اثر برای محتوای +K و +Na بخش هوایی برنج روی کروموزوم ۱ شناسایی شد.

محمدی نژاد و همکاران (Mohammadi-Nejad, *et al.*, 2010) از نشانگرهای پیوسته به ناحیه *Saltol* به منظور انجام هاپلوتایپینگ ۳۰ ژنوتیپ برنج شامل ارقام اصلاح شده و بومی فیلیپین در موسسه تحقیقات بین المللی برنج فیلیپین استفاده نمودند و ژنوتیپ‌ها را از لحاظ تحمل به شوری در مرحله زایشی با ارزیابی صفات عملکرد، تعداد دانه پر و پوک، درصد زنده‌مانی دانه گرده و همچنین در مرحله رویشی از نظر کد ژنوتیپی مورد بررسی فنوتیپی قرار دادند. آنها پس از تعیین ژنوتیپ ارقام با استفاده از نشانگرهای پیوسته به *Saltol*، دو نشانگر RM8094 و RM10745 را در ۱۶ هاپلوتایپ شناسایی نمودند که توانسته بودند تفکیک مناسب و مؤثری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ تحمل به شوری در مرحله زایشی ایجاد نمایند. مطالعاتی در زمینه مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل به شوری در برنج بومی ایران نیز انجام شده است. صبوری

(Sabouri, 2007) با تهیه جمعیت در حال تفرق $F_{2:3}$ که از خودگشنی دورگ‌های F_1 حاصل از تلاقی ارقام خزر و طارم محلی به ترتیب به عنوان والد حساس و والد متحمل به شوری تشکیل یافته بود، QTLهای کنترل کننده تحمل به شوری در برنج را ردیابی کرد و ۱۴ فاصله واجد QTL روی کروموزوم‌های مختلف شناسایی نمود که کنترل پنج صفت مرتبط با تحمل به شوری شامل کد ژنوتیپی، درصد Na^+، درصد K^+، نسبت جذب Na^+ به K^+ و وزن خشک ساقه را بر عهده داشتند. همچنین فتوکیان و همکاران (Fotokian *et al.*, 2005) به منظور مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل به شوری در برنج از ۶۳ لاین BC_2F_5 که از تلاقی IR64 به عنوان والد دوره‌ای و طارم مولایی به عنوان والد دهنده به دست آمده بودند، استفاده نمودند. آنها توانستند برای وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی به ترتیب تعداد ۲، ۳، ۲ و ۳ QTL شناسایی نمایند. در پژوهش‌های اخیر یاد شده نیز QTLهایی روی کروموزوم یک شناسایی شدند.

آنچه که باید مورد توجه قرار گیرد، تأیید وجود QTLهای بزرگ‌اثر شناسایی شده در ارقام بومی و اصلاح شده ایرانی است. تجزیه ارتباط (Association analysis) روشی است که با استفاده از آن می‌توان نشانگرهای مولکولی مثبت و معنی‌دار که بخش قابل توجهی از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه می‌نمایند، شناسایی نمود. از تجزیه ارتباط که بر اساس تجزیه رگرسیونی استوار است، در پژوهش‌های زیادی استفاده شده است. در جو وحشی به منظور شناسایی نشانگرهای پیوسته با QTLهای کنترل کننده مقاومت به لکه برگی قهوه‌ای در مرحله گیاهچه‌ای (Roy *et al.*, 2010)، در تریتیکاله برای ردیابی نشانگرهای پیوسته با QTLهای کنترل کننده تحمل به آلومینیوم (Niedziela *et al.*, 2012) و در لاین‌های اینبرد ذرت به منظور شناسایی نواحی مهم ژنومی کنترل کننده ۲۶ صفت زراعی (Zhang *et al.*, 2012) از تجزیه ارتباط استفاده شده است. انجام تجزیه ارتباط بین نشانگرهای پیوسته با QTLهای بزرگ اثر *Saltol* و *SKC1* روی کروموزوم ۱ با صفات مرتبط با تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای ارقام برنج بومی و اصلاح شده ایرانی می‌تواند در ارزیابی و تعیین اعتبار این QTLها مثمر ثمر است.

اهداف پژوهش حاضر را می‌توان به صورت زیر خلاصه کرد: ۱) بررسی ۴۵ رقم برنج ایرانی از لحاظ تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای و گروه‌بندی آنها به منظور شناسایی ارقام متحمل‌تر در مرحله گیاهچه‌ای، ۲) تعیین ژنوتیپ ارقام از لحاظ ناحیه ژنومی *Saltol* و *SKC1* روی کروموزوم ۱ و سپس گروه‌بندی ارقام از لحاظ ژنتیکی و ۳) انجام تجزیه ارتباط برای بررسی وجود رابطه و شناسایی نشانگرهای مولکولی مثبت و آگاهی بخش در ناحیه ژنومی *Saltol* و *SKC1*.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی استفاده شده در پژوهش حاضر، ۴۵ رقم برنج بومی و اصلاح شده ایرانی به همراه دو رقم IRRI (IR28 و IR60) بود که لیست اسامی ارقام در جدول ۱ ارایه شده است.

ارزیابی تحمل به شوری ارقام برنج

به منظور ارزیابی تحمل ارقام نسبت به تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طراحی شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل رقم با ۴۵ ژنوتیپ و شوری در سه سطح (شاهد، شش و دوازده دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم) بودند. نحوه انجام آزمایش مطابق دستورالعمل ارزیابی برنج تحت کشت هیدروپونیک (گریگوریو و همکاران (Gregorio *et al.*, 1997) قرار گرفت. برای این منظور، از یونولیت‌های ویژه‌ای که مختص ارزیابی فنوتیپی ارقام برنج نسبت به شوری بود، مطابق با دستورالعمل گریگوریو و همکاران (Gregorio *et al.*, 1997) و صبوری (Sabouri, 2007) تهیه شده بود، استفاده شد. مواد گیاهی در محلول غذایی یوشیدا (Yoshida *et al.*, 1976) کشت داده شدند. پس از گذشت سه هفته، محلول غذایی شور (۶ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) با اضافه نمودن نمک NaCl به محلول غذایی یوشیدا تهیه و با دستگاه EC متر مدل LF92 هدایت الکتریکی آن تنظیم شد و گیاهچه‌ها به مدت یک هفته در محلول‌های غذایی قرار گرفتند و پس از آن صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند.

صفات فنوتیپی ارزیابی شده در این پژوهش شامل مقدار Na^+، K^+ و نسبت Na^+ به K^+ در ساقه بودند که با استفاده از فلایم فتومتر مدل CL361 اندازه‌گیری

جدول ۱. اسامی ارقام مورد استفاده در پژوهش حاضر

Table 1. The names of investigated varieties in present study.

شماره No.	نام رقم Variety name	شجره Pedigree	شماره No.	نام رقم Variety name	شجره Pedigree	شماره No.	نام رقم Variety name	شجره Pedigree
1	IR28	IR83-6-1-1-1/IR1561-149-1//IR1737	16	دم سرخ Dom Sorkh	بومی Landrace	31	علی کاظمی Ali Kazami	بومی Landrace
2	IR60	IR4432-53-3-3/.PTB 33/IR36	17	دم سیاه Dom Siah	بومی Landrace	32	عنبربو ایلام Anbarbou Ilam	بومی Landrace
3	ابجی بوجی Abjibcuji	بومی Landrace	18	دیلمانی Deilamani	بومی Landrace	33	غریب Gharib	بومی Landrace
4	اهلمی طارم Ahlami Tarom	بومی Landrace	19	رشتی سرد Rashti Sard	بومی Landrace	34	غریب سیاه ریحانی Gh. Siah Reihani	بومی Landrace
5	بجار Bejar	Domsiah/IR8/IR28	20	زیره Zireh	بومی Landrace	35	قشنگه Ghashangeh	بومی Landrace
6	بینام Binam	بومی Landrace	21	سالاری Salari	بومی Landrace	36	قصرلدشتی Ghasroldashti	بومی Landrace
7	پوکالی Pokkali	IRRI (Philippines)	22	سپیدرود Sepidroud	Sadri Garm/IR8/IR28	37	کادوس Kadous	IR64669-133-2-3
8	چمپابودار Champa Boudar	بومی Landrace	23	سنگ طارم Sange Tarom	بومی Landrace	38	گیل ۱ Gil 1	Ansitleu/Mosa Tarom
9	حسن سرایی Hassansaraei	بومی Landrace	24	شاه پسند Shahpasand	بومی Landrace	39	گیل ۳ Gil 3	IR498/Salari
10	حسن سرایی آتش گاه Has. Atashgah	بومی Landrace	25	شاه پسند مازندران Shahpasnd Mazandran	بومی Landrace	40	محمدی چپرسر Mohamadi Chaparsar	بومی Landrace
11	حسن سرایی پیچیده Has. Pichideh	بومی Landrace	26	صدری Sadri	بومی Landrace	41	مهر Mehr	بومی Landrace
12	حسنی Hassani	بومی Landrace	27	طارم امیری Tarom Amiri	بومی Landrace	42	موسی طارم Mosa Tarom	بومی Landrace
13	خزر Khazar	IR36/TNAU7456	28	طارم پاکوتاه Tarom Pakoutah	بومی Landrace	43	نعمت Nemat	Amol 3/Sange Tarom
14	دشت Dasht	IR24/ Amol1	29	طارم محلی Tarom Mahali	بومی Landrace	44	هاشمی Hasheni	بومی Landrace
15	دم زرد Dom Zard	بومی Landrace	30	طارم مطقه Tarom Mantagheh	بومی Landrace	45	ندا Neda	Hasan Saraei/Sange Tarom/Amol 3

شدند. همچنین طول ساقه و ریشه، وزن خشک و تر ساقه و ریشه، نسبت وزن خشک ساقه به ریشه و بیوماس نیز مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

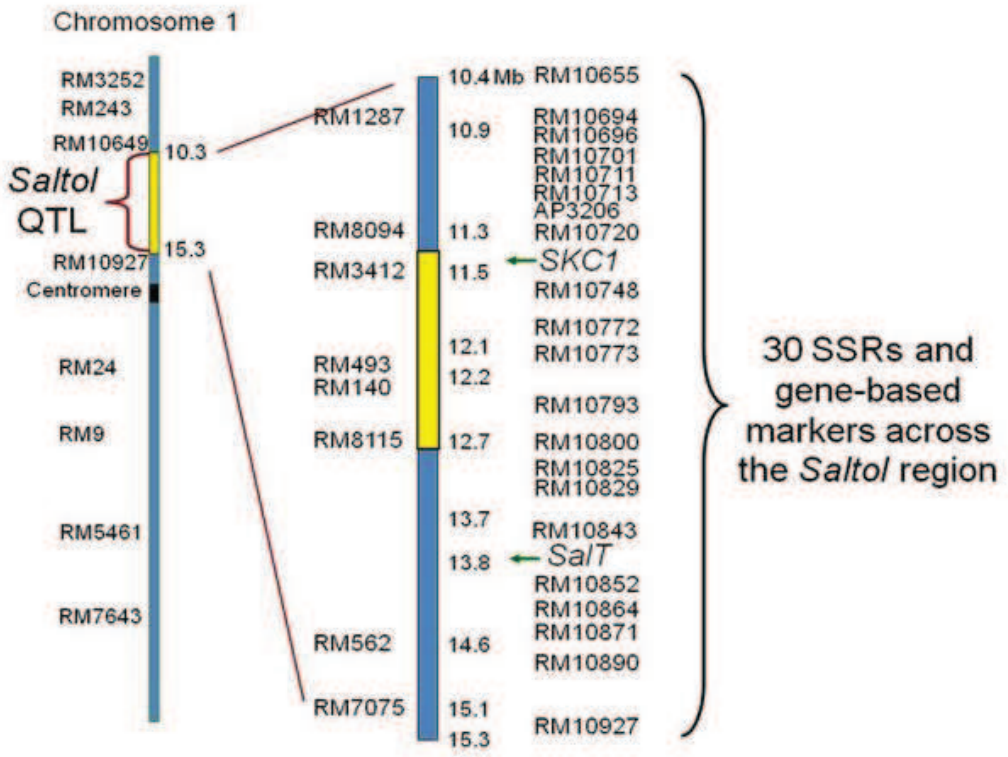
تعیین ژنوتیپ ارقام از لحاظ نشانگرهای پیوسته با QTLهای بزرگ‌اثر *Saltol* و *SKC1*

استخراج DNA ژنومی به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1994) از برگ‌های جوان و کاملاً سالم و عاری از بیماری در آزمایشگاه ژنومیکس دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده شامل ۲۳ آغازگر ریزماهواره پیوسته به QTLهای بزرگ‌اثر *Saltol* و *SKC1* بود. در شکل ۱ نشانگرهای پیوسته به *Saltol* و *SKC1* با اقتباس از تامسون و همکاران (Thomson *et al.*, 2007) ارایه شده است. برای تکثیر DNA ژنومی و انجام PCR از دستگاه ترموسایکلر ASTEC مدل PC 818 و روش (Sabouri, 2007) استفاده شد.

برای تعیین ژنوتیپ ارقام، از دستگاه الکتروفورز افقی مدل Bio Metra (برای نشانگرهای با اندازه باند بزرگ‌تر) با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید و یا دستگاه الکتروفورز عمودی مدل Bio Rad (برای نشانگرهای با اندازه باند کوچک‌تر) با رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه آماری داده‌های حاصل از ارزیابی فنوتیپی، شامل تجزیه واریانس، تجزیه خوشه‌ای و بررسی انحراف میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای از میانگین کل بود. در بخش ارزیابی ژنوتیپی نیز، علاوه بر بررسی آماره‌های تنوع ژنتیکی شامل از جمله تعداد آلل مشاهده شده، میزان اطلاعات چند شکل یا PIC (Polymorphic Information Content) و تنوع ژنی، تجزیه‌خوشه‌ای بر اساس داده‌های ژنوتیپی مولکولی و با استفاده از ضریب شباهت نی (Nei, 1973) و روش گروهبندی اتصال همسایگی (Neighbor Joining) انجام گرفت. در نهایت تجزیه ارتباط نشانگرهای ریزماهواره و صفات فنوتیپی ثبت شده در شرایط ۱۲ دسی‌زیمنس با استفاده از روابط رگرسیونی گام به گام انجام گرفت. در این روش هر یک از



شکل ۱- نشانگرهای پیوسته به *Saltol* و *SKC1* روی کروموزوم ۱ برنج. برگرفته از تامسون و همکاران (Thomson *et al.*, 2007).

Figure 1. The closely linked markers to *Saltol* and *SKC1* on chromosome 1 adapted from Thomson *et al.* (2007).

صفات به عنوان متغیر وابسته و نشانگرها به عنوان متغیر مستقل در نظر گرفته شدند تا در نهایت آن‌دسته از نشانگرهایی که در توجیه تغییرات فنوتیپی هر صفت نقش دارند، شناسایی و به عنوان نشانگر آگاهی بخش معرفی گردند. کلیه تجزیه‌های آماری با نرم‌افزارهای SAS نسخه ۹/۱ (SAS Institute Inc, 2008)، SPSS نسخه ۱۹ (IBM Corp, 2010)، MEGAنسخه ۵/۰۵ (Tamura *et al.*, 2011) و Power Marker (Liu and Muse, 2005) انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی فنوتیپی

پس از جمع‌آوری داده‌ها و قبل از انجام تجزیه‌های آماری، آزمون‌های مربوط به بررسی مفروضات تجزیه واریانس صورت گرفت و نشان داد که توزیع خطاهای آزمایشی مربوط به تمامی صفات با توزیع نرمال مطابقت دارند. لذا تجزیه واریانس انجام و نتایج در جدول ۲ ارایه شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که از لحاظ کلیه صفات مورد بررسی، بین ژنوتیپ‌ها، بین سطوح شوری و اثرات متقابل آنها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. با توجه به معنی‌دار بودن اثرات متقابل، با عمل برش دهی بررسی مقایسه میانگین بین ارقام در هر سطح شوری به صورت جداگانه انجام شد (نتایج برش‌دهی و مقایسه میانگین‌ها به دلیل حجم زیاد نتایج نشان داده نشده‌اند). از لحاظ صفات مهم در تحمل به تنش شوری مثل درصد سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم، ارقامی که کمترین مقدار را در شرایط ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به خود اختصاص دادند، شامل پوکالی، موسی طارم، اهلمی طارم، دم زرد، بینام، طارم محلی، صدری، قشنگه، چمپابودار، شاه پسند مازندران، غریب، طارم پاکوتاه، نعمت، شاه پسند و قصرالدشتی بودند. نتایج حاکی از این حقیقت بود که ارقام برتر از لحاظ صفات مختلف، متفاوت هستند. از اینرو بهتر است از تجزیه خوشه‌ای برای گروه‌بندی و شناسایی ارقام متحمل و حساس بهره گرفته شود. بنابراین، برای بررسی نتایج تمامی صفات و شناسایی برترین ژنوتیپ‌ها از لحاظ میانگین تمامی صفات ارزیابی شده از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد استفاده شد. دندروگرام در شکل ۲ نشان داده شده است. لازم به ذکر است نتایج مربوط به گروهبندی ارقام در شرایط ۶ دسی‌زیمنس بر متر تا حدی مطابق با نتایج گروه‌بندی در شرایط ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بود و از اینرو با توجه به حجم بالای مطالب، فقط به ارائه نتایج در سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بسنده شد. با دقت در شکل ۲ می‌توان مشاهده نمود که دو نقطه برش نسبت به نقاط دیگر مطلوب‌ترند (دو نقطه‌ای که کل ارقام را به دو و سه گروه تقسیم بندی نماید). البته نتایج آزمون تابع تشخیص برای هر دو نقطه برش معنی‌دار به دست آمد. ابتدا نقطه برش دو گروهی در نظر گرفته شد و سپس گروه یک با برش بعدی به دو زیر گروه کوچک‌تر تقسیم بندی شد. میانگین هر دسته و انحراف از میانگین آنها از میانگین کل برای هر یک از صفات مورد بررسی محاسبه شد تا وضعیت هر گروه یا زیر گروه نسبت به میانگین کل مشخص شود (جدول ۴). زیر گروه اول تعداد ۲۵ رقم (چمپابودار، حسن سرایی، حسن سرایی پیچیده، حسنی، دشت، دم سرخ، دم سیاه، دیلمانی، رشتی سرد، زیره، سالاری، شاه پسند، صدری، طارم امیری، طارم پاکوتاه، طارم منطقه، علی کاظمی، عنبربو ایلام، غریب سیاه ریحانی، قشنگه، کادوس، گیل ۱، گیل ۳، محمدی چپرسر، هاشمی) را شامل گردید که تقریباً از لحاظ تمامی صفات به جز صفت نسبت وزن خشک ساقه به ریشه انحراف کمتری نسبت به میانگین کل داشت و شاید بتوان ارقام این گروه را در این مرحله رشدی، به عنوان حد واسط معرفی نمود. زیر گروه دوم از گروه اول، انحراف بیشتری نسبت به میانگین کل نشان داد و این انحراف برای تمامی صفات به‌غیر از درصد سدیم، نسبت سدیم به پتاسیم و طول ریشه در جهت مثبت بود. از اینرو می‌توان اینگونه نتیجه گرفت که این ارقام نسبت به میانگین کل بهتر از سایر ارقام عمل نمودند و نسبت به سایر ارقام تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس را بهتر تحمل نمودند. دوازده رقم شامل ارقام اهلمی طارم، بینام، پوکالی، حسن سرایی آتش گاه، دم زرد، شاه پسند مازندران، طارم محلی، غریب، قصرالدشتی، موسی طارم تشکیل دهنده این زیرگروه بودند. اما گروه دوم که ارقام IR28، IR60، بجار، خزر، سپیدرود، سنگ طارم، مهر، نعمت، ندا را شامل می‌شد، برخلاف دسته قبلی شامل ارقامی شد که تقریباً از لحاظ تمامی صفات ارزش‌های پایین‌تری را نسبت به سایر ارقام داشتند و از لحاظ مقادیر درصد سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم از میانگین کل بالاتر بودند و از اینرو می‌توانند به

جدول ۲- خلاصه تجزیه واریانس صفات مختلف بررسی شده در ارقام برنج به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی

Table 2. Analysis of Variance of studied different traits of rice varieties in factorial experiment with randomized complete block design

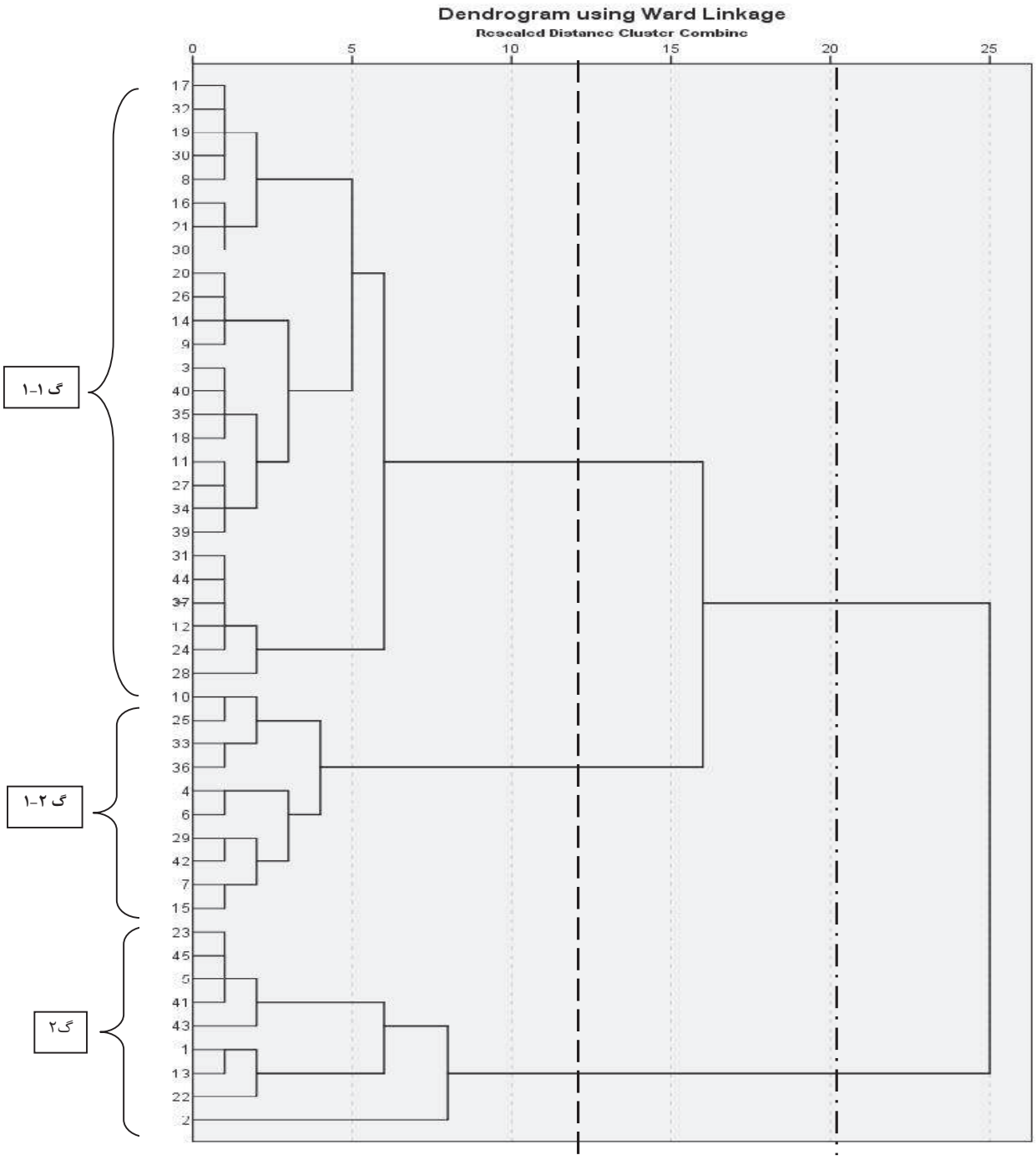
Source of variation	منابع تغییر	درجه‌آزادی df	میانگین مربعات Mean Squares										
			Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
Block	بلوک	2	1.14**	8.26**	0	0.02**	0	0.03	0	0.02**	2.02	0.00**	0.21**
Variety	رقم	44	8.76**	314.82**	0.00**	0.16**	1.29**	0.49**	0.09**	0.18**	31.00**	0.58**	10.50**
Salinity	شوری	2	278.67**	8590.96**	0.11**	6.26**	399.96**	54.20**	33.96**	8.04**	85.46**	12.46**	99.76**
Variety×Salinity	شوری × ژنوتیپ	88	2.28**	25.16**	0.00**	0.03**	0.43**	0.25**	0.04**	0.03**	13.96**	0.11**	1.16**
Exp. Error	خطای آزمایشی	268	0.19	1.29	0.00003	0.003	0.0066	0.015	0.0008	0.0028	1.006	0.0003	0.025
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)	-	5.3	3.34	7.5	8.34	3.81	3.15	4.79	7.51	10.86	2.18	4.2

Y1: طول ریشه Y2: طول ساقه Y3: وزن خشک ریشه Y4: وزن خشک ساقه Y5: درصد سدیم Y6: درصد پتاسیم Y7: نسبت سدیم به پتاسیم Y8: زیست توده Y9: وزن خشک ساقه به ریشه Y10: وزن تر ساقه Y11: وزن تر ریشه

Y1: Root length, Y2: Stem length, Y3: Root dry weight, Y4: Stem dry weight, Y5: Na+ percent, Y6: K+ percent, Y7: Na+ to K+ ratio, Y8: Biomass, Y9: Stem dry weight to root ratio, Y10: Stem fresh weight, Y11: Root fresh weight.

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

* and ** Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ارقام برنج از لحاظ صفات مورد مطالعه در شرایط تنش دوازده دسی‌زیمنس بر متر (اسامی ارقام در جدول ۱ ارایه شده است).

Figure 2. Dendrogram derived from cluster analysis of rice varieties based on all studied traits under 12 dS.m-1 (The names of varieties are shown in Table 1).

عنوان رقام حساس به شوری بالا (۱۲ دسی زیمنس بر متر) معرفی شوند. صبوری (Sabouri, 2007) نیز ارقام خزر، سپیدرود، IR28 و IR29 را به عنوان ارقام بسیار حساس و ارقام طارم محلی، اهلمی طارم، غریب و شاه‌پسند مازندران را به عنوان ارقام متحمل در شرایط ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر در مرحله رویشی گزارش کرد.

نتایج ارزیابی ژنوتیپی

آماره‌های تنوع ژنتیکی: جهت ارزیابی میزان سودمندی نشانگرهای ریزماهواره ی پیوسته با QTLهای بزرگ اثر *Saltol* و *SKC1* از معیارهای تعداد آلل مشاهده شده، تنوع ژنتیکی و شاخص PIC استفاده شد. آماره‌های تنوع ژنتیکی محاسبه شده برای نشانگرها در جدول ۴ ارایه شده است. نتایج نشان داد که نشانگرهای RM10136 و RM10927 به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین تعداد آلل، محتوای اطلاعات چندشکلی و تنوع ژنتیکی را به خود اختصاص دادند. می‌توان اینگونه تعبیر کرد که نشانگر RM10136 توانست با بالاترین کارایی تفاوت بین ارقام را نشان دهد. صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2009) با بررسی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با QTLهای *Saltol* و *SKC1* روی اسسشن‌های (Accessions) پوکالی نشان دادند که نشانگرهای RM8094، RM562، RM10655 و RM10793 سودمندترین نشانگرها در تشخیص و تمایز اسسشن‌های پوکالی می‌باشند. این نشانگرها در ارقام برنج مطالعه شده در این پژوهش نیز از محتوای اطلاعات چندشکل بالایی برخوردار بودند.

تجزیه خوشه‌ای: به منظور گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه بر اساس داده‌های ژنتیکی حاصل از نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده، از تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. گروه‌بندی با استفاده از چندین ماتریس شباهت و چند روش تجزیه خوشه‌ای انجام شد. در نهایت بهترین گروه‌بندی مربوط به ضریب شباهت نی (Nei, 1973) و روش اتصال همسایگی (Neighbor Joining) بود که بالاترین ضریب همبستگی کوفتیک را به خود اختصاص داد. دندروگرام حاصل، در شکل ۳ به صورت نمایش تابشی (Radiation) که خروجی نرم‌افزار MEGA 5.05 (Tamura *et al.*, 2011) است، نمایش داده شده است.

دقت در نتایج تجزیه خوشه‌ای که در دندروگرام منعکس شده است، نشان می‌دهد که اگرچه تعدادی از ارقام که از لحاظ فنوتیپی در یک گروه قرار گرفته بودند، از لحاظ ساختار ژنوتیپی نشانگرهای پیوسته با *Saltol* و *SKC1* هم در کنار هم قرار گرفتند، اما مطابقت بسیار بالا بین دو گروه‌بندی برقرار نبود. االبته این نتیجه خیلی دور از انتظار نیست، به این دلیل که از طرفی این گروه‌بندی بر اساس تمامی نشانگرهای موجود در این ناحیه صورت گرفته و همانگونه که مشاهده شد، تنوع آللی بسیار زیادی از لحاظ هر کدام از نشانگرها در این ناحیه وجود داشت و امکان دارد که تعدادی از نشانگرها نقش مؤثرتری در تمایز ارقام متحمل از حساس داشته باشند. البته اگر این احتمال صحیح است، باید بتوان ارتباط معنی‌دار بین تعدادی از نشانگرها با صفات فنوتیپی بررسی شده را شناسایی کرد که این تجزیه از طریق رگرسیون و تجزیه ارتباط عملی خواهد شد. از سوی دیگر امکان دارد در ارقام ایرانی، نواحی دیگر روی ژنوم برنج نقش مؤثرتری در ایجاد تحمل به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای داشته باشند و نتوان صرفاً با استفاده از این نشانگرها موفق به تفرق ارقام حساس و متحمل به شوری شد.

تجزیه ارتباط: جدول ۵ نتایج تجزیه ارتباط صفات فنوتیپی مورد مطالعه تحت تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با نشانگرهای ناحیه *Saltol* و *SKC1* را نشان می‌دهد. شایع‌ترین نشانگرها عبارت از RM10655، RM10136، RM3412، RM10852 و RM8094 بودند که در مدل رگرسیونی اکثر صفات وجود داشتند و بیش از سایر نشانگرها توجیه کننده مدل‌های رگرسیونی معنی‌دار بین صفات مطالعه شده و نشانگرهای ناحیه *Saltol* و *SKC1* بودند. بین مدل‌های رگرسیونی نیز بالاترین ضریب تبیین به مدل مربوط به درصد +Na و طول ریشه و بعد از آن به طول ساقه و نسبت +Na به +K اختصاص داشت.

محمدی نژاد و همکاران (Mohammadi-Nejad *et al.*, 2010) در هاپلوتایپینگ ۳۰ ژنوتیپ برنج شامل ارقام اصلاح شده و بومی فیلیپین با استفاده از نشانگرهای پیوسته به ناحیه *Saltol* و بررسی ژنوتیپ‌ها از لحاظ تحمل به شوری در مرحله زایشی دو نشانگر RM8094 و RM10745 را در ۱۶ هاپلوتایپ شناسایی نمودند که قادر بودند تفکیک مناسب و مؤثری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ تحمل به شوری در مرحله زایشی ایجاد نمایند.

ضریب تبیین بالا برای مدل‌های رگرسیونی اکثر صفات مرتبط با تحمل به تنش شوری مطالعه شده در این

جدول ۳- میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای به همراه انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل تحت تنش ۱۲ دسی زیمنس بر متر

Table 3. The means of groups derived from cluster analysis with deviation of total mean for each group under 12 dS/m salinity stress

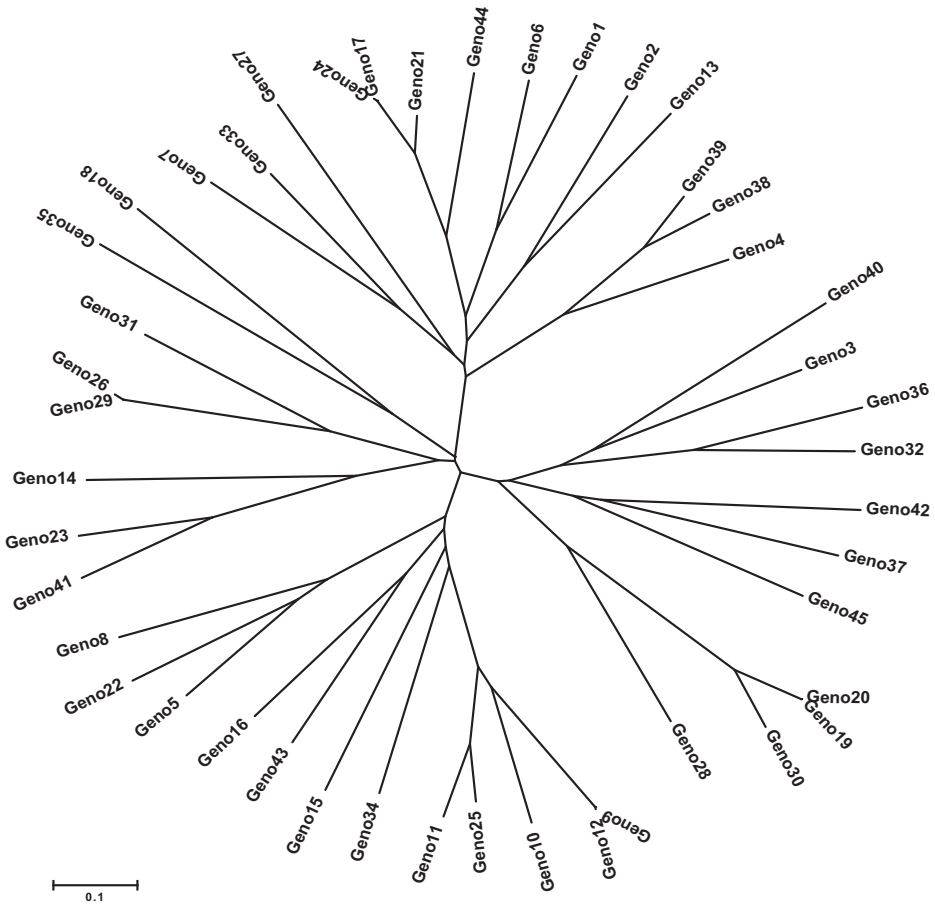
	y1	y2	y3	y4	y5	y6	y7	y8	y9	y10	y11
میانگین گروه اول زیرگروه یک Mean of first group and subgroup 1. (شماره ارقام**) Varieties number:17, 32, 19, 30, 8, 16, 21, 38, 20, 26, 14, (9, 3, 40, 35, 18, 11, 27, 34, 39, 31, 44, 37, 12, 24 and 28	6.967	28.917	0.047	0.424	3.451	3.417	1.014	0.471	9.438	0.541	2.916
انحراف از میانگین کل Deviation of total mean	0.221	1.740	0.000	-0.026	-0.027	-0.040	0.002	-0.027	-0.644	-0.011	0.045
	y1	y2	y3	y4	y5	y6	y7	y8	y9	y10	y11
میانگین گروه اول زیرگروه دو Mean of first group and subgroup 2. (شماره ارقام) (Varieties number:10, 25, 33, 36, 4, 6, 29, 42, 7 and 15)	6.360	31.533	0.059	0.596	2.931	3.650	0.807	0.655	10.438	0.719	3.766
انحراف از میانگین کل Deviation of total mean	-0.386	4.357	0.011	0.146	-0.547	0.194	-0.205	0.157	0.356	0.167	0.895
	y1	y2	y3	y4	y5	y6	y7	y8	y9	y10	y11
میانگین گروه دوم Mean of second group (شماره ارقام) (Varieties number: 23, 45, 5, 41, 43, 1, 13, 22 and 2)	6.715	16.956	0.039	0.350	4.151	3.330	1.240	0.388	10.765	0.393	1.622
انحراف از میانگین کل Deviation of total mean	-0.031	-10.221	-0.009	-0.100	0.673	-0.127	0.228	-0.109	0.683	-0.159	-1.249

Y1: طول ریشه Y2: طول ساقه Y3: وزن خشک ریشه Y4: وزن خشک ساقه Y5: درصد سدیم Y6: درصد پتاسیم Y7: نسبت سدیم به پتاسیم Y8: زیست توده Y9: وزن خشک ساقه به ریشه Y10: وزن تر ساقه Y11: وزن تر ریشه.

Y1: Root length, Y2: Stem length, Y3: Root dry weight, Y4: Stem dry weight, Y5: Na+ percent, Y6: K+ percent, Y7: Na+ to K+ ratio, Y8: Biomass, Y9: Stem dry weight to root ratio, Y10: Stem fresh weight, Y11: Root fresh weight.

Name and number of varieties were listed in table 1.

نام و شماره ارقام در جدول ۱ آورده شده است.



شکل ۳- دندروگرام تابشی حاصل از تجزیه خوشه‌ای با ضریب نی و روش گروهبندی اتصال همسایگی.
(شماره ارقام در جدول ۲ ارایه شده است).

Figure 3. Radiation dendrogram derived from cluster analysis using Nei coefficient and Neighbor Joining method. (The names of varieties are shown in Table 1).

پژوهش، نشان‌دهنده نقش مؤثر مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات فنوتیپی پیوسته با نشانگرهای ریزماهواره ناحیه *Saltol* و *SKC1* در کروموزوم ۱ است. می‌توان با استناد به این تجزیه، نواحی ژنومی *Saltol* و *SKC1* را برای ارقام بومی ایرانی نیز نواحی مؤثر در تحمل به شوری قلمداد نمود. البته باید خاطرنشان نمود که به منظور کاهش خطای نوع اول در تجزیه ارتباط بهتر است از جمعیت‌های طبیعی بزرگ‌تر و انجام تجزیه ساختار قبل از تجزیه ارتباط استفاده نمود (Casas *et al.*, 2006).

به‌هرحال نکته‌ای که باید به آن توجه داشت این است که در بکارگیری اطلاعات حاصل از برنامه‌های مکان‌یابی ژنی، مهمترین گام ارزیابی کارایی نشانگرهای پیوسته با QTL و شناسایی نشانگرهای آگاهی بخشی است که بتوانند حتی در جمعیت‌هایی غیر از جمعیت اصلی مورد استفاده در مکان‌یابی QTL برای شناسایی ارقام متحمل و حساس و انتقال صفت مفید باشند. در پژوهش حاضر تجزیه ارتباط نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با QTLهای *Saltol* و *SKC1* نشان داد که نشانگرهای این ناحیه ارتباط معنی‌داری با صفات مختلف مرتبط با تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای دارند و قادرند بخش قابل توجهی از تغییرات فنوتیپی صفات مرتبط با تحمل به تنش شوری را توجیه نمایند. از مهمترین این نشانگرها، RM10136، RM10655 و RM3412 بودند که حتی در بیش از چند صفت ارتباط معنی‌داری نشان دادند. بدین معنی که این نشانگرها توانستند بهتر از سایر نشانگرها ارقام حساس را از ارقام متحمل متمایز نمایند.

نتایج پژوهش حاضر، علاوه بر تعیین ارقام حساس و مقاوم برنج در مرحله گیاهچه‌ای، می‌تواند نشان‌دهنده تأیید وجود QTLهای بزرگ‌اثر *Saltol* و *SKC1* در ارقام برنج بومی و اصلاح شده ایرانی نیز است.

جدول ۴- آماره‌های تنوع ژنتیکی محاسبه شده برای نشانگرهای ریزماهواره
Table 4. Genetic diversity statistics for microsatellite markers of *Saltol* and *SKC1*

نشانگر Marker	تعداد آلل Allele number	تنوع ژنتیکی Genetic diversity	محتوای اطلاعات ژنتیکی PIC
RM10136	16	0.908	0.901
RM10655	10	0.865	0.858
RM10696	10	0.877	0.870
RM10701	12	0.890	0.883
RM10711	10	0.879	0.872
RM10713	9	0.810	0.804
RM10720	11	0.820	0.814
RM8094	9	0.836	0.817
RM3412	14	0.906	0.898
RM10748	11	0.892	0.885
RM10772	10	0.788	0.782
RM10773	8	0.675	0.670
RM10793	8	0.740	0.695
RM10800	8	0.654	0.649
RM10825	10	0.789	0.783
RM10829	11	0.821	0.815
RM10843	10	0.801	0.795
RM10852	10	0.796	0.790
RM10864	10	0.784	0.778
RM10871	8	0.665	0.660
RM10890	10	0.843	0.837
RM10927	5	0.554	0.550
RM6100	10	0.867	0.852
میانگین Mean	10	0.803	0.794

سپاسگزاری

مقاله حاضر از طرح تحقیقاتی با کد مصوب ۷۳۷ دانشگاه گیلان استخراج شده است. لذا جا دارد از معاونت پژوهشی دانشگاه گیلان برای تأمین هزینه‌های اجرای طرح و از دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان برای فراهم کردن امکانات آزمایشگاهی، سرکار خانم مهندس نرجس طبخ‌کار دانشجوی دکتری اصلاح نباتات دانشگاه گیلان به خاطر کمک در اجرای بخشی از کارهای آزمایشگاهی و همچنین دانشگاه گنبد کاووس برای قبول همکاری در زمینه‌های مختلف قدردانی شود.

جدول ۵- خصوصیات نشانگرهای آگاهی‌بخش مرتبط با صفات تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای در شرایط ۱۲ دسی زیمنس بر متر

Table 5. The characteristics of informative markers related to salinity tolerance in seedling stage under 12 $dS.m^{-1}$

صفت Trait	نشانگر آگاهی‌بخش Informative marker	ضریب رگرسیون استاندارد شده Standardized B	سطح معنی‌داری Significant level	ضریب تبیین Determination coeff.	ضریب همبستگی Correlation coeff.
طول ساقه Stem length	RM106962	-0.731	0.000	0.786	0.887
	RM106556	-0.483	0.000		
	RM109275	-0.393	0.000		
	RM34126	-0.243	0.003		
	RM108529	-0.162	0.043		
وزن خشک ریشه Root dry weight	RM106556	-0.405	0.001	0.572	0.756
	RM107932	-0.278	0.014		
	RM1085210	0.331	0.004		
	RM34122	0.303	0.008		
	RM101367	0.234	0.035		
	RM101368	0.219	0.047		
وزن خشک ساقه Stem dry weight	RM106556	-0.371	0.009	0.227	0.477
	RM1013612	-0.317	0.024		
درصد یون سدیم Na+ percentage	RM106556	0.666	0.000	0.813	0.902
	RM80947	0.320	0.001		
	RM341214	-0.225	0.006		
	RM34124	-0.272	0.002		
	RM109275	0.288	0.002		
	RM341213	0.218	0.006		
	RM1013615	0.230	0.004		
	RM34126	0.181	0.031		
	RM108525	0.160	0.048		
درصد یون پتاسیم K+ percentage	RM106962	-0.402	0.005	0.242	0.492
	RM108529	-0.345	0.015		
نسبت سدیم به پتاسیم Na+ to K+ ratio	RM106556	0.505	0.000	0.711	0.843
	RM34124	-0.430	0.000		
	RM34126	0.469	0.000		
	RM109275	0.377	0.000		
	RM101368	-0.239	0.010		
	RM1013613	-0.241	0.015		
زیست توده Biomass	RM106556	-0.398	0.005	0.235	0.484
	RM1013612	-0.295	0.034		
نسبت وزن خشک ساقه به ریشه Stem dry weight to root ratio	RM106556	0.463	0.001	0.214	0.463
وزن تر ساقه Stem fresh weight	RM1013616	0.311	0.037	0.097	0.311
وزن تر ریشه Root fresh weight	RM106556	-0.549	0.000	0.818	0.904
	RM106962	-0.441	0.000		
	RM108521	0.456	0.000		
	RM34127	-0.213	0.011		
	RM1013615	-0.355	0.000		
	RM34121	0.345	0.000		
	RM101365	0.258	0.002		
	RM61008	-0.278	0.014		
	RM80947	-0.199	0.016		
	RM80941	0.200	0.025		

References

Bonilla, P., Dvorak, J., Mackill, D., Deal, K. and Gregorio, G. 2002. RFLP and SSLP mapping of salinity tolerance genes in chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines. **Philippine Journal of Agricultural Science** 85: 68-76.

Casas, A. M., Kopahnke, D., Habekub, A., Schwizer, G., Gracia, M. P., Lasa, J. M., Ciudad, F. J., Codesal, P., Moralejo, M. A., Molina-Cano, J. L., Igartua, E. and Ordon, F. 2006. Marker-trait association for disease resistance in the Spanish barley core collection. **Eucarpia, Lleida** 141-145.

Fotokian, M., Taleie, A., Ghareyazie, B., Postini, K., Shahnejat Bushehri, A. A. and Li, Z. K. 2005. QTL mapping of genes affecting salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite markers. **Iranian Journal of Crop Sciences** 6 (4): 361-373. (In Persian).

IBM Corp. Released 2010. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0. Armonk, NY: IBM Corp.

Gregorio, G. B. 1997. Tagging salinity tolerance genes in rice using amplified fragment length polymorphism (AFLP). Ph.D. Dissertation, University of the Philippines, Los Banos, Philippines.

Gregorio, G. B., Senadhira, D. and Mendoza, R. D. 1997. Screening rice for salinity tolerance, IRRI Discussion paper Series No.22. International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna, Philippines. pp. 1-30.

Liu, K. and Muse, S. V. 2005. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. **Bioinformatics** 21: 2128-2129.

Maclean, J. and Hettel, G. 2007. Bringing hope improving lives. **Rice Today IRII** 6: 30-35.

Mohammadi-Nejad, G., Singh, R. K., Arzani, A., Rezaie, A. M., Sabouri, H. and Gregorio, G.B. 2010. Evaluation of salinity tolerance in rice genotypes. **International Journal of Plant Production** 4 (3): 199-208.

Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations.**Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 70: 3321-3323.

Niedziela, A., Bednarek, P., Cichy, T. H., Budzianowski, G., Kilian, A. and Anioł, A. 2012. Aluminum tolerance association mapping in triticale. **BMC Genomics** 13 (67): 1-16.

Niones, J. M. 2004. Fine mapping of the salinity tolerance gene on chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using near isogenic lines. M. Sc. Dissertation, University of the Philippines, Los Baños, Laguna, Philippines.

Ren, Z. H., Gao, J. P., Li, L. G., Cai, X. L., Huang, W., Chao, D.Y., Zhu, M. Z., Wang, Z. Y., Luan, S. and Lin, H. X. 2005. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. **Nature Genetics** 37: 1141-1146.

Roy, J. K. Smith, K. P., Muehlbauer, G. J., Chao, S., Close, T. J. and Steffenson, B. J. 2010. Association mapping of spot blotch resistance in wild barley. **Molecular Breeding** 26: 243-256.

Sabouri, A., Sajise, A. G., De Ocampo, M., Vispo, A. N., Refuerzo, L., Arceta, M., Mamiit, A., Thomson, M. J., Gregorio, G. B. and Singh, R. K. 2009. Diversity within the widely-studied salt-tolerant landrace Pokkali, **SABRAO Journal of Breeding and Genetics** 41: Special Supplement, August 2009. ISSN 1029-7073.

Sabouri, H. 2007. Evaluation of genetic variation in Iranian rice germplasm for salt tolerance and mapping QTLs for related traits. Ph.D. Dissertation, Isfahan University of Technology. (In Persian).

Sabouri, H., Rezai, A., Moumeni, A., Kavousi, M., Katuzi, M. and Sabouri, A. 2009. QTLs mapping of physiological traits related to salt tolerance at young seedling rice (*Oryza sativa* L.). **Biologia Plantaroum** 53 (4): 657-662.

Saghai Maroof, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. and Allard, R. W. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations and population dynamics. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 91: 4566-5570.

SAS Institute. 2008. SAS/STAT 9.2 User's Guide. SAS Institute, Cary, NC.

Singh, R. K., Gregorio, G. B. and Jain, R. K. 2007. QTL mapping for salinity tolerance in rice. **Physiology and Molecular Biology of Plants** 13 (2): 87-99.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA 5: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software, version 5.0. **Molecular Biology and Evolution** 24: 1596-1599.

Thomson, M., De Ocampo, M., Egdane, J., Katimbang, M., Akhlasur Rahman, M., Singh, R. K., Gregorio, G. B. and Ismail M. A. 2007. QTL mapping and marker-assisted backcrossing for improved salinity tolerance in rice, The 6th Asian Crop Science Association Conference and 2nd International Conference on Rice for the Future, 5-9 November, Bangkok, Thailand.

Zhang, P., Wu, C., Ren, F., Li, Y. and Zhang, C. 2012. Association analysis of important agronomical traits of maize inbred lines with SSRs. **Australian Journal of Crop Science** 6 (6): 1131-1138.

Yoshida, S., Forno, D. A., Cock, J. K. and Gomez, K. A. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute, Manila, Philippines. pp. 38.

Association analysis of closely linked markers to major QTLs *Saltol* and *SKC1* and salt tolerance-related traits in rice varieties

Atefeh Sabouri [1*], Hossein Sabouri[2], and Ahmad Reza Dadras[3]

1 and 3. Assist. Prof. and Ph. D. Student, respectively, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, University of Guilan, 2. Assist. Prof., Dept. of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University

(Received: December 25, 2012- Accepted: May 13, 2013)

Abstract

So far to genetic improvement of rice varieties to salinity stress, considerable researches has been performed related to QTL mapping with identifying of major QTLs of Saltol and SKC1 on chromosome 1 as a result. These QTLs are involved in control of some important traits related to salinity stress. The present study was conducted to evaluate and validate of closely linked markers of the QTLs in landrace and improved varieties. With above aims phenotyping carried out as factorial experiment in randomized complete block design with two factor variety (45 genotypes) and salinity (three levels control, 6 and 12 dS.m-2 NaCl). Ahlami Tarom, Binam, Pokalli, Has. Atashgah, Dom Zard, Shahpasand Mazandaran, Tarom Mahali, Gharib, Ghasroldashti, Mousa Tarom were assigned to tolerant group under 12 dS.m-2 condition. The varieties were genotyped for 23 microsatellite markers that were introduced out of fine mapping programs as closely linked markers to major QTLs of *Saltol* and *SKC1*. The results revealed although varieties clustering in term of phenotypic traits were not very conformity with genotypic clustering, the association analysis results was conveys this fact that on the chromosome 1 in the landrace and improved Iranian varieties there are some informative and significant markers including RM10136, RM10655 and RM3412 with regression model explaining considerable percent of phenotyping salt tolerance related traits. The results of present study can be used in breeding programs such as marker assisted selection directly if the results are confirmed.

Keywords: Microsatellite marker, Marker assisted selection, Salt stress

*Corresponding author: atefeh_sabouri@yahoo.com; a.sabouri@guilan.ac.ir