

اثر کروموزوم شماره یک برنج بر صفات مرتبط با تحمل به شوری و خشکی در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای

The Effect of Rice Chromosome 1 on Traits Associated with Drought and Salinity Tolerance at Germination and Seedling Stages

بابک ربیعی^۱، زهرا مردانی^۲، خدیجه قمی^۲، حسین صبوری^۳ و عاطفه صبوری^۴

۱ و ۲- به ترتیب دانشیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت
۳- استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد، گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۳۱

چکیده

ربیعی، ب.، مردانی، ز.، قمی، خ.، صبوری، ح. و صبوری، ع. ۱۳۹۳. اثر کروموزوم شماره یک برنج بر صفات مرتبط با تحمل به شوری و خشکی در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۰: ۱۶-۱.

این پژوهش با هدف شناسایی QTL‌های مرتبط با تحمل به شوری و خشکی در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای با استفاده از جمعیت $F_{2:4}$ حاصل از تلاقی دو رقم برنج غریب (متحمل به شوری و خشکی) و سپیدرود (حساس به شوری و خشکی) انجام شد. تعداد ۲۳۶ نشانگر چند شکل (شامل ۱۰۵ نشانگر AFLP و ۱۳۱ نشانگر ریزماهواره) برای تهیه نقشه ژنتیکی کروموزوم یک برنج مورد استفاده قرار گرفت. سیزده نشانگر ریزماهواره به همراه هفت نشانگر AFLP در مجموع با طول ۲۱۶/۱ سانتی مورگان کروموزوم یک را تشکیل دادند و فاصله متوسط نشانگرهای مجاور روی این کروموزوم ۱۰/۸ سانتی مورگان بود. با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، در مجموع هفده QTL کنترل‌کننده صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول کلنوبتیل و شاخص‌های تحمل به خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی در چهار شرایط مختلف (تنش خشکی ناشی از PEG و سوربیتول، تنش شوری ناشی از NaCl و شرایط عدم تنش) و چهار QTL کنترل‌کننده صفات درصد پتاسیم، نسبت طول ریشه به ساقه، امتیاز ارقام و وزن خشک ریشه در مرحله گیاهچه‌ای تحت تنش شوری ناشی از NaCl روی کروموزوم یک شناسایی شد. هفت QTL بزرگ اثر برای صفات مرتبط با تحمل به شوری و خشکی در دو مرحله رشدی در مجاورت نشانگرهای RM212 و RM1287 مکان‌یابی شدند. QTL‌های بزرگ اثر $qSV-1$ و $qGR-1$ در هر دو شرایط تنش و عدم تنش شناسایی شدند که ظهور QTL‌های مذکور در دو شرایط مختلف آزمایشی احتمالاً نشان‌دهنده پایداری این QTL‌ها و عدم تأثیر پذیری آن‌ها از شرایط محیطی است. علاوه بر آن، هم مکانی QTL‌های $qSKC-1$ و qRL/SL در مرحله گیاهچه‌ای با QTL‌های مرتبط با صفات مربوط به جوانه‌زنی بیانگر کنترل ژنتیکی یکسان این صفات در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بود. موقعیت بیشتر QTL‌های تحمل به شوری بسیار نزدیک به QTL‌های مرتبط با تحمل به خشکی بود که می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که تحمل به خشکی و شوری در برنج به وسیله ژن‌های با اثر پلیوتروپیک یا ژن‌های پیوسته کنترل می‌شود. به نظر می‌رسد بتوان با اصلاح برنج برای تحمل به یکی از این تنش‌ها، نسبت به تنش دیگر نیز موفق بود.

واژه‌های کلیدی: برنج (*Oryza sativa* L.)، تنش شوری و خشکی، مراحل رشدی، نشانگرهای ریزماهواره.

مقدمه

شوری و خشکی همیشه به عنوان مهم‌ترین تنش‌های محیطی برای شالیزارهای دنیا مطرح بوده و به عنوان محدودیت جدی برای افزایش تولید جهانی برنج محسوب می‌شوند (Flowers *et al.*, 1997).

میزان تحمل به تنش‌های محیطی در مراحل مختلف رشد گیاه برنج از جوانه‌زنی تا رسیدن کامل متفاوت است (Lutts *et al.*, 1995). مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در انتخاب گیاهان مقاوم در مناطق تحت تنش شوری و خشکی همواره مد نظر بوده است (Karamanos and Papatheohari, 1999).

تحمل به شوری و خشکی مانند سایر تنش‌های محیطی زنده در گیاهان عالی یک صفت پیچیده ژنتیکی و فیزیولوژیکی است و بیشتر فرآیندهای گیاهی دخیل در تحمل به شوری و خشکی، دارای تنوع پیوسته و توارث کمی بوده و تحت تأثیر شرایط محیطی نیز هستند (Koyama *et al.*, 2001; Piepho, 2000). افزایش تحمل به تنش شوری و خشکی از طریق اصلاح و معرفی ارقام متحمل راه حلی اقتصادی برای غلبه بر کمبود غذا در آینده محسوب می‌شود (Haq *et al.*, 2008). با پیشرفت‌هایی که در زمینه اصلاح نباتات مولکولی از جمله معرفی روش‌های پیشرفته فناوری نشانگرهای مولکولی، تهیه نقشه‌های پیوستگی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (Quantitative Trait Loci)

انجام شده است، اصلاح برای تحمل به شوری و خشکی تسهیل شده است (Takehisa *et al.*, 2004). مکان‌یابی QTLها ابزار مفید و قابل دسترسی برای به‌نژادگران گیاهی در زمینه روشن شدن اساس ژنتیکی صفات مرتبط با تحمل به تنش محسوب می‌شود (Gregorio *et al.*, 1997).

مطالعات مختلفی در زمینه تعیین مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات جوانه‌زنی در برنج در شرایط تنش شوری (Wang *et al.*, 2011؛ Wang *et al.*, 2010؛ Sabouri, 2010)، تنش خشکی (Cheng *et al.*, 2008؛ Hu *et al.*, 2007) و تنش دمایی (Ji *et al.*, 2009؛ Zhang *et al.*, 2005) انجام شده است. تعدادی از QTLهای مرتبط با تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای برنج نیز توسط محققین مختلف مکان‌یابی شده است (Koyama *et al.*, 2001؛ Gong *et al.*, 1999؛ Sabouri *et al.*, 2009؛ Lin *et al.*, 2004؛ Thomson *et al.*, 2010؛ Islam *et al.*, 2011).

صبوری (Sabouri, 2010) به منظور مکان‌یابی QTLهای مرتبط با خصوصیات جوانه‌زنی در برنج در شرایط شور، با استفاده از جمعیت $F_{2:3}$ حاصل از تلاقی ارقام طارم محلی و خزر، شش QTL مرتبط با سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه را با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب روی کروموزوم ۱ تعیین کرد. صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2010) در پژوهش دیگری، QTLهای مرتبط با سرعت جوانه‌زنی، طول

RM8094 و RM10745 احاطه شده است. آن‌ها اذعان داشتند نشانگرهای مذکور که پیوسته به ناحیه *saltol* هستند می‌توانند در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر برای بهبود تحمل به شوری مفید باشند. صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2009) نیز در مکان‌یابی صفات مرتبط با تحمل به شوری در یک جمعیت حاصل از تلاقی ارقام ایرانی توانستند روی کروموزوم ۱، دو QTL برای درصد سدیم اندام هوایی، یک QTL برای طول ریشه و یک QTL برای وزن تر اندام هوایی به ترتیب در فواصل نشانگری RM562-RM543، RM8068-RM8231 و RM8235-RM8144 شناسایی کنند که در فواصل دورتری از ناحیه *saltol* قرار داشتند.

هدف اصلی از این پژوهش، بررسی کروموزوم شماره یک برنج در جمعیت F_{2:4} حاصل از تلاقی ارقام ایرانی غریب و سپیدرود به منظور شناسایی QTL‌های صفات مرتبط با تنش‌های خشکی و شوری و ارزیابی میزان تاثیر نواحی ژنومی شناسایی شده در تحمل به لاین‌های F₄ به هر یک از این تنش‌ها در مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

صفات اندازه‌گیری شده در مرحله جوانه‌زنی مواد گیاهی این پژوهش، تعداد ۱۴۸ لاین F_{2:4} حاصل از تلاقی بین رقم محلی برنج غریب و رقم اصلاح شده سپیدرود بود. قابل ذکر است

ریشه‌چه و طول ساقه‌چه را در شرایط تنش اسمتیک حاصل از سوربیتول در ارقام برنج ایرانی روی کروموزوم ۱ ردیابی کردند. هو و همکاران (Hu *et al.*, 2007) در جمعیت لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب (RIL) حاصل از تلاقی IRAT109 و Zhenshan 97B، سه QTL برای شاخص مقاومت به خشکی و طول کلئوپتیل روی کروموزوم ۱ شناسایی کردند. ونگ و همکاران (Wang *et al.*, 2005) ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی را در حد فاصل نشانگرهای RM212-RM319 روی کروموزوم ۱ برنج تعیین کردند.

گرگوریو و همکاران (Gregorio *et al.*, 1997) توانستند با استفاده از جمعیت F₈ حاصل از تلاقی IR23 و Pokkali، سه QTL بزرگ اثر مرتبط با صفات سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی را روی کروموزوم ۱ شناسایی کنند. این قطعه در کروموزوم ۱ با نام *saltol* حدود ۶۴/۳ تا ۸۰/۲ درصد از تنوع فنوتیپی صفات مذکور را توجیه کرد، به طوری که *saltol* در پژوهش این محققین، به عنوان ژن اصلی مرتبط با تحمل به شوری در تحقیقات مکان‌یابی تحمل به شوری در دنیا به ثبت رسید. بر اساس گزارش محمدی‌نژاد و همکاران (Mohammadi-Nejad *et al.*, 2010) مکان *saltol* در طولی حدود ۱/۲ سانتی‌مورگان روی کروموزوم ۱ قرار داشته و با نشانگرهای

شاخص تحمل به تنش (Fernandes, 1992)، میانگین هندسی (Fernandes, 1992) و شاخص قدرت بذر (Abdul-Baki and Anderson, 1973) نیز مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. درصد جوانه‌زنی از نسبت تعداد نهایی بذرهای جوانه‌زده به تعداد کل بذرهای قرار گرفته در تشتک پتری و سرعت جوانه‌زنی بر حسب جوانه‌زنی نسبی بذرها در روز به ترتیب بر اساس روابط ۱ و ۲ محاسبه شدند (Maguire, 1962):

$$PG = N_i / N \times 100 \quad (1)$$

$$RG = X_1 / Y_1 + (X_2 - X_1) / Y_2 + \dots + (X_n - X_{n-1}) / Y_n \quad (2)$$

که در آن PG درصد جوانه‌زنی، N_i تعداد بذرهای جوانه زده در روز n ام، N تعداد کل بذرها، RG سرعت جوانه‌زنی، Y_n تعداد روز از شروع آزمایش تا زمان شمارش n ام و X_n درصد بذرهای جوانه‌زده در شمارش n ام هستند.

صفات اندازه‌گیری شده در مرحله گیاهچه‌ای

آزمایش مربوط به ارزیابی فنوتیپی در مرحله گیاهچه‌ای به صورت طرح کاملاً تصادفی در دو تکرار اجرا شد و ۱۴۸ فامیل F_4 به همراه دو والد در شوری ناشی از کلرید سدیم (NaCl) با هدایت الکتریکی ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش به روش گرگوریو و همکاران (Gregorio et al., 1997) در اتاقک رشد در شرایط فایتوترون (۲۹ درجه سانتی‌گراد در روز، ۲۱ درجه سانتی‌گراد در

که در این مطالعه، صفات بسیاری در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند، ولی فقط صفاتی ارائه شده‌اند که روی کروموزوم ۱ مکان‌یابی شدند. برای انجام ارزیابی فنوتیپی در مرحله جوانه‌زنی، ۱۴۸ لاین F_4 به همراه دو والد در چهار آزمایش مجزا در تنش خشکی (پلی اتیلن گلایکول و سوربیتول)، تنش شوری (NaCl) و بدون تنش در دو تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. هر تکرار شامل ۴۰ عدد بذر سالم از هر دو والد و ۱۴۸ خانواده F_4 بود. بذرها با محلول ۲ درصد هیپوکلریت سدیم برای ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس سه بار با آب مقطر شستشو شدند. بذرها در ظروف پتری استریل و روی کاغذهای صافی قرار داده شدند و جهت اعمال تنش خشکی ۵ میلی‌لیتر محلول پلی اتیلن گلایکول (۶۰۰۰) و سوربیتول با غلظت (۸ بار) در دو آزمایش جداگانه به آن‌ها اضافه شد، در آزمایش سوم جهت اعمال تنش شوری ۵ میلی‌لیتر محلول NaCl با غلظت (۸ دسی‌زیمنس) به آن‌ها اضافه شد در حالی که در شرایط عدم تنش از ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل استفاده شد. برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر، تعداد بذرهای جوانه‌زده برای هر یک از والدین و لاین‌های F_4 در ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰، ۱۴۴ و ۱۶۸ ساعت پس از آغاز آزمایش شمارش شد و در زمان آخرین قرائت، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و طول کلئوپتیل اندازه‌گیری شدند. شاخص تنش جوانه‌زنی (Bousslama and Schapaugh, 1984)

شب و رطوبت ۷۰٪) انجام شد. تعداد ۳۰ بذر جوانه‌دار از هر فامیل به همراه دو والد در محلول غذایی یوشیدا (Yoshida *et al.*, 1976) کشت و تیمارهای شوری ۲۱ روز پس از کشت اعمال شدند. قبل از انتقال بذرهای جوانه‌دار به محلول شور، ابتدا یک هفته بذرها در شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفتند تا تغییر ناگهانی محیط موجب از بین رفتن گیاهچه‌ها نشود و پس از آن مدت یک هفته در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر قرار داده شدند. دو هفته بعد از اعمال شوری، وزن خشک ریشه و نسبت طول ریشه به ساقه اندازه‌گیری شد. همچنین، میانگین امتیاز هر لاین F₄ بر اساس دستورالعمل مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (Anonymous, 1996) تعیین شد. برای اندازه‌گیری درصد پتاسیم نیز از روش کالرا (Kalra, 1998) استفاده شد و درصد پتاسیم لاین‌ها با استفاده از دستگاه فلاپم فتومتری تعیین شد. ارزیابی تمامی صفات روی ۳۰ بوته از هر تکرار انجام و از میانگین آن‌ها در تجزیه و تحلیل‌های مربوطه استفاده شد.

الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد. برای تعیین ژنوتیپ جمعیت، ابتدا چند شکلی بین والدین با استفاده از ۵۷۵ نشانگر ریزماهواره (SSR) و ۲۰ ترکیب از آغازگرهای AFLP بررسی و سپس از نشانگرهای چند شکل برای تعیین ژنوتیپ افراد جمعیت استفاده شد. روش AFLP بر اساس روش وس و همکاران (Vos *et al.*, 1995) با اندکی تغییرات انجام شد. هضم DNA ژنومی با استفاده از دو آنزیم *EcoRI* و *MseI* انجام شد و پس از اتصال قطعات حاصل به سازگارهای اختصاصی این دو آنزیم، مرحله پیش‌تکثیر با آغازگرهای بدون نوکلئوتید اضافی و مرحله تکثیر انتخابی با آغازگرهایی با سه نوکلئوتید اضافی در انتهای ۳' انجام شد. محصولات PCR روی ژل‌های توالی‌یاب (پلی‌اکریل‌آمید ۶ درصد واسرشته‌ساز) تفکیک و برای مشاهده نوارها از رنگ‌آمیزی نیترا نقره به روش باسام و همکاران (Bassam *et al.*, 1991) استفاده شد.

تجزیه QTL

قبل از تجزیه QTL ابتدا آزمون نرمال بودن داده‌ها (آزمون‌های چولگی و کشیدگی) انجام شد و QTL‌های کنترل‌کننده صفات مربوطه، پس از انتقال نقشه پیوستگی مربوط به کروموزوم شماره یک به نرم‌افزار QTL Cartographer (Basten *et al.*, 1997)، با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب شناسایی شدند. عدد آستانه LOD به وسیله

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای نشانگرهای SSR و AFLP

استخراج DNA ژنومی در جمعیت F₂ به روش سقایی معروف و همکاران (Saghi Maroof *et al.*, 1994) و با اندکی تغییرات انجام شد. کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA با استفاده از اسپکتروفتومتری و

آزمون تبدیل با تعداد جایگشت ۱۰۰۰ انتخاب شد.

نتایج و بحث

در چهار شرایط مختلف آزمایش در مرحله جوانه‌زنی، در مجموع هفده QTL روی کروموزوم ۱ شناسایی شدند که سهم تنش خشکی ناشی از PEG و سوریتول به ترتیب شش و چهار QTL، تنش شوری ناشی از NaCl پنج QTL و شرایط نرمال دو QTL بود (جدول ۱). از این تعداد، ده QTL نسبتاً بزرگ اثر بودند که بیش از ۱۵ درصد از تنوع فنوتیپی صفات مربوط را کنترل کردند. در مقابل، در شرایط تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای، فقط دو QTL بزرگ اثر روی کروموزوم ۱ شناسایی شدند. نتایج پژوهش حاضر بیانگر اهمیت کروموزوم ۱ در ارتباط با کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با تحمل به خشکی و شوری در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بود (شکل ۱). پرایس و همکاران (Price *et al.*, 2002) و لافیته و همکاران (Lafitte *et al.*, 2002) نیز برای تحمل به خشکی در جمعیت IR64×Azucena، ناحیه‌ای روی کروموزوم ۱ در فاصله نشانگری RM212-RM319 مشخص کردند که تحمل به خشکی را در جمعیت مربوطه کنترل می‌کرد. ونگ و همکاران (Wang *et al.*, 2005) نیز چندین ژن کاندید مرتبط با تحمل به خشکی را در جمعیت فوق و در فاصله نشانگری RM212-RM319 تعیین کردند. در پژوهش حاضر

نیز چهار QTL شامل *qPL-1* (در تنش خشکی ناشی از PEG) و *qGSI-1*، *qSTI-1* و *qGMP-1* (هر سه در شرایط تنش شوری NaCl) با نشانگر RM212 پیوسته بودند. بنابراین، اگر چه زمینه ژنتیکی مورد استفاده در این مطالعات متفاوت بود، اما پیوستگی نشانگر RM212 با QTL‌های صفات مرتبط با تنش‌های شوری و خشکی در مطالعه حاضر نشان داد که به احتمال زیاد این ناحیه از ژنوم برنج روی صفات مرتبط با جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و خشکی موثر بوده و می‌توان از آن برای مطالعات بعدی استفاده کرد.

گرگوریو (Garegorio, 1997) توانست با استفاده از جمعیت F₈ حاصل از تلاقی IR23 و Pokkali، سه QTL بزرگ اثر مرتبط با صفات سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم به پتاسیم اندام هوایی را روی کروموزوم ۱ شناسایی کند. این قطعه در کروموزوم ۱ با نام *saltol* حدود ۶۴/۳ تا ۸۰/۲ درصد از تنوع فنوتیپی صفات مذکور را توجیه کرد. این ناحیه بین دو نشانگر مجاور p3/m9-8 و p1/m9-3 به ترتیب با فاصله ۱۴/۷ و ۱۸/۶ سانتی‌مورگان از هر نشانگر شناسایی و سپس در مطالعات بعدی، با استفاده از نشانگرهای RFLP و SSR و جمعیت لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب (RIL) اشباع شد (Bonilla *et al.*, 2002) و با استفاده از جمعیت لاین‌های هم‌نسبی نزدیک (NIL) حاصل از تلاقی IR29 (به عنوان والد تکراری) و Pokkali (به عنوان والد بخشنده) مکان‌یابی

جدول ۱- QTL های کروموزوم یک برنج برای صفات مرتبط با جوانه زنی در شرایط مختلف شوری و خشکی

Table 1. QTLs on chromosome 1 for traits associated with germination in different drought and salinity conditions

Treatment	Traits ^a	QTL	Chr.	Flanking markers	Peak LOD	a ^b	d ^c	d/ a	PEV ^d
PEG	GR	<i>qGR-1</i>	1	RM237-RM246	3.86	0.32	0.78	2.43	15.40
	GP	<i>qGP-1</i>	1	E38-M59-4-RM1287	3.76	1.54	0.56	0.36	10.67
	PL	<i>qPL-1</i>	1	RM212-RM1268	3.56	0.05	0.01	0.20	15.48
	CL	<i>qCL-1</i>	1	RM1287-RM237	4.04	0.86	-0.63	-0.73	16.76
	SVI	<i>qSVI-1</i>	1	E37-60-4-E37-M60-8	4.55	0.16	0.51	3.18	15.87
	GSI	<i>qGSI-1</i>	1	RM5423-RM5302	2.79	0.61	0.11	5.54	13.76
Sorbitol	GMP	<i>qGMP-1</i>	1	RM8132-E36-M60-7	2.51	-0.48	-0.19	-2.52	18.20
	GSI	<i>qGSI-1</i>	1	RM1-E36-M61-4	2.23	0.14	0.16	1.14	5.32
	GR	<i>qGR-1</i>	1	RM237-RM1287	3.71	0.34	0.88	0.38	11.85
	CL	<i>qCL-1</i>	1	E36-M60-7-E38-M59-4	3.03	0.14	0.75	0.18	6.23
NaCl	RL	<i>qRL-1</i>	1	RM8132-E36-M60-7	3.76	0.58	-0.84	-1.44	15.17
	SVI	<i>qSVI-1</i>	1	RM237-RM1287	3.24	0.64	0.73	1.40	13.02
	GSI	<i>qGSI-1</i>	1	RM212-RM1268	3.82	0.99	1.02	1.03	16.40
	STI	<i>qSTI-1</i>	1	RM212-RM1268	4.12	0.54	0.67	1.24	17.07
	GMP	<i>qGMP-1</i>	1	RM212-RM1268	3.55	0.85	0.91	1.07	15.80
Water (Control)	GR	<i>qGR-1</i>	1	RM237-RM246	3.67	0.17	0.98	5.66	19.73

^a سرعت جوانه زنی (GR)، درصد جوانه زنی (GP)، طول ریشه چه (RL)، طول ساقه چه (PL)، شاخص قدرت بذر (SVI)، شاخص تنش جوانه زنی (GSI) شاخص تحمل به تنش (STI)، میانگین هندسی (GMP).

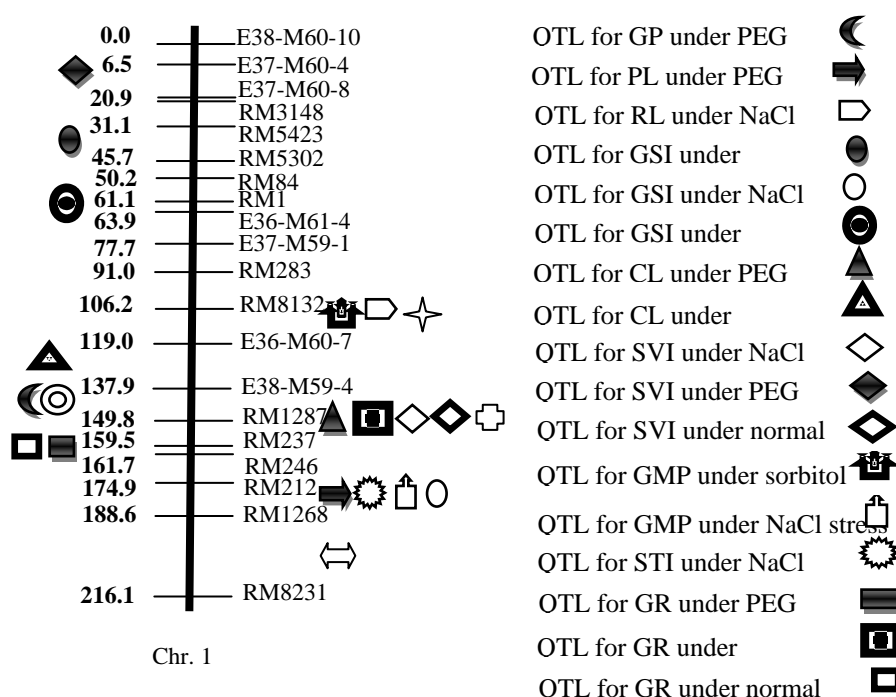
^a Germination Rate (GR), Germination Percentage (GP), Radicle Length (RL), Plumule Length (PL), Seed Vigour Index (SVI), Germination Stress Index (GSI), Stress Tolerance Index (STI), Geometric Mean Productivity (GMP).
^b اثر افزایشی.

^c Dominance effect.

^c اثر غالبیت.

^d Phenotypic variance explained by each QTL.

^d واریانس فنوتیپی نسبت داده شده به هر QTL.



شکل ۱- QTL های شناسایی شده روی کروموزوم شماره یک برنج در شرایط مختلف شوری و خشکی در جمعیت $F_{2:4}$ حاصل از تلاقی ارقام غریب و سپیدرود

Fig. 1. QTLs identified on rice chromosome 1 in different drought and salinity conditions in $F_{2:4}$ population derived from Gharib and Sepidroud cultivars

در حد فاصل نشانگرهای RM8144-RM466 در نزدیکی موقعیت $qGR-1$ شناسایی شده در مطالعه حاضر قرار داشت. اثر افزایشی این ناحیه از ژنوم روی کروموزوم ۱ در هر دو مطالعه مثبت و نوع عمل ژن به صورت فوق غالبیت بود.

در مطالعه حاضر، فقط یک QTL بزرگ اثر برای صفت طول ساقه‌چه در شرایط تنش خشکی (PEG) در فاصله نشانگری RM212-RM1268 شناسایی شد (جدول ۱، شکل ۱). صبوری (Sabouri, 2010) سه QTL بزرگ اثر برای طول ساقه‌چه در شرایط تنش شوری روی کروموزوم ۱ شناسایی کرد که عمل ژن در کلیه QTL‌های شناسایی شده به صورت فوق غالبیت بود که هیچ یک از این QTL‌ها با QTL‌های شناسایی شده در مطالعه حاضر مطابقت نداشتند. برای طول کلئوپتیل، دو QTL در شرایط خشکی ناشی از PEG و سوریتول مکان‌یابی شد (جدول ۱). هو و همکاران (Hu et al., 2007) در شرایط نرمال، هفت QTL برای طول کلئوپتیل در مجموع با توجه ۷۴/۸۵ درصد از واریانس فنوتیپی کل روی کروموزوم‌های ۱ (دو QTL)، ۲ (دو QTL)، ۷، ۱۱ و ۱۲ تعیین کردند. QTL‌های مکان‌یابی شده روی کروموزوم ۱ در فاصله نشانگرهای RM1287-RM237 در شرایط تنش خشکی ناشی از PEG در پژوهش حاضر از نظر موقعیت مکانی، بسیار نزدیک به یکی از QTL‌های شناسایی شده در مطالعه

دقیق آن انجام شد (Niones, 2004). بر اساس گزارش‌های این محققین، پنج نشانگر SSR (RM493، RM3412، RM8094، RM1287 و RM140) با *saltol* پیوسته بودند. در مطالعه حاضر نیز QTL‌های $qCL-1$ و $qGP-1$ (تنش خشکی ناشی از PEG)، $qGR-1$ (تنش خشکی ناشی از سوریتول)، $qSVI-1$ (تنش شوری ناشی از NaCl در مرحله جوانه‌زنی) و $qSKC-1$ و qRL/SL (تنش شوری ناشی از NaCl در مرحله گیاهچه‌ای) در مجاورت نشانگر RM1287 مکان‌یابی شدند (جدول‌های ۱ و ۲).

برای صفت سرعت جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی ناشی از PEG و شرایط عدم تنش، یک QTL در فاصله نشانگری RM237-RM246 ($qGR-1$) مکان‌یابی شد که به دلیل شناسایی آن در هر دو شرایط تنش و عدم تنش، می‌تواند به عنوان QTL پایدار کنترل کننده سرعت جوانه‌زنی مورد توجه قرار گیرد. ژنگ و همکاران (Zhang et al., 2005) نیز QTL‌های مرتبط با سرعت جوانه‌زنی را روی کروموزوم‌های ۱، ۴ و ۷ ردیابی کردند که QTL کروموزوم ۱ در حد فاصل بین نشانگرهای RM104 و RM212 قرار داشت و از نظر موقعیت مکانی مشابه با QTL به دست آمده برای سرعت جوانه‌زنی روی کروموزوم ۱ در پژوهش حاضر بود. صبوری (Sabouri, 2010) با استفاده از نقشه‌یابی فاصله‌ای سه QTL روی کروموزوم‌های ۱ (دو QTL) و ۱۲ شناسایی کرد که یکی از QTL‌ها

جدول ۲- QTLهای مکان‌یابی شده برای صفات مرتبط با تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای
Table 2. QTLs mapped for traits associated with salt (NaCl) tolerance in seedling stage

Traits ^a	QTL	Chr.	Flanking markers	Peak LOD	a ^b	d ^c	d/ a	PEV ^d
SKC	<i>qSKC-1</i>	1	E38-M59-4-RM1287	2.69	0.15	-0.18	-1.2	16.69
RL/SL	<i>qRL/SL</i>	1	RM1287-RM237	3.89	0.87	0.65	0.74	19.23
RDW	<i>qRDW-1</i>	1	RM1268-RM8231	2.94	-0.23	-1.73	-7.52	0.26
STR	<i>qSTR-1</i>	1	RM8132-E36-M60-7	2.53	-0.95	1.02	1.07	12.41

^a درصد پتاسیم اندام هوایی (SKC)، نسبت طول ریشه به ساقه (RL/SL)، وزن خشک ریشه (RDW) و امتیاز ارقام (STR).

^a Shoot K⁺ concentration (SKC), root /shoot length ratio (RL/SL), root dry weight (RDW) and standard tolerance ranking (STR).

^b Additive effect.

^b اثر افزایشی.

^c Dominance effect.

^c اثر غالبیت.

^d Phenotypic variance explained by each QTL.

^d واریانس فنوتیپی نسبت داده شده به هر QTL.

نداشت. لین و همکاران (Lin *et al.*, 2004) یک کروموزوم ۱ با اثر افزایشی ۰/۱۱ و با توجه ۱۶/۱ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت مربوطه شناسایی کردند که در پژوهش حاضر نیز یک QTL برای صفت مذکور در موقعیت مشابهی شناسایی شد که اثر افزایشی هر دو QTL برابر بود و در آن‌ها آلل‌های افزایش دهنده از والد متحمل منتقل شدند. در مقابل، شهید مسعود و همکاران (Shahid-Masood *et al.*, 2004) برای غلظت پتاسیم اندام هوایی هیچ QTL موثری روی کروموزوم یک مکان‌یابی نکردند. فتوکیان و همکاران (Fotokian *et al.*, 2006) به منظور مکان‌یابی QTLهای مرتبط با تحمل به تنش شوری در برنج از ۶۳ لاین BC₂F₅ حاصل از تلاقی به عنوان والد دوره‌ای و طارم مولایی به عنوان والد دهنده استفاده کردند و توانستند برای درصد پتاسیم اندام هوایی دو QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۸ مکان‌یابی کنند که QTL شناسایی شده روی کروموزوم

هو و همکاران (Hu *et al.*, 2007) روی کروموزوم ۱ در حد فاصل نشانگرهای RM294B-RM486 قرار داشت. QTLهای شناسایی شده برای صفات مرتبط با تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای در جدول ۲ ارائه شده است. در پژوهش حاضر، برای درصد پتاسیم اندام هوایی یک QTL روی کروموزوم ۱ در فاصله نشانگری E38-M59-4-RM1287 در ناحیه *saltol* مکان‌یابی شد (جدول ۲). کویاما و همکاران (Koyama *et al.*, 2001) دو QTL برای صفت غلظت پتاسیم اندام هوایی با اثر افزایشی برابر روی کروموزوم ۱ و ۴ مکان‌یابی کردند که QTL کروموزوم ۱ که در فاصله نشانگری E12-M48-6-E12-M40-6 شناسایی شد با *qSKC1* در پژوهش حاضر مطابقت نداشت. بیو و لانگ (Buu and Lang, 2003) دو QTL کوچک اثر برای صفت درصد پتاسیم اندام هوایی روی کروموزوم‌های ۱ و ۱۲ مکان‌یابی کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت

در پژوهش آن‌ها در مجاورت *qSKC-1* مکان‌یابی شده در پژوهش حاضر در مجاورت *qSKC-1* شناسایی شده توسط محققین فوق بود، اما برخلاف آن، الل افزایش دهنده درصد پتاسیم اندام هوایی از والد حساس منتقل شد. در پژوهش حاضر آلل کاهش دهنده صفت مذکور از والد حساس منتقل شد. پندیت و همکاران (Pandit et al., 2010) یک QTL کوچک اثر برای درصد پتاسیم روی کروموزوم ۱ با LOD برابر با ۲/۸۴ و اثر افزایشی ۱/۳۶- شناسایی کردند که مقدار ۱۲/۰۲ درصد از تنوع فنوتیپی صفت مذکور را توجیه کرد. این QTL پیوسته با نشانگر RM1287 مکان‌یابی شد. همچنین موقعیت *qSKC-1* ردیابی شده در این پژوهش نیز در مجاورت نشانگر RM1287 مکان‌یابی شد.

برای صفت وزن خشک ریشه در مرحله گیاهچه‌ای، فقط یک QTL کوچک اثر در فاصله نشانگرهای RM8231-RM1268 شناسایی شد (جدول ۲). فتوکیان و همکاران (۲۰۰۶) یک QTL بزرگ اثر برای وزن خشک ریشه روی کروموزوم ۱ در فاصله نشانگری RM431-RM14 که مقدار ۲۳ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه می‌کرد، شناسایی کردند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت.

برای صفت امتیاز ارقام تنها یک QTL در فاصله نشانگرهای E36-M60-7-RM8132 مکان‌یابی شد. عمار و همکاران (Ammar et al., 2007) با استفاده از ۲۰۰ فرد

یک (*QKsI*) با LOD برابر با ۴/۱ و اثر افزایشی ۸ در فاصله نشانگری RM583-RM23 مقدار ۲۱/۸ درصد از تنوع فنوتیپی صفت را توجیه کرد. QTL کوچک اثر (*qSKC-1*) شناسایی شده در پژوهش حاضر با QTL شناسایی شده روی کروموزوم یک در مطالعه فتوکیان و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت داشت و در هر دو مطالعه آلل‌های افزایش دهنده صفت از والد متحمل منتقل شدند. در مطالعه زنگ و همکاران (Zang et al., 2008) به کمک ۹۹ لاین اینترگرسیون BC₂F₈ از تلاقی بین IR64 به عنوان والد تکراری و بینام به عنوان والد بخشنده، چهار QTL برای درصد پتاسیم اندام هوایی روی کروموزوم‌های ۱، ۳، ۶ و ۱۱ مکان‌یابی شدند که تمامی این QTL‌ها بر صفت فوق اثر افزایشی مثبت داشتند. در مقابل، صبوری و همکاران (Sabouri et al., 2009) کروموزوم یک را در کنترل صفت غلظت پتاسیم اندام هوایی موثر ندانستند. تامسون و همکاران (Thomson et al., 2010) با استفاده از ۱۴۰ لاین نوترکیب حاصل از تلاقی رقم حساس IR29 و رقم متحمل Pokkali توانستند در شرایط شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، یک QTL (*qSKC-1*) برای درصد پتاسیم اندام هوایی روی کروموزوم ۱ پیوسته با RM8094 مکان‌یابی کنند که ۱۰ درصد از واریانس فنوتیپی صفت فوق توسط این QTL توجیه شد و در آن آلل‌های افزایش دهنده درصد پتاسیم از والد متحمل منتقل شد. *qSKC-1* شناسایی شده

ژنومی یکسانی با QTL (*qSKC-1*) در فاصله نشانگرهای E38-M59-4-RM1287 قرار داشتند. همچنین نتایج نشان داد در حد فاصل نشانگرهای RM1287-RM237، QTL های *qCL-1* (تنش خشکی ناشی از PEG)، *qGR-1* (تنش خشکی ناشی از سوریتول)، *qSVI-1* (تنش شوری ناشی از NaCl) و *qRL/SL* (تنش شوری ناشی از NaCl) در موقعیت ژنومی یکسانی قرار داشتند (جدول ۱). این نتایج می تواند ناشی از پلیوتروپی QTL های یکسان و یا پیوستگی شدید QTL های کنترل کننده این صفات باشد. چنگ و همکاران (Cheng *et al.*, 2008) پلیوتروپی را عامل اصلی کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با جوانه زنی عنوان کردند. با توجه به این که QTL های شناسایی شده در این پژوهش، موقعیت یکسانی روی نقشه داشتند، امکان وجود پلیوتروپی محتمل تر است.

نتایج نشان دهنده نکات جالب توجهی در خصوص نقش QTL ها در مرحله جوانه زنی و گیاهچه ای بود. هم مکانی QTL های *qSKC-1* و *qRL/SL* در مرحله گیاهچه ای با QTL های مرتبط با صفات مربوط به جوانه زنی نشان دهنده کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با تحمل به شوری و خشکی توسط نواحی ژنومی یکسان است. همچنین در این مطالعه، موقعیت های بیشتر QTL های متحمل به شوری بسیار نزدیک با QTL های مرتبط با تحمل به خشکی در مرحله جوانه زنی بودند (جدول ۱) که شاید بتواند نشان

F_{2:3} حاصل از تلاقی والدین CSR27 (متحمل به شوری) و MI-48 (حساس به شوری) و با به کارگیری ۸۹ نشانگر STMS چند شکل، در مجموع شش QTL برای صفت امتیاز ارقام، روی کروموزوم های ۱ (دو QTL)، ۴ (دو QTL)، ۳ و ۵ شناسایی کردند که QTL های مکان یابی شده روی کروموزوم یک با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نداشت. همچنین گانگ و همکاران (Gong *et al.*, 1999) با استفاده از ۱۲۷ لاین دابل هاپلوئید (DH) حاصل از تلاقی بین *(Indica)* ZYQ8 و *(Japonica)* JX17، QTL های تعداد روز تا زنده ماندن گیاهچه برنج را به وسیله ۲۲۱ نشانگر RFLP با استفاده از روش مکان یابی فاصله ای شناسایی کردند و برای امتیاز ارقام، ده QTL روی کروموزوم های ۱ (چهار QTL)، ۲، ۳، ۷، ۸ (دو QTL) و ۱۲ مکان یابی کردند که QTL های به دست آمده در پژوهش این محققین با نتایج مطالعه حاضر مطابقت نداشت.

نتایج نشان دهنده نقش QTL (*qGR-1*) در دو شرایط تنش خشکی ناشی از PEG و عدم تنش و نیز QTL (*qSVI-1*) در دو شرایط تنش شوری و عدم تنش بود. در مرحله جوانه زنی، QTL های *qPL-1* (تنش خشکی ناشی از PEG)، *qGSI-1*، *qSTI-1* و *qGMP-1* (هر سه تحت شرایط تنش شوری NaCl) در موقعیت یکسانی در فاصله نشانگرهای RM212-RM1268 قرار داشتند. QTL (*qGP-1*) در شرایط تنش خشکی ناشی از PEG در موقعیت

دهنده مکانیسم ژنتیکی تقریباً یکسان و مشابهی در تحمل به شوری و خشکی در مرحله جوانه‌زنی باشد.

با عنوان «شناسایی QTL‌های صفات مرتبط با تحمل به شوری در دو مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در برنج» استخراج شده است. از کلیه همکاران دانشکده‌های کشاورزی دانشگاه گیلان و دانشگاه گنبد که همکاری صمیمانه‌ای در اجرای این پژوهش داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه گیلان به عنوان گزیننده اول و از طرح پژوهشی مصوب دانشگاه

References

- Abdul-Baki, A. A., and Anderson, J. D. 1973.** Vigour determination in soybean by multiple criteria. *Crop Science* 13: 630-633.
- Ammar, M. H., Singh, R. K., Singh, A. K., Mohapatra, T., Sharma, T. R., and Singh, N. K. 2007.** Mapping QTLs for salinity tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *African Crop Science Conference Proceedings* 8: 617-620.
- Anonymous 1996.** Standard Evaluation System for Rice (4th ed.). INGER Genetics Resources Center, International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G., and Gresshoff, P. M. 1991.** Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 196: 80-83.
- Basten, C. J., Weir, B. S., and Zeng, Z. B. 1997.** QTL cartographer: A reference manual and tutorial for QTL mapping. North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.
- Bonilla, P.S., 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: 64-74.
- Boulsama, M., and Schapaugh, W. T. 1984.** Stress tolerance in soybeans. Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science* 24: 933-937.
- Buu, C. B., and Lang, N. T. 2003.** Application of molecular markers in rice breeding in the Mekong Delta of Vietnam. *Advanced Rice Genetic* 216-219.

- Cheng, H. T., Hua, J., Xue, D. W., Guo, L. B., Zeng, D. L., Zang, G. H., and Qian, Q. 2008.** Mapping of QTL underlying tolerance to alkali at germination and early seedling stages in rice. *Acta Agronomica Sinica* 34: 1719–1727.
- Fernandes, G. C. J. 1992.** Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. pp. 257-270. In: Kuo, C.G. (ed.) *Proceedings of International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Crops in Temperature and Water Stress*. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanbua, Taiwan..
- Flowers, T. J., Garcia, A., Koyama, M., and Yeo, A.R. 1997.** Breeding for salinity resistance in crop plants: The role of molecular biology. *Acta Physiologiae Plantarum* 19 (4): 427-433.
- Fotokian, M., Taleei, A., Ghareyazie, B., Postini, K., Shahnejat Bushehri, A. A., and Li, Z-K. 2006.** Advanced backcross analysis for the identification of genes/QTLs affecting salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by microsatellite markers. *Journal of Agricultural Sciences* 12 (1): 151-163. (in Persian).
- Gong, J., Zheng, X., DU, B., Qian, Q., Chen, S., Zhu, L., and He, P. 2001.** Comparative study of QTLs for agronomic traits of rice (*Oryza sativa* L.) between salt stress and nonstress environment. *Science in China* 44: 74-82.
- Gregorio, G. B. 1997.** Tagging salinity tolerance genes in rice using amplified fragment length polymorphism (AFLP). PhD. Thesis, University of Philippines, Los Banos College, Laguna, Philippines.
- Gregorio, G. B., Senadhira, D., and Mendoza, R. 1997.** Screening rice for salinity tolerance. Dis. Paper No. 22, IRRI. Los Banos, Manila, Philipines.
- Haq, T. U., Akhtar, J., Gorham, J., Steele, K. A., and Khalid, M. 2008.** Genetic mapping of QTLs, controlling shoot fresh and dry weight under salt stress in rice (*Oryza sativa* L.) cross between CO39×Moroberekan. *Pakistan Journal of Botany* 40 (6): 2369-2381.
- Hu, S. P., Yang, H., Zou, G. H., Liu, H. Y., Liu, G. L., Mei, H. W., Run, C., Li, M. S., and LUO, L. J. 2007.** Relationship between coleoptile length and drought resistance and their QTL mapping in rice. *Rice Science* 14: 13-20.
- Islam, M. R., Salam, M. A., Hassan, L., Collard, B. C. Y., Singh, R. K., and Gregorio, G. B. 2011.** QTL mapping for salinity tolerance at seedling stage in rice . *Journal of Food Agriculture* 23 (2): 137-146.

- Ji, S. L., Jiang, L., Wang, Y. H., Zhang, W. W., Liu, X., Liu, S. J., Chen, L. M., Zhai, H. Q., and Wan, J. M. 2009.** Quantitative trait loci mapping and stability for low temperature germination ability of rice. *Plant Breeding* 128: 387-392.
- Kalra, Y. P. 1998.** Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press, Boca Raton, Florida. 300 pp.
- Karamanos, A. J., and Papatheohari, A. Y. 1999.** Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the water potential index. *Crop Science* 39: 1792-1797.
- Koyama, L. M., Levesley, A., Koebner, R. M. D., Flowers, T. J., and Yeo, A.R. 2001.** Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiology* 125: 406-422.
- Lafitte, H. R., Courtois, B., and Arraudeau, M. 2002.** Genetic improvement of rice in aerobic systems: progress from yield to genes. *Field Crops Research* 75: 171-190.
- Lin, H. X., Zhu, M. Z., Yano, M., Gao, J. P., Liang, Z. W., Su, W. A., Hu, X. H., Ren, Z. H., and Chao, D.Y. 2004.** QTLs for Na and K uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 253-260.
- Lutts, S., Kinet, J. M., and Bouharmont, J. 1995.** Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. *Journal of Experimental Botany* 46: 1843-1852.
- Maguire, J. D. 1962.** Seed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science* 2: 176-177.
- Mohammadi-Nejad, M., Arzani, G. A., Rezai, A. M., Singh, R. K., and Gregorio, G. B. 2008.** Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the *saltol* QTL. *African Journal of Biotechnology* 7: 730-736.
- Niones, J. M. 2004.** Fine mapping of the salinity tolerance gene on chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using near isogenic lines. MS Dissertation, Los Banos College University of the Philippines, Laguna, Philippines.
- Pandit, A., Rai, V., Bal, S., Sinha, S., Kumar, V., Chauhan, M., Gautam, R. K., Singh, R., Sharma, P. C., Singh, A. K., Gaikwad, K., Sharma, T. R., Mohapatra, T., and Singh, N. K. 2010.** Combining QTL mapping and transcriptome profiling of bulked RILs for identification of functional polymorphism

- for salt tolerance genes in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Genetics and Genomics* 284: 121-136.
- Piepho, H. P. 2000.** A mixture-model approach to mapping quantitative trait loci in barley on the basis of multiple environment data. *Genetics* 156: 2043–2050.
- Price, A. H., Townend, J., Jones, M. P., Audebert, A., and Courtois, B. 2002.** Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. *Plant Molecular and Biological Sciences* 48: 683-695.
- Sabouri, H. 2010.** Mapping of QTLs of germination characteristics in rice using microsatellite markers under salin condition. *Iranian Journal of Biology* 23: 333-342 (in Persian).
- Sabouri, H., Biabani, A., Sabouri, A., and Mohammad Esmaili, M. 2010.** The study of QTLs related to seed vigour under stress caused to Sorbitol in rice. *Journal of Plant Production* 17: 123-136 (in Persian).
- Sabouri, H., Rezai, A. M., Moumeni, A., Kavousi, A., Katouzi, M., and Sabouri, A. 2009.** QTLs mapping of physiological traits related to salt tolerance in young rice seedlings. *Biologia Plantarum* 53 (4): 657-662.
- Saghi 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 location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Science, USA* 91: 5466-5570.
- Shahid-Masood, M., Seiji, Y., Shinwari, Z. K., and Anwar, R. 2004.** Mapping quantitative trait loci (QTLs) for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) using RFLP. *Pakistan Journal of Botany* 36(4): 825-834.
- Takehisa, H., Shimodate, T., Fukuta, Y., Ueda, T., Yano, M., Yamaya, T., Kameya, T., and Sato, T. 2004.** Identification of quantitative trait loci for plant growth of rice in paddy field flooded with salt water. *Field Crops Research* 89: 85-95.
- Thomson, M. J., Ocampo, M. D., Egdane, J., Rahman, M. A., Sajise, A. G., Adorada, D. L., Tumimbang-Raiz, E., Blumwald, E., Seraj, Z. I., Singh, R. K., Gregorio, G. B., and Ismail, A. M. 2010.** Characterizing the saltol quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice* 3: 148-160.

- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M., and Zabeau, M. 1995.** AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.
- Wang, X. S., Zhu, J., Mansueto, L., and Bruskiwich, R. 2005.** Identification of candidate genes for drought stress tolerance in rice by the integration of a genetic (QTL) map with the rice genome physical map. *Journal of Zhejiang University Science* 6: 382-388.
- Wang, Z. F., Wang, J. F., Wang, F. H., Bao, Y. M., Wu, Y. Y., and Zhang, H. S. 2009.** Genetic control of germination ability under cold stress in rice. *Rice Science* 16: 173-180.
- Wang, Z. J., Wang, Y. B., Wu, Y., and Zhang, H. 2011.** Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. *Euphytica* 178: 297-307.
- Yoshida, S., Forno, D. A., Cock, J. H., and Gomez, K. A. 1976.** *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. IRRI, Los Banos, Manila, Philippines.
- Zang, J., Sun, Y., Wang, Y., Yang, J., Li, F., Zhou, Y., Zhu, L., Reys, J., Fotokian, M., Xu, J., and Li, Z. 2008.** Dissection of genetic overlap of salt tolerance QTL at the seedling and tillering stages using backcross lines in rice. *Science in China Series* 51 (7): 583-591.
- Zhang, Z. H., QU, X. S., Wan, S., Chen, L. H., and Zhu, Y. G. 2005.** Comparison of QTL controlling seedling vigour under different temperature conditions using recombinant inbred lines in rice (*Oryza sativa* L.). *Annals of Botany* 95: 423-429.