



"مقاله پژوهشی"

بررسی تحمل به خشکی در یک جمعیت نوترکیب برنج و ارتباط عملکرد و اجزاء آن با نشانگرهای ریزماهواره

شمیم خالق جو^۱ و علیرضا ترنگ^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران
۲- استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران، (نویسنده مسول: a_tarang@hotmail.com)
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۴/۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۶

صفحه: ۱۴ تا ۲۵

چکیده

جهت ارزیابی تحمل به خشکی در یک جمعیت نوترکیب برنج و بررسی ارتباط برخی صفات مهم با نشانگرهای ریزماهواره، تعداد ۴۰ لاین F₇ حاصل از تلاقی رقم محلی غریب و رقم اصلاح شده سپیدرود در دو محیط بدون تنش (غرقاب) و تنش خشکی در سال زراعی ۱۳۹۷ در موسسه تحقیقات برنج کشور مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج حاصل از ارزیابی فنوتیپی ارقام و لاین‌های مورد مطالعه نشان داد که تمامی ژنوتیپ‌ها، علاوه بر کاهش رشد تحت شرایط تنش خشکی، دارای تنوع بوده و در برابر خشکی واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. نتایج تجزیه خوشه‌ای صفات مورفولوژیک نشان داد که تحت تنش خشکی، لاین‌های L27، L38، L29، L40 و L39 با کمترین درصد کاهش صفات، بیشترین مقدار عملکرد دانه، و زودرس‌تر بودن به عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها شناسایی شدند. بعد از آن‌ها لاین‌های L9، L17، L21، L26، L30، L12، L19، L23، L25، والد سپیدرود، شاهد خزر و هانسمی بیشترین عملکرد را تحت شرایط تنش خشکی داشتند. نتایج تجزیه رگرسیونی نشان داد که ۱۳ عدد از ۲۴ نشانگر ریزماهواره مورد مطالعه شامل RM11943، RM431، RM12091، RM416، RM236، RM16030، RM555، RM211، RM423، RM12146، RM520، RM12023 و RM233A با بیش از یک صفت مورفولوژیک مرتبط با تحمل به خشکی در ارتباط بودند و بنابراین می‌توان از این نشانگرها در برنامه‌های مختلف اصلاح برنج به‌منظور غربال و انتخاب ارقام و لاین‌های متحمل به خشکی در مناطق تحت این تنش محیطی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه خوشه‌ای، تنش خشکی، لاین نوترکیب، نشانگر ریزماهواره

مقدمه

تنش، واژه‌ای است که اولین بار توسط دانشمندان علوم بیولوژیک در مورد موجودات زنده به کار برده شد و آن‌را به‌عنوان هر عاملی که امکان بالقوه وارد آوردن صدمه به موجودات زنده را دارد، تعریف نمودند (۱۴). خشکی شایع‌ترین تنش محیطی است که باعث کاهش عملکرد گیاهان در ۳/۶ بیلیون هکتار از زمین‌های زراعی مناطق خشک و نیمه خشک (حدود ۲۵ درصد سطح زیر کشت زمین‌های زراعی جهان) می‌شود (۱۸). حدود یک سوم اراضی جهان با کمبود بارندگی مواجه‌اند و نیمی از این اراضی دارای بارندگی ماهیانه کمتر از ۲۵۰ میلی‌متر می‌باشند که یک چهارم تبخیر و تعرق بالقوه این مناطق است (۱۵). در مناطق خشک و نیمه خشک علاوه بر میزان بارندگی کم، توزیع بارندگی از فصلی به فصل دیگر و از سالی به سالی دیگر متغیر بوده و بنابراین پیش‌بینی میزان و توزیع آن بسیار مشکل است. در کشور ما نیز به غیر از سواحل دریای خزر و قسمت‌های کوچکی از شمال غربی کشور، بقیه مناطق جزء نقاط خشک و نیمه خشک محسوب می‌شوند و این در حالی است که مناطق نیمه خشک آن، از وسعت بیشتری برخوردارند (۴). بر اثر تغییرات اقلیمی خطر خشکسالی به یک مشکل بزرگ تبدیل شده که تعداد زیادی از کشورهای جهان را در معرض خطر قرار داده و تهدیدی جدی برای اکوسیستم و حیوانات و افراد به شمار می‌رود. در کشور ما نیز کاهش بارش‌ها، برداشت‌های بی‌رویه آب و تغییر

اقلیم در کشور و گرم‌تر شدن هوا سبب شده بخش وسیعی از شالیزارهای استان‌های برنج‌خیز با تنش کم آبی مواجه شوند (۳).

برنج مهم‌ترین منبع غذایی برای بیشتر از نصف مردم جهان به شمار می‌رود. بیشتر از ۹۰ درصد برنج جهان در آسیا کشت و مصرف می‌شود، جایی که بیشتر از ۶۰ درصد جمعیت زمین در آن زندگی می‌کنند (۳۲). برنج در مرحله گل‌دهی بسیار حساس به تنش است و این بدان معنی است که پس از خارج نمودن آب مزرعه، لاین‌های با دوره گل‌دهی زودتر نسبت به لاین‌هایی که گل‌دهی آن‌ها دیرتر صورت می‌گیرد، کمتر تحت تاثیر تنش قرار می‌گیرند (۱۷).

لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب (RILها) یکی از جمعیت‌های اصلاحی محسوب می‌شوند. خویش‌آمیزی افراد F₂ و گزینش تک بذر آن‌ها، پس از هفت تا ده نسل خودگشتی، تولید لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب را فراهم می‌سازد (۳۸). این جمعیت‌ها شامل یک‌سری از لاین‌های هموزیگوس می‌باشند که هر کدام شامل ترکیبی از قطعات کروموزومی منحصر به فرد از والدین می‌باشند. RILها جمعیت‌های پایدار هستند و مقدار زیادی بذر از آن‌ها می‌توان به دست آورد که ارزیابی فنوتیپی را در قالب طرح آزمایشی تکراردار در چندین محیط و چند سال امکان‌پذیر می‌سازد (۹). در حقیقت از ویژگی‌های این لاین‌ها می‌توان به تولید مقدار بذر زیاد از آن‌ها، اثر خیلی کم محیط بر آنها، خلوص زیاد،

واریانس خیلی زیاد بین لاینی و واریانس خیلی کم درون لاینی اشاره نمود (۳۸).

یکی از موارد بسیار مهم در به‌نژادی تحمل به خشکی در برنج، پیچیده بودن و کمی بودن آن است که به دلیل عدم وجود روش اندازه‌گیری مستقیم برای آن باعث مشکل شدن شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی می‌شود. در روش‌های مولکولی مثل تجزیه ارتباطی از رابطه رگرسیونی بین مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات برای شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفات کمی استفاده می‌شود.

رئبسی و صبوری (۲۷) جهت اعتبارسنجی نشانگرهای ریز ماهواره مرتبط با تحمل به تنش خشکی و شوری در برنج، از جمعیت طبیعی شامل برنج‌های هوزی، ارقام خارجی و ایرانی استفاده نمودند. مواد گیاهی در شرایط نرمال و همچنین دو سطح از تنش اسمزی (۸- و ۱۶- بار حاصل از ماینیول) با استفاده از آزمون‌های استاندارد جوانه‌زنی از لحاظ صفت ارزیابی شدند. ارزیابی ژنوتیپی با استفاده از ۲۶ جفت نشانگر ریزماهواره بر روی ۵۳ ژنوتیپ برنج انجام شد. در این مطالعه، نتایج حاصل از تجزیه ساختار نشان داد که تعداد خوشه‌هایی که پارامتر DK را به حداکثر خود می‌رساند برابر ۳ می‌باشد. سپس تجزیه ارتباط با استفاده از ماتریس ساختار جمعیت و با مدل‌های آماری GLM و MLM انجام شد. دو مدل MLM در سطح ۵٪ به ترتیب ۷۵ و ۳۰ نشانگر برای صفات مورد مطالعه شناسایی کردند. نشانگرهای RM190، RM104، RM11943، RM510، RM231، RM28166، RM270، RM19367 و RM431 به‌عنوان نشانگرهای مرتبط با تحمل به تنش اسمزی با توجه تغییرات مرتبط با چندین صفت جوانه‌زنی شناسایی شدند. همچنین نشانگر RM270 با توجه ۴۰/۴٪ از تغییرات شاخص بنیه پذر و نشانگر RM276 با توجه ۳۳/۹٪ از تغییرات درصد آب بافت گیاهیچه و نشانگر RM523 با توجه ۴۰/۶ و ۳۰/۷ درصد از تغییرات ضریب سرعت جوانه‌زنی در دو مدل، بیشترین ضریب تبیین را در شرایط تنش نسبت به سایر نشانگرها به خود اختصاص دادند که می‌تواند دلیلی بر تایید ارتباط آن‌ها با صفات جوانه‌زنی در شرایط تنش اسمزی باشد. با توجه به نتایج کسب شده، در صورت تایید نتایج در سایر زمینه‌های ژنتیکی می‌توان از این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی بهره‌برداری نمود.

در مطالعه دیگر، کریم و همکاران (۱۶) ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی در برنج با استفاده از ۲۱ صفت زراعی و ۱۴۴ باند تشکیل شده حاصل از ۱۰ آغازگر بین ریزماهواره در ۵۹ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه قرار گرفت. آبیاری مزرعه در هر دو محیط غرقاب و تنش، تا مرحله پنجه‌دهی ارقام به‌طور غرقاب انجام شد. سپس برای ایجاد تنش، از ۴۰ روز پس از نشاء (مرحله حداکثر پنجه‌زنی) تا پایان فصل زراعی به فاصله ۲۵ روز انجام شد. بیشترین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) را آغازگر ISSR-7 با ۰/۴۹ و آغازگرهایی ISSR-2، ISSR-8، ISSR-9 و ISSR-10 با ۰/۴۷ کمترین مقدار PIC را به خود اختصاص

دادند. براساس تجزیه رگرسیون داده‌های مولکولی و صفات مورفولوژیکی، در مجموع ۷۰ نشانگر برای شرایط نرمال و ۷۲ نشانگر برای شرایط تنش خشکی برای صفات مورفولوژیکی شناسایی شد. در شرایط نرمال عرض برگ پرچم با ۹ نشانگر و در شرایط تنش خشکی طول خروج خوشه از غلاف، عرض برگ پرچم، تعداد دانه کل، تعداد دانه پر خوشه و عملکرد در هکتار با ۶ نشانگر بیشترین نشانگرهای مثبت را نشان دادند. بیشترین توجه تغییرات در شرایط نرمال مربوط به صفت مدت زمان رسیدگی (۰/۲۰) توسط مکان‌های ژنی ISSR6-7، ISSR10-11، ISSR7-4، ISSR1-7، ISSR2-5، ISSR8-8، ISSR1-2، 1-ISSR5، 9، ISSR4-8، ISSR1-5، 1-ISSR5 در شرایط تنش خشکی بیشترین توجه تغییرات مربوط به صفت عملکرد در هکتار (۰/۱۷) توسط مکان‌های ژنی-1، ISSR3، 10-ISSR10، 8-ISSR10، 6-ISSR1-ISSR9، 8-I تبیین شد. در این مطالعه تعدادی از نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط بودند.

در مطالعه دیگر، میری و همکاران (۲۰) ارتباط خصوصیات ۹۰ ژنوتیپ برنج را با ۱۱ نشانگر SSR پیوسته به تحمل تنش خشکی، بررسی نمودند. نتایج تجزیه خوشه‌ای برای صفات زراعی در شرایط نرمال و تنش خشکی ژنوتیپ‌ها را به ترتیب به چهار و سه گروه تقسیم کرد. تجزیه رگرسیون چندگانه بین صفات اندازه‌گیری شده و آلل‌های نشانگرهای SSR ارتباط معنی‌داری را بین برخی از آلل‌های تکثیر شده نشان داد. همچنین، نتایج تجزیه رگرسیون نشان داد که در شرایط نرمال و خشکی به ترتیب تعداد خوشه‌چه ثانویه و باروری بیشترین درصد از تغییرات عملکرد را توجه می‌کند. آن‌ها بدین نتیجه رسیدند که از نتایج این تحقیق می‌توان برای برنامه‌های به‌نژادی و انتخاب ارقام مناسب و متحمل به تنش خشکی استفاده نمود.

بر همین اساس، این تحقیق به‌منظور بررسی میزان تنوع در جمعیت نوترکیب برنج تحت شرایط تنش خشکی و انتخاب ارقام و لاین‌های متحمل به تنش خشکی اجراء شد. هم‌زمان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، تجزیه ارتباطی این نشانگرها با صفت عملکرد و اجزای آن مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش شامل تعداد ۴۰ لاین F₇ حاصل از تلاقی رقم محلی غریب و رقم اصلاح شده سپیدرود که از دو پروژه اجرا شده در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی رشت بود (۲۵). رقم محلی غریب حساس به خشکی و رقم اصلاح شده سپیدرود متحمل به خشکی است (۲۶). این لاین‌ها به همراه ۲ والد و دو رقم هاشمی و خزر (جمعاً چهار رقم شاهد) در دو آزمایش جداگانه تحت شرایط بدون تنش (آبیاری غرقابی طبق عرف معمول) و تنش خشکی در مرحله زایشی در موسسه تحقیقات برنج کشور- رشت مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت اعمال تنش، در مرحله حداکثر پنجه زنی آبیاری قطع و تا انتهای فصل رشد ادامه داشت. در طول دوره رشد با مشاهده علائم تنش از قبیل لول شدن برگ‌ها، خشک شدن و ترک برداشتن خاک،

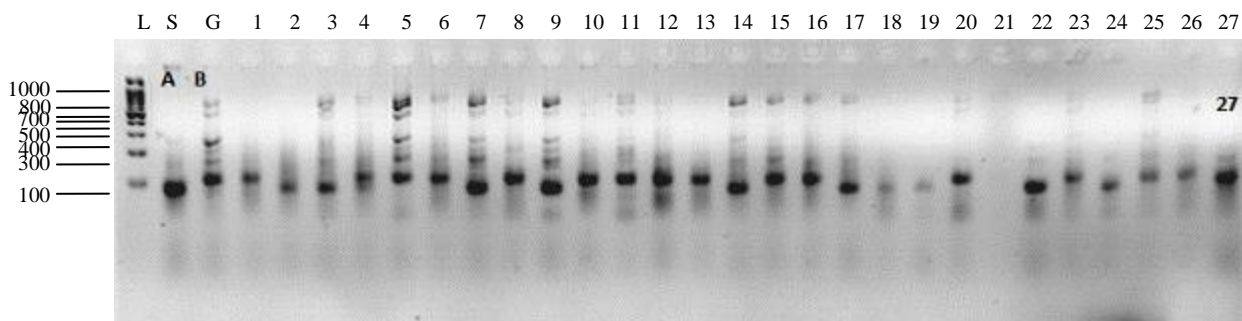
چرخه دمایی متفاوت می‌باشد. ابتدا اتصال آغازگر به رشته الگو ۱۰ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و دمای آن طی ۱۰ چرخه اولیه هر بار یک درجه کاهش یافته است. سرانجام دمای دستگاه در ۲۵ چرخه اصلی به دمای اتصال بهینه هر آغازگر یعنی ۵۵ درجه سانتی‌گراد رسید و تکثیر آغازگرها انجام شد.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد. برای بررسی میزان شباهت‌ها و تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورفولوژیک، تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس Ward انجام شد. برش دندروگرام جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس بیشترین فاصله بین دو ادغام متوالی انجام و سپس صحت گروه‌بندی حاصل با تجزیه تابع تشخیص ارزیابی شد. هر دو تجزیه خوشه‌ای و تابع تشخیص با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. برای نشانگر ریزماهوره نیز ابتدا الگوی نواری مشاهده شده در ژل‌های آغاز ۱٪ بر مبنای وجود یا فقدان نوار به ترتیب با اعداد یک و صفر مرتب شد و داده‌ها به صورت یک ماتریس ۴۰×۸۰ وارد نرم‌افزار Excel گردیدند که در آن عدد ۸۰ نشان‌دهنده تعداد آلل مشاهده شده و عدد ۴۰ تعداد ژنوتیپ‌های مطالعه شده است.

به منظور گروه‌بندی ارقام بر اساس داده‌های مولکولی نیز از نرم‌افزار R استفاده و تجزیه خوشه‌ای بر مبنای ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA (که بیشترین ضریب همبستگی کوفتیک و بهترین شکل دندروگرام را از نظر عدم وجود حالت پله‌ای داشت)، انجام شد. تجزیه ارتباطی نیز توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. برای بررسی صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه کلاستر، از تجزیه تابع تشخیص به روش فیشر، استفاده شد (جدول ارائه نشده). ۲ تابع تشخیص به ترتیب ۷۸ و ۲۲ درصد از واریانس و در مجموع صد درصد تنوع موجود را توجیه کردند. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه کلاستر نیز ۱۰۰ درصد بود.

نمونه‌برداری انجام گرفت (۳۲). در این بررسی، خصوصیتی شامل تاریخ گل‌دهی، ارتفاع بوته، طول خوشه، درصد کل تبدیل، درصد برنج سالم، درصد برنج خرده و عملکرد در واحد هکتار بر اساس سیستم اندازه‌گیری استاندارد برنج، روی ۸۸ بوته از هر لاین اندازه‌گیری شد (۱۳).

استخراج DNA از نمونه‌های برگ‌گی به روش CTAB انجام شد (۲۲). به منظور ارزیابی تنوع مولکولی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از ۲۴ نشانگر SSR با توجه به مطالعات سایر محققین استفاده شد (جدول ۱). این نشانگرها بر اساس صفات مرتبط با عملکرد تحت شرایط تنش خشکی از پایگاه اطلاعاتی Gramene (www.gramene.org) بر مبنای ارتباط آن‌ها با QTL‌های شناخته‌شده و بزرگ‌اثر مرتبط با تنش خشکی انتخاب و توالی آن‌ها از همین پایگاه تهیه شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر Applied Biosystems Thermocycler انجام پذیرفت و برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر شامل واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۴ °C و بعد ۳۵ چرخه حرارتی به صورت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ °C جهت واسرشت‌سازی، ۴۵ ثانیه در دمای ۵۵ °C به منظور اتصال آغازگرها، یک دقیقه در دمای ۷۲ °C به منظور اختصاصی‌تر شدن اتصال آغازگرها به DNA الگو و جلوگیری از اتصال غیرتخصصی آن‌ها و نیز حذف نوارهای شبه ریزماهوره، برنامه دمایی دستگاه به صورت Touch down انجام شد، به طوری که دمای مرحله اتصال آغازگرها در ده چرخه اول ۶۵ °C در نظر گرفته شد و در هر چرخه یک درجه سلسیوس از این دما کاسته شد تا به دمای ۵۵ °C رسید. به دنبال آن، ۳۰ چرخه حرارتی باقی‌مانده با همین دما انجام شد و در نهایت دمای نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد اعمال گردید. چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز جهت تکثیر DNA ژنومی با ۲۴ جفت آغازگر ریزماهوره با استفاده از روش فرودی-کاهشی صورت گرفت. این برنامه جهت اختصاصی کردن محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز بوده و دارای دو



شکل ۱- الگوی نواری محصولاتی PCR تکثیر شده توسط آغازگر RM12091 برای تعدادی از افراد مورد مطالعه. L: لدر، S: والد سپیدرود، G: والد غریب.

Figure 1. View of the polymorphic pattern of PCR products with RM12091 primer for some studied individuals. L: Ladder, S: Sepidroud, G: Gharib.

جدول ۱- اطلاعات نشانگرهای ریزماهوره مورد مطالعه

Table 1. Information of the studied microsatellite markers

نشانگر	آغازگر رفت	آغازگر برگشت	موتیف	اندازه محصول تقریبی	منبع
RM11943	CTTGTTTCGAGGACGAAGATAGGG	CCAGTTTACCAGGGTCGAAACC	GA(11)	76	Vikram et al., 2015
RM431	TCCTGCGAACTGAAGAGTTG	AGAGCAAAAACCTGGTTCAC	AG(16)	251	Vikram et al., 2015
RM104	GGAAGAGGAGAGAAAGATGTGTGTCG	TCAACAGACACACCGCCACCGC	GA(9)	222	Yue et al., 2006
RM12023	TGCGTACCTCTGCTCCTCTCTGTC	GACGAAGCCGACCAAGTGAAGC	TCG(8)	93	Vikram et al., 2015
RM12091	TGTCCAGAGAATGACAAAAGTACGC	GGATGTATATCTGCCACCAAATGC	TC(12)	214	Vikram et al., 2011
RM12146	AGTATGCCCTGCCACTACTACTAGG	CAGCGAATGGAAGAGCAACC	AG(12)	99	Vikram et al., 2015
RM12233	CTTGAGTTCGAAGCGAGAAGACG	CACCTGAGCTCGAGACGTAGCC	TCC(8)	82	Vikram et al., 2011
RM416	GGGAGTTAGGGTTTTGGAGC	TCCAGTTTCACACTGCTTCG	GA(9)	114	Venuprasad et al., 2009
RM520	AGGAGCAAGAAAAGTTCCCC	GCCAATGTGTGACGCAATAG	AG(10)	247	Vikram et al., 2015
RM16030	GCGAACTATGAGCATGCCAACC	GGATTACCTGGTGTGTGCAAGTGC	AG(11)	99	Vikram et al., 2015
RM236	GCGCTGGTGGAAAATGAG	GGCATCCCTCTTTGATTCCTC	CT(18)	191	Swamy et al., 2013
RM279	GCGGGAGAGGGATCTCCT	GGCTAGGAGTTAACCTCGCG	GA(16)	174	Swamy et al., 2013
RM423	AGCACCCATGCCTTATGTTG	CCTTTTTCAGTAGCCCTCC	TTC(9)	273	Swamy et al., 2013
RM53	ACGTCTCGACGCATCAATGG	CACAAGAATTCCTCGGTAC	GA(14)	182	Uday, 2013
RM555	TTGGATCAGCCAAAGGAGAC	CAGCATTGTGGCATGGATAC	AG(11)	223	Swamy et al., 2017
RM211	CCGATCTCATCAACCAACTG	CTTCACGAGGATCTCAAAGG	(TC)3A(TC)18	161	Palanog et al., 2014
RM233A	CCAAATGAACCTACATGTTG	GCATTGCAGACAGCTATTGA	CT(20)	162	Sellamuthu et al., 2015
RM468	CCCTTCCTTGTGTGGCTAC	TGATTCTGAGAGCCAACCC	(TAT)8	265	Dixit et al., 2014
RM105	GTCGTCGACCCATCGGAGCCAC	TGGTCGAGGTGGGGATCGGGTC	CCT(6)	134	Swamy et al., 2013
RM551	AGCCCAGACTAGCATGATTG	GAAGGCGAGAAGGATCACAG	AG(18)	192	Swamy et al., 2013
RM573	CCAGCCTTTGCTCCAAGTAC	TCTTCTCCCTGGACCACAC	GA(11)	201	Palanog et al., 2014
RM168	TGCTGCTTGCTGCTTCTCTT	GAAACGAATCAATCCACGGC	T15(GT)14	116	Dixit et al., 2014
RM250	GGTTCAAACCAAGCTGATCA	GATGAAGGCCCTCCACGCAG	CT(17)	153	Palanog et al., 2014
RM269	GAAAGCGATCGAACCAGC	GCAAATGCGCCTCGTGTC	GA(17)	182	Swamy et al., 2013

نتایج و بحث

داده شده است. با توجه به مقادیر به دست آمده برای صفات مختلف، مشاهده می‌شود که بیشترین و کمترین آسیب ناشی از تنش خشکی، به ترتیب مربوط به عملکرد در هکتار و طول خوشه با ۷۱/۱۴ درصد و ۵/۳۳ درصد بود (جدول ۳). به علاوه، صفاتی نظیر درصد برنج خرده (۶۵/۳۴ درصد)، درصد برنج سالم (۳۲/۷۰ درصد)، درصد کل تبدیل (۱۱/۲۳) و ارتفاع بوته ۱۰/۷۲ نیز به شدت تحت تاثیر خشکی قرار گرفته و ارزش آن‌ها به مقدار زیادی کاهش یافت.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات بررسی شده در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌داری با هم بودند (جدول ۲). در این تحقیق مشخص گردید که بین گروه‌های مختلف ایجادشده در بین ژنوتیپ‌های برنج بر مبنای صفات مورد بررسی تنوع ژنتیکی وجود دارد. درصد تغییرات ناشی از تنش خشکی روی کلیه صفات در لاین‌های F₇ در جدول ۳ نشان

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب صفات در ژنوتیپ‌های برنج در دو محیط بدون تنش و تنش خشکی
Table 2. Composite analysis of variance of the traits in rice genotypes in two environments without stress and drought stress

میانگین مربعات صفات مورد مطالعه							درجه آزادی	منابع تغییرات
عملکرد دانه در بوته	درصد برنج خرده	درصد برنج سالم	درصد کل تبدیل	طول خوشه	ارتفاع بوته	تعداد روز تا گلدهی		
۱۵۴۲۴/۶۴*	۱/۰۸ ^{ns}	۶۳/۱**	۵۷/۴۷**	۶۴۵/۶۶**	۲۰۴۱۸/۶۵**	۳۰۵/۷۳**	۱	محیط
۱۸۷۹/۶۵	۰/۳۷	۵۴/۶۱	۵/۷۴	۵۷/۹۱	۶۸۵/۰۴	۵۵۱/۳۸	۴	تکرار درون محیط
۳۶۸/۴۳**	۰/۰۳**	۶۳/۷۸**	۶/۲۱**	۶۹/۹۴**	۵۶۸/۴۴**	۱۷۳/۶۵**	۴۳	ژنوتیپ
۲۳۴/۴۵**	۰/۰۲**	۵۷/۵۲**	۳/۳۶**	۲۱/۷۱**	۳۱۲/۲۶**	۶۲/۱۲*	۴۳	ژنوتیپ × محیط
۱۹/۱۲	۰/۰۰۱	۳/۴۱	۰/۱۶	۲/۵۴	۲۷/۹۶	۵/۴۳	۱۷۲	خطا
۱۱	۳/۹۸	۶/۵۴	۵/۵۴	۴/۲۷	۳/۱۰	۴/۵۶		ضریب تغییرات (درصد)

ns* و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

کاهش عملکرد برنج می‌شود. همچنین این نتایج با دیگر بررسی‌ها مبنی بر کاهش عملکرد دانه در شرایط افزایش تنش، بیش از آستانه تحمل گیاه به دلیل اختلال رشد در مرحله زایشی و عدم انتقال و تخصیص کربوهیدرات‌ها و قندها به دانه مطابقت دارد (۲۴، ۲۱، ۱۰).

اثر کاهشی تنش بر تعداد روز تا گلدهی (۶/۱۲ درصد) بود. تحت شرایط خشکی گیاه برای گریز از خشکی از مکانیسم رسیدگی زود هنگام استفاده می‌کند و در نتیجه زمان گل‌دهی و رسیدگی کاهش می‌یابد. نتایج این بررسی با نتایج ابرشهر و همکاران (۱، ۲) مطابقت داشت.

ارزش‌های فنوتیپی صفات مورد مطالعه در هریک از والدین سپیدرود و غریب، افراد شاهد و نیز لاین‌های F₇ در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین بین والدین با انجام آزمون t-استیودنت نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد برای صفات مورد مطالعه در هر دو شرایط (نرمال و تنش خشکی) وجود داشت.

بررسی فوق با نتایج ابرشهر و همکاران (۱، ۲) بر روی گیاه برنج نیز تا حدودی مطابقت داشت. بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که کاهش شدید عملکرد دانه ناشی از کاهش اجزای آن و برخی از صفات مورفولوژیک مطالعه شده می‌باشد. این نتایج با یافته‌های محققین دیگر مطابقت داشت (۲۹، ۱۱).

با در نظر گرفتن درصد تغییرات صفات اجزای عملکرد، می‌توان چنین استنباط کرد که این آسیب ناشی از اعمال تنش خشکی در دوره پر شدن دانه است. اووک و همکاران (۲۳) با ایجاد تنش آبی در انتهای مرحله رویشی مشاهده کردند که خشکی در طی فاز زایشی، موجب کاهش عملکرد شلتوک از ۱۲ درصد تا ۴۶ درصد در ارقام مختلف شد. تونگ و بومن (۳۱) اظهار نمودند که خشکی یک محدودیت اصلی برای دستیابی به عملکرد بالای برنج‌های آبی است. مطالعات متعدد نشان داده است که قطع آبیاری و تنش خشکی ناشی از آن در مرحله گلدهی، باعث افزایش درصد پوکی دانه‌ها و

جدول ۳- میانگین صفات و درصد کاهش میانگین صفات در اثر تنش خشکی در لاین‌های F₇

Table 3. Traits mean and percentage of traits loss due to drought stress in F₇ lines

صفت	میانگین صفات		مقدار t	درصد کاهش صفات در اثر خشکی
	شرایط نرمال	شرایط تنش خشکی		
تاریخ گل‌دهی (روز)	۱/۱۵ ± ۹۴/۸۰	۱/۱۶ ± ۸۹	۱۱/۵۴**	۶/۱۲
ارتفاع بوته (سانتی متر)	۳/۱۳ ± ۱۱۰/۸۹	۲/۶۵ ± ۹۹	۲/۲۵*	۱۰/۷۲
طول خوشه (سانتی متر)	۰/۳۷ ± ۲۵/۳۵	۱/۶۹ ± ۲۴	۳/۴۸*	۵/۳۳
درصد کل تبدیل	۰/۸۵ ± ۶۶/۳۲	۰/۹۵ ± ۶۱/۸۲	۶/۷۵**	۱۱/۲۳
درصد برنج سالم	۲/۵۱ ± ۴۴/۱۳	۱/۸۷ ± ۲۵/۱۳	۱۲/۳۵**	۳۲/۷۰
درصد برنج خرده	۲/۰۶ ± ۲۲/۱۹	۱/۸۹ ± ۳۶/۶۹	۱۱/۷۴**	-۶۵/۳۴
عملکرد (هکتار)	۱۰۶/۴۷ ± ۵۳۰۷	۹۳/۰۹ ± ۱۵۳۱/۸۱	۴۷/۷۱**	۷۱/۱۴

* و **: معنی‌داری به ترتیب در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد.

صفات تاریخ گلدهی و عملکرد در واحد هکتار به ترتیب برتری ۸ و ۱۴۸۲ عددی را در شرایط نرمال و برتری ۱۱ و ۷۹۶ عددی را در شرایط تنش خشکی نسبت به والد غریب نشان داد. والد سپیدرود یک کاهش ۳۵ و ۴۰ سانتی‌متری را در ارتفاع بوته نسبت به والد غریب در شرایط نرمال و تنش نشان داد. بنابراین، با توجه به اینکه صفت پاکوتاهی از لحاظ اصلاحی مد نظر قرار دارد، بنابراین والد سپیدرود و نتایج که به طرف این والد سوق دارند یا کمتر از این والد قرار می‌گیرند می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند و گزینش روی این نتایج انجام شود. برای صفات مورد مطالعه، میانگین نسل F₇ در هر دو شرایط (نرمال و تنش خشکی) در محدوده والدین یا خارج از آن قرار داشت (جدول ۴) و همچنین انحراف استاندارد فنوتیپی صفات مورد مطالعه در نسل F₇ در برخی موارد بیشتر از والدین بود که این مسأله می‌تواند به خاطر تنوع ژنوتیپی و محیطی درون و بین لاینی باشد. دامنه نتایج نسل F₇ در دو شرایط نرمال و تنش خشکی در جدول ۳ الف و ب نشان داده شده است. تعدادی از نتایج در هر دو شرایط از لحاظ ارزش‌های فنوتیپی صفات مورد مطالعه خارج از محدوده والدینی قرار گرفتند. به عبارت دیگر، ارزش مشاهده شده صفت در آن‌ها بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار

والد غریب در شرایط تنش خشکی از لحاظ صفات ارتفاع بوته، طول خوشه و درصد برنج سالم ارزش‌های بیشتری از والد سپیدرود داشت که مزیت نسبی این والد را از نظر این صفات نشان می‌دهد. عملکرد دانه در والد سپیدرود در شرایط نرمال و تنش خشکی به ترتیب $172/6 \pm 5440$ و $146/75 \pm 2075$ گرم برآورد گردید که به ترتیب ۱۴۸۲ کیلوگرم و ۷۹۶ کیلوگرم از والد غریب با میانگین $127/6 \pm 3958$ و $97/5 \pm 1279$ بیشتر بود. همچنین والد غریب برای صفت روز تا گل‌دهی یک کاهش ۸ و ۱۱ روزه را نسبت به والد سپیدرود به ترتیب در شرایط نرمال و تنش نشان داد. بنابراین، از آنجایی که صفت زودرسی مد نظر به‌نژادگران می‌باشد، والد غریب و نتایج که به سمت این والد سوق دارند یا از آن کمتر هستند دارای ارزش اصلاحی خواهند بود. برای صفات ارتفاع بوته، طول خوشه، درصد کل تبدیل، درصد برنج سالم، درصد برنج خرده اختلاف معنی‌داری بین والدین مشاهده شد، به طوری که والد غریب برای صفات طول خوشه، درصد کل تبدیل، درصد برنج سالم و درصد برنج خرده برتری ۴، ۰/۸، ۲/۲ و ۱/۵ عددی را در شرایط نرمال و برتری ۲، ۰/۱۶، ۲۸ و ۳۰ عددی را در شرایط تنش خشکی نسبت به والد سپیدرود نشان داد. در حالی که در والد سپیدرود

جمعیت‌های مورد استفاده برای مکان‌یابی QTLها و تجزیه ارتباطی نشان داده است (۲۱،۱۲،۸،۷،۶).
با توجه به اهمیت بیشتر تنش خشکی در تفکیک ژنوتیپ‌ها، فقط نتایج تجزیه خوشه‌ای مربوط به تنش خشکی ارائه شد. بر این اساس، ژنوتیپ‌های مورد بررسی در دو گروه اصلی دسته‌بندی شدند (شکل ۲).

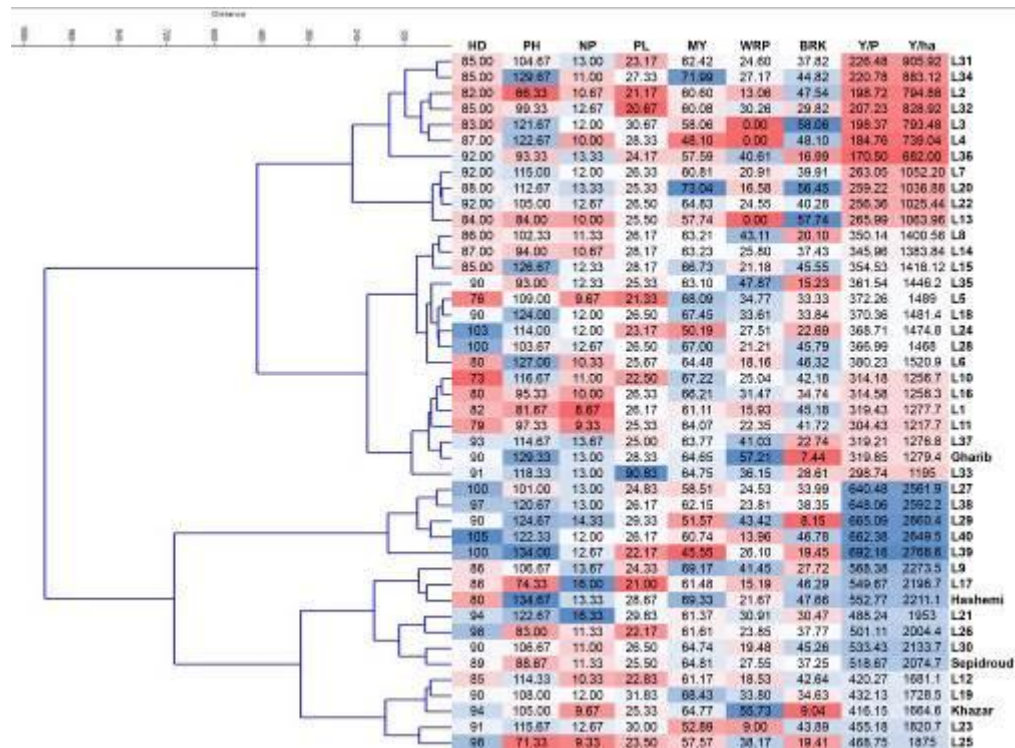
صفت و کمتر از والد دارای حداقل مقدار صفت بود. چنین وضعی برای اکثر صفات مشاهده گردید که می‌تواند دلیلی بر وجود پدیده تفکیک متجاوز در نسل F₇ باشد. همچنین از طرف دیگر عوامل محیطی نیز می‌تواند چنین حالتی را ایجاد نماید. مطالعات زیادی پدیده تفکیک متجاوز را در

جدول ۴الف- ارزش‌های فنوتیپی صفات مورد مطالعه در والدین و لاین‌های F₇ برنج تحت شرایط نرمالTable 4a. Phenotypic values of the studied traits in parents and F₇ lines of rice under normal conditions

صفت	والدین		شاهد		لاین‌های F ₇	
	سپیدرود ($m \pm s\bar{x}$)	غریب ($m \pm s\bar{x}$)	مقدار t (P ₁ -P ₂)	خزر ($m \pm s\bar{x}$)	هاشمی ($m \pm s\bar{x}$)	دامنه تغییرات ($m \pm s\bar{x}$)
تاریخ گل‌دهی	۱۰۲ ± ۳/۴۱	۹۴ ± ۱/۶۳	۱۶/۷۱**	۱۰۲ ± ۱/۵۶	۹۰ ± ۱/۰۷	۹۴/۸۰ ± ۱/۱۵
ارتفاع بوته	۱۰۸/۰۰ ± ۴/۱۷	۱۴۳/۰۰ ± ۲/۸۵	۳۳/۴۵**	۱۲۵ ± ۳/۴۶	۱۴۸ ± ۲/۵۳	۱۱۰/۸۹ ± ۳/۱۳
طول خوشه	۲۸ ± ۱/۱۴	۳۲ ± ۰/۴۶	۱۷/۲۶**	۲۶ ± ۰/۲۷	۲۹ ± ۰/۴۴	۲۵/۳۵ ± ۰/۳۷
درصد کل تبدیل	۶۸/۵۸ ± ۱/۷۸	۶۹/۳۶ ± ۱/۲۶	۱/۸۵**	۶۷/۲۶ ± ۰/۹۶	۷۲/۳۵ ± ۰/۶۷	۷۳/۳۲ ± ۰/۸۵
درصد برنج سالم	۵۴/۱۲ ± ۳/۶۷	۵۶/۳۲ ± ۲/۶۳	۱۲/۱۰**	۵۷/۶۳ ± ۱/۸۸	۵۳/۲۷ ± ۱/۸۸	۳۴/۷۷ ± ۲/۵۱
درصد برنج خرده عملکرد	۱۴/۴۶ ± ۳/۶۹	۱۳/۰۴ ± ۲/۷۵	۱۵/۵۳**	۹/۶۳ ± ۱/۹۷	۱۹/۰۸ ± ۱/۹۶	۲۲/۱۹ ± ۲/۰۶
هکتار	۵۴۴۰ ± ۱۷۲/۶	۳۹۵۸ ± ۱۲۷/۶	۱۲۵/۵۲**	۳۹۶۸ ± ۱۰۱/۷۷	۴۳۲۰ ± ۱۰۹/۷۴	۵۳۰۷ ± ۱۰۶/۴۷

جدول ۴ب- ارزش‌های فنوتیپی صفات مورد مطالعه در والدین، افراد شاهد و لاین‌های F₇ برنج تحت شرایط تنش خشکیTable 4b. Phenotypic values of the studied traits in parents and F₇ lines of rice under drought stress conditions

صفت	والدین		شاهد		لاین‌های F ₇	
	سپیدرود ($m \pm s\bar{x}$)	غریب ($m \pm s\bar{x}$)	مقدار t (P ₁ -P ₂)	خزر ($m \pm s\bar{x}$)	هاشمی ($m \pm s\bar{x}$)	دامنه تغییرات ($m \pm s\bar{x}$)
تاریخ گل‌دهی	۸۹ ± ۲/۶۵	۷۸ ± ۱/۳۵	۱۳/۴۱**	۹۴ ± ۱/۷۳	۸۰ ± ۱/۲۳	۷۳-۱۰۵
ارتفاع بوته	۸۹ ± ۳/۴۲	۱۲۹ ± ۳/۱۳	۳۷/۶۶**	۱۰۵ ± ۳/۴۶	۱۳۵ ± ۲/۸۸	۶۶-۱۴۰
طول خوشه	۲۶ ± ۱/۳۳	۲۸ ± ۱/۷۸	۱۱/۲۴**	۲۵ ± ۰/۲۷	۲۹ ± ۰/۶۸	۲۱-۳۲
درصد کل تبدیل	۶۴/۸۱ ± ۱/۱۲	۶۴/۶۵ ± ۰/۹۶	۱/۸۵ ^{ns}	۶۴/۷۷ ± ۰/۹۶	۶۹/۳ ± ۰/۷۲	۴۶-۷۳
درصد برنج سالم	۳۷/۵۵ ± ۲/۵۷	۵۵/۲۱ ± ۲/۲۳	۴۲/۳۵**	۵۵/۷۳ ± ۱/۸۸	۲۱/۷ ± ۱/۹۶	۹-۴۸
درصد برنج خرده عملکرد	۳۷/۲۵ ± ۱/۶۶	۷/۴۴ ± ۱/۶۷	۳۷/۵۲**	۹/۰۴ ± ۱/۹۷	۴۷/۷ ± ۲/۴۴	۸-۵۸
هکتار	۲۰۷۴/۷ ± ۱۴۶/۷۵	۱۳۷۹ ± ۹۷/۵	۱۴۶/۷۷**	۱۶۶۴/۶ ± ۱۰۱/۷۷	۲۲۱۱ ± ۱۰۱/۶۶	-۲۷۶۸ ۶۸۲



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مورفولوژیک به روش Ward در شرایط تنش خشکی.

HD: تاریخ گلدهی، PH: ارتفاع بوته، NP: تعداد پنجه، PL: طول خوشه، MY: درصد کل تبدیل، WRP: درصد برنج سالم، BRK: درصد برنج خرد شده، Y/P: عملکرد در واحد پلات و Y/ha: عملکرد در واحد هکتار

Figure 2. Grouping of genotypes based on morphological traits using Ward method under drought stress condition. HD: Heading Date, PH: Plant Height, NP: Number of Panicles, PL: Plant Height, MY: Milling Yield, WRP: White Rice Percentage, BRK: Breaking Percentage, Y/P: Grain Yield / Plot, Y/ha: Grain Yield / Hectare.

به صفات مورد مطالعه این لاین‌ها می‌توان دریافت که افراد موجود در این زیرگروه بعد از زیرگروه اول دارای بیشترین مقادیر برای عملکرد در واحد هکتار، ارتفاع بوته و درصد برنج سالم بودند.

از میان این ۲۴ نشانگر، برای ۴ نشانگر RM573، RM168، RM250 و RM269 در والدین چندشکلی مشاهده نشد و از آنالیز مولکولی حذف شدند. در حالیکه در سایر نشانگرها جهت بررسی تجزیه ارتباطی و تجزیه خوشه‌ای استفاده شد.

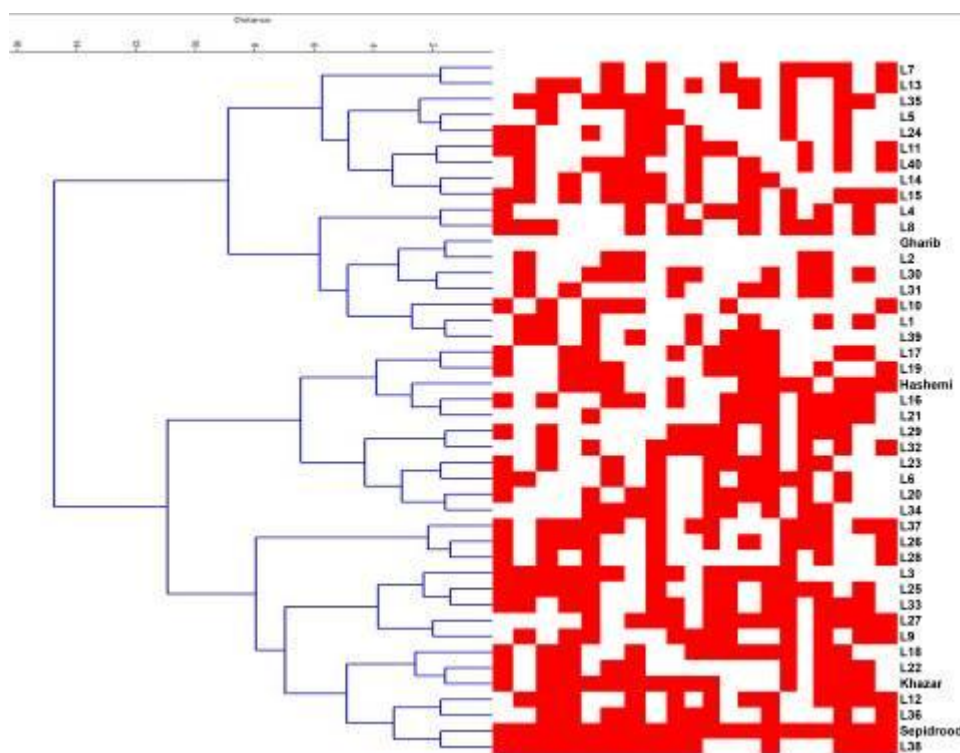
نتایج مقایسه گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای و معیارهای متفاوت تشابه بر اساس ضریب همبستگی کوفنتیک، شکل دندروگرام و نوع گروه‌بندی نشان داد که گروه‌بندی بر اساس ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA، بهترین روش گروه‌بندی را ارائه داد (میزان ضریب کوفنتیک در این روش ۰/۸۹ بود که بیان‌گر کارایی بالای این روش در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها است).

میزان تشابه بین لاین‌های مورد مطالعه بر اساس ضریب تشابه جاکارد بین ۰/۱ تا ۱ متغیر بود. برش دندروگرام لاین‌ها را در دو گروه مجزا قرار داد (شکل ۳). گروه اول دارای دو زیرگروه بود. زیرگروه اول شامل لاین‌های L7، L13، L35، L5، L24، L11، L40، L14 و L15 بود. اعضای این گروه دارای حداقل مقدار برای عملکرد بودند، از نظر ارتفاع بوته نیز دارای مقدار متوسط بودند. زیرگروه دوم نیز شامل لاین‌های

گروه اول دارای دو زیرگروه بود. اولین زیرگروه شامل لاین‌های L31، L34، L2، L32، L3، L4، L36، L7، L20، L13 و L22 بود. این زیرگروه با وجود اینکه نسبت به سایر لاین‌ها زودرس‌تر بودند، اما دارای مقادیر کمتری برای صفات عملکرد در واحد هکتار بودند. همچنین این لاین‌ها دارای کمترین مقدار برای صفات طول خوشه نسبت به سایر لاین‌ها بودند. از جهتی دارای بیشترین مقدار برای صفت درصد برنج خرد شده تحت شرایط تنش خشکی بودند. بنابراین این زیرگروه را می‌توان به عنوان ضعیف‌ترین لاین‌ها تحت شرایط تنش خشکی در نظر گرفت. زیرگروه دوم شامل لاین‌های L8، L14، L15، L35، L5، L18، L24، L6، L10، L16، L1، L11، L37، L33 و L3 بود. با توجه به صفات مورد مطالعه در این لاین‌ها می‌توان دریافت که این زیرگروه نسبت به سایر لاین‌ها مقادیر حد واسط صفات را دارا بود. همچنین اعضای این گروه نسبت به سایرین دیررس بودند. گروه دوم نیز دارای دو زیرگروه بود. زیرگروه اول شامل لاین‌های L27، L38، L29، L40 و L39 بودند. این زیرگروه با وجود دیررس‌تر بودن نسبت به لاین‌های گروه اول، دارای بیشترین مقادیر برای صفات عملکرد در واحد هکتار، ارتفاع بوته و درصد برنج سالم بودند. زیرگروه دوم نیز شامل لاین‌های L9، L17، L21، L26، L30، L12، L19، L23، L25، L2 و والد سپیدرود، شاهد خزر و هاشمی بود. با توجه

کنار هم قرار گرفتند. اعضای این گروه اکثراً دیررس بودند، همچنین اکثر آن‌ها پاکوتاه بودند. نکته جالب توجه در این مطالعه، شباهت گروه‌بندی مولکولی با گروه‌بندی مورفولوژیک بود. در این مطالعه، در هر دو تجزیه خوشه‌ای مولکولی و مورفولوژیک، لاین‌های L13، L35، L5، L24، L11، L40، L14، L15، L4، L8، L15، L14، L8، L1 و L31 در کنار هم و در کنار والد خود (غریب) قرار گرفتند. در گروه دوم نیز لاین‌های L17، L29، L23، L25، L27، L9، L12، L38 و ارقام خزر، هاشمی و سپیدرود در هر دو روش تجزیه خوشه‌ای کنار هم قرار گرفتند.

L4، L8، L2، L30، L31، L10، L1، L39 و رقم والدی غریب بود. اعضای این گروه دارای متوسط مقدار برای اکثر صفات مورفولوژیک مورد مطالعه بودند. گروه دوم نیز دو زیرگروه داشت. لاین‌های L17، L19، L16، L21، L29، L32، L23، L6، L20، L34 و رقم شاهد هاشمی در زیرگروه اول قرار گرفتند. اعضای این گروه از نظر طول خوشه وضعیت مطلوبی داشتند، اما از نظر صفت عملکرد دانه وضعیت متوسطی دارا بودند. در زیرگروه دوم نیز لاین‌های L37، L26، L28، L3، L25، L33، L27، L9، L18، L22، L1، L36، L38، رقم والدی سپیدرود و رقم شاهد هاشمی



شکل ۳- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس نشانگرهای ریزماهواره (SSR) به روش UPGMA.
Figure 3. Grouping of genotypes based on microsatellite (SSR) markers using UPGMA method.

RM423، RM12146، RM520، RM12023 و RM233A) از ۲۰ نشانگر مرتبط با QTL بزرگ اثر *DTY* مورد مطالعه با صفات مورفولوژیک و مرتبط با عملکرد اندازه‌گیری شده برنج در ارتباط بودند. ضریب تبیین بالا برای مدل‌های رگرسیونی صفات مورد مطالعه، نقش جایگاه ژنومی *DTY* را در کنترل صفات مورفولوژیک و مرتبط با عملکرد نشان می‌دهد. با توجه به این تجزیه و تحلیل، جایگاه کروموزومی *DTY* می‌تواند به‌عنوان یک جایگاه ژنی مؤثر در کنترل تحمل به خشکی در لاین‌های مورد مطالعه در نظر گرفته شود. نتایج تجزیه ارتباطی نشان داد که ۵ نشانگر RM11943، RM431، RM12091، RM416، RM236 با عملکرد دانه در واحد هکتار (تنش خشکی) ارتباط رگرسیونی معنی‌داری داشتند. این نتایج با نتایج ویکرام و همکاران (۳۷)،

صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس نشانگرهای SSR، توسط تجزیه تابع تشخیص مورد آزمون قرار گرفت. با سنجش صحت دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر، مشخص شد که گروه‌بندی با ۱۰۰ درصد دقت انجام شده است.

نتایج تجزیه و تحلیل رگرسیونی بین بیست نشانگر SSR چند شکل مرتبط با QTL بزرگ اثر *DTY* و صفات مورفولوژیک و مرتبط با عملکرد اندازه‌گیری شده تحت شرایط تنش خشکی به منظور شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش^۱ در جدول ۵ ارائه شده است. مشخص شد که تعداد ۱۳ نشانگر ریزماهواره (RM11943، RM431، RM12091، RM211، RM555، RM16030، RM236، RM416

1- Informative markers

مطالعه، نشانگرهای RM11943، RM431، RM12091 و RM236 با داشتن ارتباط معنی‌دار با تعداد دو صفت از هفت صفت مورد مطالعه بیشترین ارتباط رگرسیونی معنی‌دار را با صفات عملکرد و اجزای آن تحت شرایط تنش خشکی نشان دادند و بنابراین به عنوان مهمترین نشانگر جهت استفاده در برنامه‌های به نژادی تحمل به خشکی می‌تواند مورد توجه قرار گیرند.

ویکرام و همکاران (۳۶)، ونوپراساد و همکاران (۳۴)، ونوپراساد و همکاران (۳۵)، سوه و همکاران (۳۰) بر روی گیاه برنج مطابقت داشت. همچنین نتایج صبوری و همکاران (۲۸) بر روی گیاه برنج در شرایط تنش خشکی ارتباط معنی‌داری را بین نشانگر RM12091 با عملکرد دانه در واحد هکتار نشان داد. ارتباط نشانگرهای RM11943 و RM431 نیز با تنش خشکی گزارش شده است (۲۷). در بین نشانگرهای مورد

جدول ۵- تجزیه ارتباطی نشانگرهای ریزماهواره و صفات مورفولوژیک مرتبط با تحمل به خشکی در برنج

Table 5. Association analysis of microsatellite markers and morphological traits related to drought tolerance in rice

صفت	نشانگرهای آگاهی بخش	سطح معنی‌داری	R ²
تاریخ گل‌دهی	RM11943	-/۰۰۰۴	۰/۵۴
	RM416	-/۰۰۰۱	
	RM431	۰/۰۴	
ارتفاع بوته	RM16030	-/۰۰۵۲	۰/۴۹
	RM1287	-/۰۰۲۴	
	RM555	-/۰۰۶۳	
طول خوشه	RM12091	-/۰۱۰۳	۰/۳۵
	RM236	-/۰۰۰۵	
عملکرد در هکتار	RM11943	-/۰۰۰۱	۰/۷۲۱
	RM431	-/۰۰۴۹	
	RM12091	-/۰۰۰۳	
	RM416	-/۰۰۰۴	
	RM236	-/۰۰۳۹	
درصد کل تبدیل	RM211	-/۰۰۰۴	۰/۳۳
	RM233A	-/۰۰۶۳	
درصد برنج سالم	RM12146	-/۰۰۳۴	۰/۳۹
	RM12023	-/۰۰۰۱	
	RM423	-/۰۰۰۴	
درصد برنج خرده	RM520	-/۰۰۱۵	۰/۲۸

نتیجه‌گیری

تحت شرایط تنش خشکی داشتند. نتایج تجزیه رگرسیونی نیز نشان داد که ۱۳ عدد از ۲۰ نشانگر ریزماهواره مورد مطالعه شامل RM11943، RM431، RM12091، RM416، RM236، RM16030، RM555، RM211، RM423، RM12146، RM520، RM12023 و RM233A با بیش از یک صفت مورفولوژیک مرتبط با تحمل به خشکی در ارتباط بودند. از بین آن‌ها نشانگرهای RM11943، RM431 با صفات تاریخ گل‌دهی و عملکرد در هکتار و نشانگرهای RM12091 و RM236 با صفات طول خوشه و عملکرد در هکتار ارتباط معنی‌داری داشتند و بنابراین می‌توان از این نشانگرها در برنامه‌های مختلف اصلاح برنج به‌منظور غربال و انتخاب ارقام و لاین‌های متحمل به تنش خشکی در مناطق تحت این تنش محیطی استفاده کرد و همچنین می‌توان از تلاقی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در برنامه‌های دورگ‌گیری ژنوتیپ‌های برنج پرمحصول را به‌دست آورد.

بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی فنوتیپی ارقام و لاین‌های مورد مطالعه مشخص شد که تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، علاوه بر کاهش رشد تحت شرایط تنش خشکی، دارای تنوع بوده و در برابر تنش خشکی واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. بنابراین، با توجه به وجود این طیف گسترده پاسخ به تنش خشکی و بروز صفات، می‌توان از لاین‌های متحمل به خشکی شناسایی شده در این تحقیق به منظور اصلاح و تولید ارقام جدید استفاده کرد. نتایج تجزیه واریانس، وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها را برای همه صفات نشان داد که بیانگر تنوع ژنتیکی میان ژنوتیپ‌ها و پاسخ متفاوت آن‌ها به خشکی بود. بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای صفات مورفولوژیک تحت تنش خشکی، به‌نظر می‌رسد لاین‌های L27، L38، L29، L40 و L39 به عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها به شرایط خشکی باشند. بعد از آن‌ها لاین‌های L9، L17، L21، L26، L30، L12، L19، L23، L25، والد سپیدرود، شاهد خزر و هاشمی بیشترین عملکرد را

منابع

1. Abarshahr, M., B. Rabiei and H.S. Lahigi. 2011a. Assessing genetic diversity of rice varieties under drought stress conditions. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(1): 114-123.
2. Abarshahr, M., B. Rabiei and H.S. Lahigi. 2011b. Genetic variability, correlation and path analysis in rice under optimum and stress irrigation regimes. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(4): 134-142.
3. Afshari, R., A. Sabouri, M. Esfahani and A. Kafi Ghasemi. 2018. Investigation of Morphological, Yield and Yield Components of Aerobic and Lowland Rice Genotypes (*Oryza sativa* L.) Under Normal and Drought Stress Conditions. *Journal of Crop Breeding* 10(25): 118-128.
4. Anjum, S.A., X.Y. Xie, L.C. Wang, M.F. Saleem, C. Man and W. Lei. 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9): 2026-2032.
5. Basiri, A. 2008. Experimental designs in agriculture. Shiraz University Press.
6. Brondani, C., P. Rangel, R. Brondani and M. Ferreira. 2002. QTL mapping and introgression of yield-related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 104: 1192-1203.
7. Cao, G., J. Zhu, C. He, Y. Gao, J. Yan and P. Wu. 2001a. Impact of epistasis and QTL× environment interaction on the developmental behavior of plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 153-160.
8. Cao, G., J. Zhu, C.X. He, Y.M. Gao and P. Wu. 2001b. QTL analysis for epistatic effects and QTL environment interaction effects on final height of rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genetica Sinica*, 28: 135-143.
9. Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer and E.C.K. Pang. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. *Euphytica*, 142(1-2): 169-196.
10. Durand, M., B. Porcheron, N. Hennion, L. Maurousset, R. Lemoine and N. Pourtau. 2016. Water deficit Enhances export to the roots in arabidopsis thaliana plants with contribution of sucrose transporters in both shoot and roots, *Plant Physiology*, 170(1): 1460-1479.
11. Ghiasy Oskoei, M., H. Farahbakhsh, H. Sabouri and G. Mohammadinejad. 2012. Effect of drought stress on yield and yield components in rice landraces and improved cultivars under Gonbad Kavous environmental condition. *Cereal Research*, 2(3): 165-179 (in Persian).
12. Hagiwara, W., K. Onishi, I. Takamura and Y. Sano. 2006. Transgressive segregation due to linked QTLs for grain characteristics of rice. *Euphytica*, 150: 27-35.
13. IRRI, 2002. Standard Evaluation System for Rice. International Rice Research Institute. November, 2002. 56p.
14. Jacquot, J.P. 2009. Oxidative stress and redox regulation in plants (Vol. 52). Academic Press.
15. Jaleel, C.A., A. Manivannan P.A.R.A.M.A.S.I.V.A.M. Wahid, M. Farooq, H.J. Al-Juburi and R. Somasundaram R.A.M.A.M.U.R.T.H.Y, Panneerselvam. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(1): 100-105.
16. Karim, M.R., H. Sabouri and M. Ebrahimi. 2019. The relationship of ISSR markers to agronomic traits in rice under flooding and drought conditions. *Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology)*, 32(1): 87-97.
17. Kumar, R., R. Venuprasad and G.N. Atlin. 2007. Genetic analysis of rainfed lowland rice drought tolerance under naturally-occurring stress in eastern India: heritability and QTL effects. *Field Crops Research*, 103(1): 42-52.
18. Kusaka, M., A.G. Lalusin and T. Fujimura. 2005a. The maintenance of growth and turgor in pearl millet (*Pennisetum glaucum* [L.] Leeke) cultivars with different root structures and osmo-regulation under drought stress. *Plant Science*, 164: 1-4
19. Mao, D., T. Liu, C. Xu, X. Li and Y. Xing. 2011. Epistasis and complementary gene action adequately account for the genetic bases of transgressive segregation of kilo-grain weight in rice. *Euphytica*, 180: 261-271.
20. Miri, S., H. Sabouri, A. Ebadi and S. Sajjadi. 2020. Relationship of microsatellite molecular markers with morphological traits in rice under flooding conditions and drought stress. *Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology)*, 33(2): 287-298.
21. Mohd-Zain, N.A. and M. Razi-Ismail. 2016. Effects of potassium rates and types on growth, leaf gas exchange and biochemical changes in rice (*Oryza sativa* L.) planted under cyclic water stress, *Agricultural Water Management*, 164(1): 83-90.
22. Murray, M.G. and W.F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*, 8: 4321-4326
23. Ouk, M., J. Basnayake, M. Tsubo, S. Fukai, K.S. Fischer, M. Cooper and H. Nesbitt. 2006. Use of drought response index for identification of drought tolerant genotypes in rainfed lowland rice. *Field Crops Research*, 99(1): 48-58.

24. Pandey, A., A. Kumar, D.S. Pandey and P.D. Thongbam. 2014. Rice quality under water stress, Indian Journal of Advances in Plant Research, 1(2): 23-26.
25. Rabiei, B. and A. Tarang. 2012. Identification of QTLs Controlling Important Agronomic Traits and Cooking and Milling Quality of Rice Using Molecular Markers. Rice Research Institute of Iran, Rasht, Iran, 137 pp.
26. Rahimi, M., B. Rabiei, H. Dehghani and A. Tarang. 2012. Mapping main and epistatic QTLs for drought tolerance indices in F5 population of rice. Journal of Genetics, 8(4): 438-448 (In Persian).
27. Raiesi, T. and A. Sabouri. 2016. Investigation and comparison of aerobic and Iranian rice based on markers linked to traits related to drought and salinity tolerance and their relationship with germination traits under osmotic stress. Journal of Biotechnology, 10(4): 57-72 (In Persian).
28. Sabouri, A., A.R. Dadras, H. Khoshchehreh, A. Vatanparast and H. Aflatouni. 2017. Investigation of rice recombinant inbred lines based on drought tolerance using tolerance indices and SSR markers, 49(4): 13-24 (In Persian).
29. Safaei Chaeikar, S., B. Rabiei, H. Samizadeh and M. Esfahani. 2008. Evaluation of tolerance to terminal drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Iranian Journal of Crop Sciences, 9(4): 315-331 (In Persian).
30. Suh, J.P., Y.J. Won, E.K. Ahn, J.H. Lee, W.G. Ha, M.K. Kim and B.K. Kim. 2014. Field performance and SSR analysis of drought QTL introgression lines of rice. Plant Breeding and Biotechnology, 2(2): 158-166.
31. Tuong, T.P. and B.A.M. Bouman. 2003. Rice production in water-scarce environments. Water productivity in agriculture: Limits and opportunities for improvement, 1: 13-42.
32. Tarang, A., M. Hosseini Chaleshtori, M. Allagholipour, M. Kordrostami, H. Rahimsouroosh, A. Ebadi and B. Rabiei. 2019. Evaluation of morphologic and genetic diversity of rice lines derived from Gharib / Sepidroud using SSR markers associated with drought tolerance characteristics. Rice Research Institute of Iran, Rasht, Iran, 72 pp.
33. Tarang, A., M. Kordrostami, A. Shahdi Kumleh, M. Hosseini Chaleshtori, A. Forghani Saravani, M. Ghanbarzadeh and M. Sattari. 2020. Study of genetic diversity in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Central and Western Asia using microsatellite marker tightly linked to important quality and yield related traits. Genetic Resources and Crop Evolution, 20(2): 924-942.
34. Venuprasad, R., C.O. Dalid, M. Del Valle, D. Zhao, M. Espiritu, M.S. Cruz and G.N. Atlin. 2009. Identification and characterization of large-effect quantitative trait loci for grain yield under lowland drought stress in rice using bulk-segregant analysis. Theoretical and Applied Genetics, 120(1): 177-190.
35. Venuprasad, R., M.E. Bool, L. Quiatchon, M.S. Cruz, M. Amante and G.N. Atlin. 2012. A large-effect QTL for rice grain yield under upland drought stress on chromosome 1. Molecular Breeding, 30(1): 535-547.
36. Vikram, P., B.M. Swamy, S. Dixit, R. Singh, B.P. Singh, B. Miro and A. Kumar. 2015. Drought susceptibility of modern rice varieties: an effect of linkage of drought tolerance with undesirable traits. Scientific Reports, 5: 14799.
37. Vikram, P., B.M. Swamy, S. Dixit, J. Trinidad, M.T.S. Cruz, P.C. Maturan and A. Kumar. 2016. Linkages and interactions analysis of major effect drought grain yield QTLs in rice. PloS One, 11(3): e0151532.
38. Xu, Y. 2010. Molecular Plant Breeding. CABI Publishing.

Drought Tolerance in a Recombinant Rice Population and the Association between Yield and Its Components with Microsatellite Markers

Shamim Khaleghjoo¹ and Alireza Tarang²

1- M.Sc. Student, Department of Science, Islamic Azad University of Tonekabon, Tonekabon, Iran

2- Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran (Corresponding author: a_tarang@hotmail.com)

Received: June 29, 2020

Accepted: August 28, 2021

Abstract

In order to identify susceptible and tolerant rice lines to drought stress in a recombinant rice population, a total of 40 F₇ lines were obtained from a cross between a local cultivar, Gharib, and an improved cultivar, Sepidrood, were evaluated in two environments, control, and drought stress, in the year of 2017 at the Rice Research Institute of Iran. The results of the phenotypic evaluation of the studied lines showed that all genotypes, while having general hypersensitivity and decreasing growth under drought stress conditions, showed different responses to drought stress. The results of cluster analysis of morphological traits showed that L27, L38, L29, L40, and L39 lines were identified as the most tolerant genotypes with the lowest percentage of trait reduction, the highest grain yield, and earlier maturity. After them, the L9, L17, L21, L26, L30, L12, L19, L23, L25 lines, Sepidrood, Khazar and Hashemi showed the highest yield under drought stress conditions. The regression analysis showed that 13 of the 20 studied microsatellite markers including; RM11943, RM431, RM12091, RM416, RM236, RM16030, RM555, RM211, RM423, RM12146, RM520, RM12023, and RM233A, were associated with more than one morphological trait related to grain yield under drought stress. Therefore, these markers can be used in different rice breeding programs to screen and select the drought-tolerant cultivars and lines in areas under this environmental stress.

Keywords: Cluster analysis, Drought, Microsatellite marker, Rice, Recombinant lines