

"Research Paper"

The Response of Genetic, Morphological, and Biochemical Parameters of Rice (*Oryza sativa* L.) F_{2:4} Genotypes to Drought Stress at the Germination Stage

Fatemeh Ahmadi NasrAbad Sofla¹, Reza Amiri Fahlani², Masoud Dehdari³ and Houshang Farajee⁴

1,3 and 4- Master's Student, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agricultural Science, Yasouj University, Yasouj, Iran

2- Assistant Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agricultural Science, Yasouj University, Yasouj, Iran, (Corresponding author: Amiri@yu.ac.ir)

3- Associate Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agricultural Science, Yasouj University, Yasouj, Iran

4- Associate Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, Faculty of Agricultural Science, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received: 9 February, 2023

Accepted: 24 May, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objectives: Rice is one of the oldest and most important cereals in the world and is a desirable model plant for genetic and molecular studies. Drought is one of the important risks for the successful production of crops, especially rice, in the world, which can be created at any time during the growing season. One of the main challenges in agriculture is to produce more food with less water consumption, and therefore, the production of rice genotypes that can have more tolerance to drought stress is one of the main goals of breeding projects.

Material and Methods: In order to evaluate the effect of drought stress (zero (control), -3 and -5 bar using Polyethylene Glycol) on some genetic, morphological, and biochemical characteristics of rice at the germination stage, 38 lines with their parents (Mousa Tarom and 304) were investigated in randomized complete block design with three replications during 2022.

Results: Morphological traits were decreased under -5 bar drought stress compared to the control. The germination rate and percentage were increased by 9.6 and 1.1% under -3 bar stress, and 37.8 and 33% under -5 bar stress, respectively. The rootlet length, rootlet fresh weight, and dry weight increased under - bar stress compared to the control, indicating that the rice plant can tolerate such a stress intensity, and it may even be used as a priming. Catalase, peroxidase and superoxide dismutase enzyme activities increased by 59, 51 and 81%, respectively, by increasing the stress to -5 bar compared to the control. This increase shows the increase of the plant's resistance to the active oxygen and drought tolerance. The highest phenotypic correlation in non-stressed conditions was between seedling weight and length vigor (0.92), under -3 bar stress was detected between shootlet length and fresh weight (0.91), and under -5 bar stress the highest one was between seed germination percentage and rate (0.94). The factor analysis for each of the zero, -3 and -5 bar drought stress levels introduced three factors that explained 73.68, 81.13 and 81.73 percent of the variance, respectively.

Conclusion: The high diversity of traits at the -5 bar drought stress indicates that it is possible to use germination rate and percentage, length and weight indices, and shootlet length and fresh weight as criteria for genotype selection under -5 bar drought stress. Such traits could be used as effective ones in the selection of tolerant rice genotypes at the germination stage and in order to establish the rice plant optimally.

Keywords: Factor Analysis, Genetic diversity, Heritability, PEG, Phenotypic correlation

"مقاله پژوهشی"

پاسخ پارامترهای ژنتیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های F₂:4 برنج (*Oryza sativa* L.) به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی

فاطمه احمدی نصرآبادسغلی^۱، رضا امیری فهلیانی^۲، مسعود دهداری^۳ و هوشنگ فرجی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران، (نویسنده مسوول: amiri@yu.ac.ir)

۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

۴- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۳

صفحه: ۱۰۳ تا ۱۱۲

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: برنج یکی از قدیمی‌ترین و مهم‌ترین غلات در سطح دنیا و گیاه مدل مطلوبی برای مطالعات ژنتیکی و مولکولی می‌باشد. خشکی از خطرات مهم برای تولید موفق محصولات زراعی به‌ویژه برنج در جهان است که می‌تواند در هر زمان طی فصل رشد ایجاد شود. یکی از چالش‌های اصلی در کشاورزی، تولید غذای بیشتر با مصرف آب کمتر است و بنابراین تولید ژنوتیپ‌های برنج که بتوانند تحمل بیشتری در مقابل تنش کم‌آبی داشته باشند، یکی از اهداف مهم پروژه‌های به‌نژادی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور ارزیابی اثر تنش خشکی (صفر (شاهد)، ۳- و ۵- بار با استفاده از پلی اتیلن گلیکول) بر برخی ویژگی‌های ژنتیکی، مورفولوژیکی و بیوشیمیایی برنج در مرحله جوانه‌زنی، ۳۸ لاین به‌همراه والدین تلاقی (موسی طارم و ۳۰۴) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار طی سال ۱۴۰۱ بررسی گردیدند.

یافته‌ها: صفات مورفولوژیک در تنش خشکی ۵- بار نسبت به شاهد کاهش داشتند. سرعت و درصد جوانه‌زنی در تنش ۳- بار نسبت به شاهد به‌ترتیب ۹/۶ و ۱/۱ درصد افزایش و در تنش ۵- بار ۳۷/۸ و ۳۳ درصد کاهش نشان دادند. طول ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه نیز در تنش ۳- بار نسبت به شاهد افزایش یافتند که نشان‌دهنده امکان تحمل این شدت از تنش توسط گیاه برنج بوده و حتی می‌توان از آن به‌عنوان پرایمینگ استفاده نمود. فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با افزایش تنش به ۵- بار نسبت به شاهد به‌ترتیب ۵۹، ۵۱ و ۸۱ درصد افزایش یافتند. این افزایش مقابله گیاه با اکسیژن‌های فعال و تحمل خشکی را نشان می‌دهد. ضریب تنوع فنوتیپی تمام صفات در سطح تنش خشکی ۵- بار نسبت به دو سطح دیگر بالاتر بود. ضریب تنوع ژنوتیپی در صفات شاخص بنیه وزنی و سوپراکسید دیسموتاز در سطح تنش خشکی ۵- بار نسبتاً بالا بود. بیشترین همبستگی فنوتیپی در شرایط بدون تنش بین بنیه وزنی و بنیه طولی (۰/۹۲) گیاهچه، در تنش ۳- بار بین طول و وزن تر ساقه‌چه (۰/۹۱) و در تنش ۵- بار بین درصد و سرعت جوانه‌زنی (۰/۹۴) بذر مشاهده شد. تجزیه عامل‌ها برای هر کدام از شرایط صفر، ۳- و ۵- بار تنش خشکی سه عامل معرفی‌نمود که به‌ترتیب جمعاً ۷۳/۶۸، ۸۱/۱۳ و ۸۱/۷۳ درصد از واریانس را توجیه نمودند.

نتیجه‌گیری: تنوع بالای صفات در سطح تنش خشکی ۵- بار نشان‌دهنده این است که می‌توان از صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه طولی و وزنی، و طول و وزن تر ساقه‌چه به‌عنوان معیاری برای انتخاب ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش خشکی ۵- بار استفاده نمود. چنین صفاتی می‌توانند به‌عنوان صفات مؤثر در گزینش ژنوتیپ‌های متحمل برنج در مرحله جوانه‌زنی و به‌منظور استقرار مطلوب گیاه برنج مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه به عامل‌ها، همبستگی فنوتیپی، تنوع ژنتیکی، وراثت‌پذیری، PEG

مقدمه

است. از مزایای کشت برنج به‌صورت خشکه‌کاری، کاهش نیازهای کارگری، رسیدن زودتر محصول در مقایسه با شیوه نشایی، داشتن فرصت کافی برای داشتن دو یا سه کشت، تولید محصولی معادل کشت نشایی و صرفه‌جویی در مصرف آب را می‌توان نام برد (Arabzadeh & Tavakoli, 2006). لذا بررسی ویژگی‌های برنج در شرایط تنش خشکی برای تغییر شیوه‌ی آبیاری گیاه برنج از حالت غرقاب به‌صورت خشکه‌کاری بسیار مهم است. واکنش برنج به خشکی پیچیده است و به ژنوتیپ گیاه، مدت زمان تنش و مرحله رشد گیاه بستگی دارد (Hossaini et al., 2014). تحمل به خشکی به‌معنی توانایی رشد، گلدهی و داشتن عملکرد اقتصادی گیاه در شرایط تأمین آب کمتر از مقدار بهینه می‌باشد (Chaves & Oliveira, 2004). اثرات مضر تنش خشکی را می‌توان با استفاده از کشت مناسب‌ترین ژنوتیپ گیاهی همراه با تنظیم شیوه‌های زراعی کاهش داد (Farooq et al., 2009). انتخاب بر اساس عملکرد در محیط‌های تنش و بدون تنش سبب یافتن ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا در شرایط تنش می‌شود، چرا که در چنین شرایطی آل‌های مطلوب تحت شرایط هم‌زمان تنش خشکی و بدون

برنج محصولی مهم در جهان است و تغذیه بیش از نیمی از مردم دنیا به آن وابسته است (Khazaie, 2022). در میان تنش‌های غیر زنده، تنش خشکی یکی از مهمترین آن‌هاست که تولید محصولات زراعی را در ایران و در جهان به‌شدت تحت تاثیر قرار داده است (Nikkhah et al., 2022). کشت نشایی برنج، یکی از معمول‌ترین روش‌های کشت و کار برنج در شالیزارهای ایران است بدین معنی که نشاء بعد از آماده شدن در خزانه به زمین اصلی منتقل و سپس رژیم آبیاری غرقابی دائم در آن برقرار می‌شود، این امر سبب از دست رفتن فرصت بهره‌گیری از آب می‌شود. اگرچه روش آبیاری غرقابی برنج ابزار مدیریتی مناسبی برای کنترل آفات، دسترسی آسان به مواد غذایی و جلوگیری از تنش آبی است ولی این روش یک ضرورت برای کشت برنج نبوده و استفاده از این روش نیاز به مصرف مقادیر زیاد آب دارد. در دسترس بودن ارقام برنج زودرس و علف‌کش‌های مناسب، افزایش هزینه کارگری و کاهش سودمندی تولید برنج، کشاورزان بعضی کشورها را ترغیب به تغییر سیستم کشت نشایی به کشت مستقیم کرده

ارتباط بین دو صفت که می‌توان آن را مستقیماً مشاهده کرد، همبستگی فنوتیپی نامیده می‌شود. در برنامه‌های اصلاحی گیاهان، برای انتخاب معمولاً تعداد زیادی صفت زراعی در نظر گرفته می‌شود که ممکن است بین این صفات همبستگی‌های مثبت و یا منفی دیده شود (Falconer & Mackay, 1996). یکی از کاربردهای ضرایب همبستگی در به‌نژادی گیاهان این است که اگر یک صفت مهم در گیاه، وراثت‌پذیری پایین داشته باشد، می‌توان از صفات با وراثت‌پذیری بالاتر و همبسته (مرتبط) با صفت مورد نظر، به‌عنوان معیار غیرمستقیم برای گزینش در جهت بهبود آن صفت استفاده کرد (Astaraki et al., 2020).

تحلیل عاملی مجموعه‌ای از روش‌هایی است که برای بررسی چگونگی تأثیر عامل‌های زیر بنایی در پاسخ به تعدادی متغیر اندازه‌گیری شده استفاده می‌شود. تجزیه و تحلیل عاملی با بررسی الگوی همبستگی (کوواریانس) انجام می‌شود. ویژگی‌هایی که همبستگی بالایی دارند (اعم از مثبت یا منفی) تحت تأثیر عوامل مشابه قرار می‌گیرند و آنهایی که نسبتاً نامرتب هستند تحت تأثیر عوامل مختلف قرار می‌گیرند (Jamie & DeCoster, 1998).

در پژوهشی اثر تنش خشکی بر خصوصیات رشد گیاهچه برنج در مرحله جوانه‌زنی بررسی شد و در شرایط عدم تنش خشکی صفات طول ساقه‌چه و ریشه‌چه با هم، همبستگی منفی داشتند در صورتیکه در شرایط تنش خشکی همبستگی مثبت و معنی‌داری بین این صفات مشاهده شد (Ramazani Jarideh et al., 2019). جریده و همکاران (Shahrestani et al., 2019) پژوهشی به‌منظور ارزیابی پارامترهای ژنتیکی برخی ویژگی‌های گیاه برنج در مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس اجرا کردند. نتایج تجزیه به عامل‌ها نشان داد در شرایط بدون تنش، پنج عامل بخش هوایی گیاهچه، بخش زیرزمینی گیاهچه، شاخص‌های جوانه‌زنی، خصوصیات فیزیولوژیکی و پروتئین کل با ۷۴ درصد مجموع واریانس توجیهی و در شرایط تنش شش عامل موثر بر ویژگی‌های مورفولوژیکی ریشه‌چه، وزن گیاهچه، قندهای محلول، پروتئین و پروتئین کل با ۷۸ درصد مجموع واریانس توجیهی شناسایی شدند.

هدف از اجرای این تحقیق برآورد تنوع ژنتیکی ویژگی‌های مورد مطالعه، بررسی اثر تنش خشکی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در مرحله جوانه‌زنی برنج، تعیین ارتباط میان صفات و شناسایی عوامل پنهانی برای تشخیص روابط داخلی میان صفات بود تا به‌منظور تسهیل و تسریع در گزینش در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های نسل F_{2:4} برنج در مرحله جوانه‌زنی، آزمایشی دو فاکتوره در دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج در سال ۱۴۰۰ طراحی و اجرا شد. تعداد ۳۸ لاین F_{2:4} حاصل از تلاقی بین برنج موسی‌طارم و ۳۰۴ به‌همراه والدین تلاقی در سه سطح

تنش انتخاب شده و پاسخ به انتخاب در شرایط بدون تنش به‌دلیل وراثت‌پذیری بالاتر عملکرد، حداکثر است (Richards, 1996).

اولین و مهم‌ترین اثر تنش خشکی بر گیاه، آسیب به جوانه‌زنی و استقرار ضعیف گیاه است (Farooq et al., 2009). سرعت و درصد جوانه‌زنی از معیارهای تحمل به خشکی محسوب می‌شوند به‌طوری‌که ژنوتیپ‌های با سرعت و درصد جوانه‌زنی بالاتر در شرایط تنش، شانس بالاتری نیز برای سبز شدن دارند. در مطالعاتی که روی جوانه‌زنی گیاهان صورت گرفته، مشخص شده است که ژنوتیپ‌هایی که دارای درصد جوانه‌زنی بیشتری در شرایط تنش خشکی بودند، در مرحله گیاهچه‌ای بنیه و سیستم ریشه‌ای قوی‌تری داشتند (Qalandari et al., 2015).

ریشه‌ها اندام اصلی گیاه برای سازگاری با تنش خشکی هستند. گیاهانی که سیستم ریشه‌ای مناسبی دارند می‌توانند در شرایط تنش خشکی، وضعیت آب خود را بهتر کنترل کنند (Nguyen et al., 1997). داشتن سیستم ریشه‌ای عمیق، دسترسی به آب را برای گیاه تسهیل می‌کند که در برنج به‌عنوان معیاری برای تعیین مقاومت به خشکی در نظر گرفته می‌شود (Kavar et al., 2008). گیاهانی که دارای سیستم ریشه‌ای عمیق‌تر با قابلیت دسترسی به آب بیشتر هستند، به‌دلیل داشتن ریشه‌های قوی در شرایط تنش خشکی، نیازی به بستن روزه‌های خود نداشته و در نتیجه فتوسنتز بیشتر و تاج پوششی خنک‌تر و عملکرد بالاتری دارند (Hosseinalipour et al., 2020).

تنش خشکی منجر به تجمع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در گیاه می‌شود (Parida & Das, 2005). گیاه برای از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال به‌طور ذاتی انواع مختلفی از آنتی‌اکسیدان‌ها را برای کاهش آسیب تنش خشکی تولید می‌کند. از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی که گونه‌های اکسیژن فعال را از بین می‌برد سوپر اکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز است (Demiral & Türkan, 2005). تحمل به خشکی در برنج به‌مقدار زیادی با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی همراه است و سیستم آنتی‌اکسیدانی با تنش خشکی رابطه‌ی خطی دارد (Guo et al., 2006).

تنوع ژنتیکی یکی از مهمترین ارکان برای بیشتر برنامه‌های به‌نژادی و شرط اصلی گزینش می‌باشد و آگاهی از میزان تغییرپذیری ژنتیکی صفات و همچنین روابط بین آنها، اصلاح گیاهان زراعی را راحت‌تر می‌کند (Astaraki et al., 2020). تنوع فنوتیپی یک صفت تعیین می‌کند که آیا آن صفت امکان پاسخگویی به انتخاب طبیعی و مصنوعی را دارد یا خیر. برای این منظور، سهم عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی که منجر به بروز صفات خاص می‌شوند را تعیین کرده تا از آن بتوان در پیش‌بینی پویایی تکاملی صفت در یک جمعیت استفاده کرد (Astaraki et al., 2020; Byers, 2008). وراثت‌پذیری یک معیار پیش‌بینی‌کننده مهم است و نشان دهنده این است که یک جمعیت از نظر یک صفت خاص چه اندازه می‌تواند به گزینش پاسخ دهد (Byers, 2008).

درآمدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس، سانتریفیوژ گردیدند. تمام مایع رویی بعد از سانتریفیوژ جدا و در فریزر با دمای ۴۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. از عصاره آنزیمی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز استفاده گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (1984) و به صورت زیر اندازه‌گیری شد:

۱- سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=7 (۶/۸۱) گرم KH_2PO_4 و ۸/۹۰ گرم $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ را جداگانه در آب دوبار تقطیر حل کرده و حجم هر کدام به یک لیتر رسانیده شد. سپس مخلوطی به نسبت ۱ به ۱/۵، KH_2PO_4 به $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ تهیه و با آب اکسیژنه ۳۰ میلی‌مولار (۳۱/۰) میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰ درصد با بافر فسفات به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) ترکیب شد.

۲- درون کووت به سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH=7 حاوی آب اکسیژنه ۳۰ میلی‌مولار، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شده و به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Lambda EZ 201 (UK)) و در طول موج ۲۴۰ نانومتر، میزان کاهش جذب در مدت ۶۰ ثانیه قرائت گردید. بر اساس رابطه لامبرت-بیر میزان آنزیم بر اساس میلی‌مول بر گرم وزن تر گیاهچه بر دقیقه به دست آمد (ضریب خاموشی کاتالاز ۰/۰۳۹۴ در نظر گرفته شد و حتماً باید از کووت کوارتز استفاده شود).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش کار و میشر (Aebi, 1984) انجام شد: به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۶۰ میلی‌مولار و ۰/۵ pH=6/1، میلی‌لیتر $Guaiacol$ ۲۸ میلی‌مولار و ۰/۵ میلی‌لیتر H_2O_2 (هیدروژن پراکسید) ۵ میلی‌مولار اضافه گردیده و فعالیت آنزیمی به صورت افزایش جذب در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Lambda EZ 201 (UK)) در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دقیقه به ازای هر میکروگرم پروتئین در عصاره آنزیمی محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش Beauchamp and Fridovich (1971) ارزیابی گردید: مخلوط واکنش شامل سه میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با pH=7/5، نیتروبولوترازولیوم ۷۵ میکرومولار، $NaEDTA$ ۰/۱ میلی‌مولار، متیونین ۱۳ میلی‌مولار و ربیوفلاوین چهار میکرومولار (آخرین ماده افزودنی) (به نام کنترل ۱ و در ظرف تیره نگهداری می‌شود) تهیه و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه گردید (حجم نهایی سه میلی‌لیتر). سنجش فعالیت این آنزیم علاوه بر کنترل ۱ (برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفوتومتر (AE-UV 1606, A8Elab (UK))، شامل مخلوط مواد بالا بدون قرار دادن در زیر نور، نیاز به نمونه

تنش خشکی (صفر (شاهد)، ۳- و ۵- بار) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار کشت شدند. هر تکرار شامل ۵۰ عدد بذر سالم از هر کدام از ژنوتیپ‌ها (جمعاً ۴۰ ژنوتیپ) بود. بذرهای پس از ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد حجمی به مدت پنج دقیقه و شستشو با آب استریل، در ظروف پتری‌دیش استریل و روی کاغذ صافی قرار داده شدند و در طول اجرای آزمایش پتری‌دیش‌ها درون ژرمیناتور با دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس قرار داده شدند. تعداد بذرهای جوانه زده برای هر ژنوتیپ در طول ۱۴ روز شمارش شدند (Jarideh et al., 2021). سپس درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه (سانتی‌متر)، وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه (گرم) (۱۰ عدد بذر به ترتیب به صورت تر و یا پس از خشک شدن در دمای ۷۵ درجه سلسیوس پس از ۴۸ ساعت)، اندازه‌گیری شدند. میزان تنش خشکی (پتانسیل اسمزی (Ψ)) بر حسب بار) با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ به کمک رابطه ۱ محاسبه گردید (Michel & Kaufmann, 1973):

رابطه ۱)

$$\Psi = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})C^2T$$

که در آن، C غلظت بر حسب گرم در لیتر آب و T دما بر حسب درجه سلسیوس می‌باشد.

درصد و سرعت جوانه‌زنی بترتیب با استفاده از رابطه‌های ۲ و ۳ محاسبه گردید:

رابطه ۲) درصد جوانه‌زنی (Ikić et al., 2012)

$$GP = \frac{\text{تعداد بذرهای جوانه زده}}{\text{تعداد کل بذر}} \times 100$$

رابطه ۳) سرعت جوانه زنی (Verma et al., 2005):

$$GR = \sum \frac{n_i}{t_i}$$

که در آن، n_i تعداد بذر جوانه زده در روز t_i و t_i تعداد روزها بعد از ۱ تا ۱۴ روز پس از شروع آزمایش می‌باشد.

شاخص بنیه طولی با استفاده از رابطه ۴ و شاخص بنیه وزنی با استفاده از رابطه ۵ محاسبه گردیدند:

$$\text{رابطه ۴) شاخص بنیه طولی: } SLVI = \frac{(SL+RL) \times GP}{100}$$

$$\text{رابطه ۵) شاخص بنیه وزنی: } SWVI = \frac{(SW+RW) \times GP}{100}$$

که در آنها SLVI شاخص بنیه طولی (سانتی‌متر)، SL طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)، RL طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)، GP سرعت جوانه‌زنی، SWVI شاخص بنیه وزنی (گرم)، SW وزن ساقه‌چه (گرم) و RW وزن ریشه‌چه (گرم) می‌باشد (Abdul-Baki & Anderson, 1973).

اندازه‌گیری ویژگی‌های بیوشیمیایی

برای تهیه عصاره آنزیمی به روش کار و میشر (Kar & Mishra, 1976) مقدار ۰/۲ گرم از بافت گیاهی تر (ریشه‌چه و ساقه‌چه) نگهداری شده در فریزر با دمای ۴۰- درجه سلسیوس با دو میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با اسیدیتته ۶/۸ در دستگاه آسیاب بلوطی (میکسر میل) (ظرف‌های حاوی بافت قبل از شروع کار در داخل یخ کاملاً سرد شدند) به مدت دو دقیقه به صورت مخلوط یکنواختی

است که می‌تواند باعث افزایش سرعت و درصد جوانه‌زنی بذر شود (Soltani et al., 2008). در این پژوهش سرعت و درصد جوانه‌زنی در سطح خشکی ۳- بار نسبت به شاهد افزایش پیدا کرده است. در صورت رسیدن به قطعیت موضوع با بررسی‌های مجدد، شاید بتوان تنش خشکی ۳- بار را به‌عنوان پرایمینگ در کشت برنج استفاده نمود. طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه در شرایط تنش خشکی ۳- بار افزایش پیدا کرد که نشان دهنده مقاومت گیاه در این سطح تنش است. رضانی و رضایی سوخت‌آبدانی (Ramezani & Rezaei SokhtAbandani, 2012) اثر غلظت‌های پنج و ۱۰ درصد پلی‌اتیلن گلیکول را به‌عنوان پرایمینگ بذر برنج بررسی کردند و بیشترین سرعت جوانه‌زنی تحت تیمار پلی‌اتیلن گلیکول با غلظت ۱۰ درصد و حداکثر طول ریشه‌چه تحت تیمار پرایمینگ پلی‌اتیلن گلیکول پنج درصد مشاهده شد. در پژوهشی دیگر مشاهده شد که کاربرد تنش خشکی به‌عنوان پرایمینگ بذر برنج تأثیر مثبت و معنی‌داری بر صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذر برنج دارد (Ganjeali et al., 2020).

میانگین فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز، پراکسیداز و با افزایش سطح تنش خشکی افزایش پیدا کرد به‌گونه‌ای که در سطح تنش خشکی ۵- بار نسبت به شاهد فعالیت آنزیمی کاتالاز ۵۹، پراکسیداز ۵۱ و سوپراکسید دیسموتاز ۸۱ درصد افزایش یافت. این افزایش فعالیت آنزیم‌ها در شرایط تنش خشکی به‌معنای افزایش امکان مقابله گیاه با افزایش گونه‌های اکسیژن فعال و در نتیجه تلاش برای افزایش مقاومت در شرایط تنش خشکی است. میانگین دیگر ویژگی‌های مورد بررسی با افزایش سطح تنش خشکی کاهش پیدا کرد (جدول ۱). رضانی شهرستانی و همکاران (Ramazani Shahrestani et al., 2019) اثرات تنش اسمزی (از نوع تنش خشکی) ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (صفر، ۵- و ۱۵- بار) و سه رقم برنج هاشمی، طارم، خزر و ۱۴ لاین موتانت بر خصوصیات گیاهچه در مرحله جوانه‌زنی برنج را بررسی کردند. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی، میانگین همه‌ی صفات کاهش یافت که نتایج پژوهش حاضر در سطح تنش خشکی ۵- بار با گزارش رضانی شهرستانی و همکاران (Ramazani Shahrestani et al., 2019) مطابقت داشته ولی نتایج حاصل از سطح ۳- بار تنش خشکی مطابقتی با گزارش ذکر شده ندارد.

ضریب تنوع فنوتیپی

بر اساس اطلاعات جدول ۱ ضریب تنوع فنوتیپی در صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و شاخص بنیه طولی و وزنی در سطح ۳- بار نسبت به سطح شاهد کمتر بود و این ضریب در سطح تنش خشکی ۵- بار نسبت به شاهد بیشتر بود. در صفات طول ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز با افزایش سطح تنش خشکی ضریب تنوع فنوتیپی افزایش پیدا کرد. افزایش ضریب تنوع فنوتیپی در این صفات در شرایط تنش خشکی نشان دهنده تنوع بالا در این صفات بوده و گزینش آنها راحت‌تر می‌باشد و لذا می‌توان از این صفات به‌عنوان معیاری برای انتخاب مصنوعی در شرایط تنش خشکی استفاده کرد. وقتی

کنترل ۲ (محلول کنترل ۱ ولی در معرض نور) داشت و میزان فعالیت آنزیم در نمونه‌ها در مقایسه با کنترل سنجیده شد. واکنش در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با روشن شدن لامپ فلورسنت (۴۰ وات) در فاصله ۵۰ سانتی‌متر آغاز شد و پس از ۱۰ دقیقه با خاموش کردن لامپ، واکنش متوقف گردید. هنگامی که لوله کنترل ۲ زیر نور قرار داده شود به دلیل نبودن عصاره آنزیمی در کنترل، احیای نیتروبولوتترازولیوم در حضور نور ۱۰۰ درصد انجام شده و تمام نیتروبولوتترازولیوم به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب در ۵۶۰ نانومتر قرائت گردید و با استفاده از اختلاف جذب نمونه‌ها نسبت به کنترل ۲، واحد آنزیمی نمونه‌ها محاسبه و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) بیان گردید.

آمار توصیفی مشاهدات

آمار توصیفی صفات برای سطوح مختلف تنش خشکی محاسبه شدند و از امید ریاضی میانگین مربعات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از روابط زیر برای ارزیابی پارامترهای ژنتیکی استفاده شد (Jarideh et al., 2021):

$$\bar{x} = \frac{\sum X}{n} \quad \text{رابطه (۶)}$$

$$\sigma_G^2 = \frac{MSg - \sigma_e^2}{r} \quad \text{رابطه (۷)}$$

$$\sigma_P^2 = \sigma_G^2 + \sigma_e^2 \quad \text{رابطه (۸)}$$

$$h_b^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2} \times 100 \quad \text{رابطه (۹)}$$

$$CV_G = \frac{\sqrt{\sigma_G^2}}{\bar{x}} \quad \text{رابطه (۱۰)}$$

$$CV_P = \frac{\sqrt{\sigma_P^2}}{\bar{x}} \quad \text{رابطه (۱۱)}$$

که در این معادلات، \bar{x} میانگین هر صفت، σ_G^2 واریانس ژنتیکی، MSg میانگین مربعات ژنوتیپ و r تعداد تکرار در هر ویژگی، σ_e^2 واریانس خطا (محیطی)، σ_P^2 واریانس فنوتیپی، h_b^2 وراثت‌پذیری عمومی، CV_g ضریب تغییرات ژنتیکی و CV_P ضریب تغییرات فنوتیپی می‌باشد. ضرایب همبستگی فنوتیپی و تجزیه به عامل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS به‌دست آمدند. در تجزیه به عامل‌ها به‌منظور تفسیر بهتر، داده‌ها به‌روش واریمکس دوران داده شده و بر مبنای مقادیر ویژه بزرگتر از یک در هر کدام از سه سطح تنش خشکی استخراج و تفسیر شدند. ضرایب بزرگتر از ۰/۵ برای صفات، صرف‌نظر از علامت مربوطه به‌عنوان ضرایب عاملی معنی‌دار در نظر گرفته شدند (Jarideh et al., 2021).

نتایج و بحث

آمار توصیفی

میانگین سرعت جوانه‌زنی در سطح ۳- بار (۶/۳۴) نسبت به شاهد (۵/۷۸) ۹/۶ درصد افزایش و در سطح ۵- بار (۳/۵۴) نسبت به شاهد ۳۷/۸ درصد کاهش نشان داد (جدول ۱). درصد جوانه‌زنی در سطح ۳- بار (۸۱/۶۲) نسبت به شاهد (۸۰/۵۳) ۱/۱ درصد افزایش و در سطح ۵- بار (۴۷/۵۶) نسبت به شاهد ۳۳ درصد کاهش یافت. گاهی اوقات وقتی بذر در شرایط تنش ملایم محیطی از قبیل خشکی، شوری و یا درجه حرارت بالا و پایین قرار می‌گیرد، سرعت و درصد جوانه‌زنی در آن افزایش پیدا می‌کند. پرایمینگ یکی از تکنیک‌های بهبود جوانه‌زنی بذر

ژنوتیپی افزایش یافت. افزایش ضریب تنوع ژنوتیپی در این صفات و در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده این است که می‌توان از این صفات برای گزینش و انتخاب مصنوعی و بهبود شرایط جهت افزایش تحمل تنش خشکی گیاه برنج استفاده کرد. بر اساس گروه‌بندی صورت گرفته وراثت‌پذیری تا ۱۵ درصد را کم، بین ۱۵ تا ۵۰ درصد متوسط و بیش از ۵۰ درصد را زیاد قلمداد کرده‌اند (Ziegler & Tambarussi, 2022). بر این اساس، در سطح شاهد و بدون تنش خشکی، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، شاخص بنیه‌طولی و شاخص بنیه وزنی، در سطح تنش خشکی ۳- بار صفات سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، شاخص بنیه‌طولی و شاخص بنیه وزنی، در سطح تنش خشکی ۵- بار سرعت جوانه‌زنی، وزن تر ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و شاخص بنیه وزنی وراثت‌پذیری بالایی داشتند. با توجه به بالا بودن قابلیت توارث در این صفات انتظار می‌رود با اطمینان و احتمال بیشتری قابل انتقال به نتاج باشند. لذا می‌توان از این صفات برای گزینش در شرایط تنش خشکی و همچنین در برنامه‌های اصلاحی جهت ایجاد تنوع ژنتیکی و دورگ‌گیری استفاده نمود.

ضریب تنوع فنوتیپی یک ویژگی از ضریب تنوع ژنوتیپی بیشتر باشد بدین معنی است که محیط در بروز آن ویژگی دخالت دارد (Jackson, 2005). ضریب تنوع فنوتیپی از ضریب تنوع ژنوتیپی در همه صفات بزرگتر است و این نشان‌دهنده این است که صفات مورد مطالعه تحت تأثیر محیط قرار دارند. بدیهی است که بروز صفات تحت کنترل عوامل ژنتیکی همواره نیاز به محیط مناسب دارد و در صورتی که سهم محیط در بروز صفتی زیاد باشد نشان‌دهنده این است که تغییرات محیطی با وجود داشتن یک ژنوتیپ خاص می‌تواند تفاوت‌های فنوتیپی را سبب شود.

ضریب تنوع ژنوتیپی

ضریب تنوع ژنوتیپی در صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، شاخص بنیه‌طولی و وزنی، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در سطح تنش خشکی ۳- بار، نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد و این ضریب در این صفات در سطح تنش خشکی ۵- بار نسبت به سطح شاهد و ۳- بار افزایش یافت (جدول ۱). برای طول ساقه‌چه، وزن تر ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و پراکسیداز با افزایش سطح تنش خشکی درصد ضریب تنوع

جدول ۱- آمار توصیفی، میانگین، ضرایب تنوع فنوتیپی، ژنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی
Table 1. Descriptive statistics, average, phenotypic and genotypic coefficients of variation, and broadsense heritability for the morphological and biochemical characteristics

میانگین Average			وراثت‌پذیری عمومی (%) Broad sense heritability			ضریب تنوع فنوتیپی (%) Phenotypic coefficient of variation			ضریب تنوع ژنوتیپی (%) Genotypic coefficient of variation			ویژگی (Character)
-5 bar	-3 bar	Check	-5 bar	-3 bar	Check	-5 bar	-3 bar	Check	-5 bar	-3 bar	Check	
3.54	6.34	5.78	70	76.97	86.48	52.95	32.82	38.57	44.30	28.79	35.87	سرعت جوانه‌زنی (Germination rate)
47.56	81.62	80.53	48.39	46.30	78.56	40.16	17.98	24.95	27.94	12.24	22.11	درصد جوانه‌زنی (Germination percent)
0.67	2.5	5.34	28.51	51.36	47.16	69.47	48.22	30.53	37.10	34.56	20.97	طول ساقه‌چه (Shootlet length)
2.93	6.33	5.01	29.74	28.88	34.55	53.51	31.19	43.26	29.18	16.76	25.43	طول ریشه‌چه (Rootlet length)
0.002	0.007	0.027	33.09	35.38	0.417	73.76	49.56	65.55	42.43	29.48	4.24	وزن تر ساقه‌چه (Shootlet fresh weight)
0.001	0.004	0.004	58.64	32.05	15.48	55.79	45.41	94.61	42.73	25.71	37.23	وزن تر ریشه‌چه (Rootlet Fresh weight)
0.0005	0.002	0.003	43.98	54.27	54.30	67.78	41.20	35.04	44.95	30.35	25.82	وزن خشک ساقه‌چه (Shootlet dry weight)
0.0007	0.002	0.001	55.09	52.21	53.53	57.69	39.88	46.30	42.82	28.82	33.88	وزن خشک ریشه‌چه (Rootlet dry weight)
1.998	7.45	8.82	42.34	54.45	53.70	77.92	40.84	46.29	50.70	30.13	33.92	شاخص بنیه‌طولی (Length vigor index)
0.0007	0.003	0.004	63.61	64.20	62.58	83.45	45.93	46.97	66.56	36.8	37.16	شاخص بنیه وزنی (Weight vigor index)
1.11	0.499	0.46	4.10	4.47	11.14	145.34	72.46	56.03	29.42	15.31	18.7	کاتالاز (میلی‌مول) Catalase (mmol)
3.19	1.96	1.55	20.76	17.65	16.96	57.47	51.56	41.58	26.18	21.66	17.13	پراکسیداز (میکروگرم) Peroxidase (µg)
0.744	0.195	0.139	37.76	0.00	1.24	96.57	75.58	42.70	59.35	0.00	4.75	سوپراکسیددیسموتاز (میلی‌گرم) Superoxide dismutase (mg)

خشکی ۵- بار مربوط به صفات طول ساقه‌چه با وزن تر ساق‌چه (۰/۹۱)، طول ریشه‌چه با شاخص بنیه‌طولی (۰/۹۰)، وزن تر ساقه‌چه با وزن خشک ساقه‌چه (۰/۹۳)، وزن تر ریشه‌چه با وزن خشک ریشه‌چه (۰/۹۱) و شاخص بنیه‌طولی با شاخص بنیه وزنی (۰/۹۱) بود که در سطح احتمال یک درصد رابطه مثبت و معنی‌داری نشان دادند (جدول ۳). در این شرایط محیطی نیز تمام صفات با یکدیگر در سطح احتمال یک درصد رابطه مثبت و معنی‌داری را نشان دادند.

در اصلاح نباتات همبستگی بین صفات اهمیت زیادی دارد زیرا میزان و نوع رابطه ژنتیکی و غیر ژنتیکی بین دو یا چند صفت را اندازه‌گیری می‌نماید. همبستگی فنوتیپی بین صفات مختلف می‌تواند به‌نژادگر را در گزینش غیرمستقیم برای صفات مهم از طریق صفات کم اهمیت که اندازه‌گیری آنها آسان‌تر است یاری نماید (Bakhsipour et al., 2013).

همبستگی فنوتیپی

بیشترین میزان ضریب همبستگی فنوتیپی در شرایط بدون تنش (شاهد) مربوط به شاخص بنیه‌طولی با شاخص بنیه وزنی (۰/۹۲)، شاخص بنیه وزنی با وزن خشک ساقه‌چه (۰/۹۱) و شاخص بنیه وزنی با طول ریشه‌چه (۰/۹) بود که در سطح احتمال یک درصد همبستگی مثبت و معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۲) و بنابراین می‌توان از آنها به‌عنوان معیاری برای ارزیابی رشد گیاهچه و بنیه آن و در جهت تسهیل گزینش استفاده کرد.

بیشترین میزان ضریب همبستگی بین صفات در شرایط تنش خشکی ۳- بار مربوط به صفات طول ساقه‌چه با وزن تر ساقه‌چه (۰/۹۱) و وزن تر ساقه‌چه با وزن خشک ساقه‌چه (۰/۹۱) بود که در سطح احتمال یک درصد رابطه مثبت و معنی‌داری نشان دادند (جدول ۲). تمام صفات با یکدیگر در سطح احتمال یک درصد رابطه مثبت و معنی‌داری نشان دادند. بیشترین میزان ضریب همبستگی فنوتیپی در شرایط تنش

جدول ۲- ضرایب همبستگی فنوتیپی صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در شرایط بدون تنش (پایین قطر) و تنش خشکی ۳- بار (بالای قطر) ژنوتیپ‌های برنج

Table 2. The phenotypic correlation coefficients of the morphological and biochemical traits in non-stress conditions (below diameter) and -3 bar drought stress (above diameter) of rice genotypes

Germination rate	Germination percent (%)	Shootlet length(cm)	Rootlet length(cm)	Shootlet fresh weight(g)	Rootlet Fresh weight(g)	Shootlet dry weight(g)	Rootlet dry weight(g)	Length vigor index(cm)	Weight vigor index(g)	Catalase (mmol)	Peroxidase (µg)	Superoxide dismutase (mg)	ویژگی (Character)
سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی (%)	طول ساقچه (سانتی‌متر)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	وزن تر ساقچه (گرم)	وزن تر ریشه‌چه (گرم)	وزن خشک ساقچه (گرم)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم)	شاخص بنیه طولی (سانتی‌متر)	شاخص بنیه طولی (گرم)	کاتالاز (میلی‌مول)	پراکسیداز (میکروگرم)	سوپراکسید دیسموتاز (میلی‌گرم)	
1	0.84**	0.57**	0.39**	0.46**	0.42**	0.56**	0.63**	0.73**	0.82**	-0.38**	-0.51**	-0.42**	سرعت جوانه‌زنی (Germination rate)
0.842**	1	0.48**	0.45**	0.43**	0.47**	0.48**	0.59**	0.77**	0.79**	-0.37**	-0.54**	-0.44**	درصد جوانه‌زنی (Germination percent)
0.599**	0.64**	1	0.34**	0.91**	0.37**	0.886**	0.35**	0.7**	0.70**	-0.31**	-0.33**	-0.31**	طول ساقچه (Shootlet length)
0.38**	0.567**	0.705**	1	0.4**	0.84**	0.36**	0.74**	0.85**	0.63**	-0.17**	-0.39**	-0.21*	طول ریشه‌چه (Rootlet length)
^{ns} 0.137	0.137 ^{ns}	0.45**	0.31**	1	0.45**	0.91**	0.32**	0.68**	0.68**	-0.26**	-0.34**	-0.31**	وزن تر ساقچه (Shootlet fresh weight)
0.294**	0.272**	0.36**	0.317**	0.247**	1	0.44**	0.83**	0.79**	0.74**	-0.16**	-0.35**	-0.17 ^{ns}	وزن تر ریشه‌چه (Rootlet Fresh weight)
0.619**	0.605**	0.875**	0.63**	0.41**	0.401**	1	0.42**	0.67**	0.78**	-0.28**	-0.30**	-0.29**	وزن خشک ساقچه (Shootlet dry weight)
0.568**	0.636**	0.715**	0.864**	0.23*	0.42**	0.76**	1	0.77**	0.85**	-0.25**	-0.40**	-0.23**	وزن خشک ریشه‌چه (Rootlet dry weight)
0.67**	0.81**	0.86**	0.745**	0.3**	0.354**	0.76**	0.846**	1	0.89**	-0.30**	-0.52**	-0.37**	شاخص بنیه طولی (Length vigor index)
0.786**	0.82**	0.85**	0.897**	0.303**	0.422**	0.91**	0.87**	0.92**	1	-0.33**	-0.48**	-0.37**	شاخص بنیه وزنی (Weight vigor index)
-0.13 ^{ns}	-0.27**	-0.30**	-0.36**	-0.08 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.25**	-0.29**	-0.34**	-0.28**	1	0.53**	0.43**	کاتالاز (Catalase)
-0.27**	-0.33**	-0.38**	-0.38**	-0.23*	-0.22*	-0.42**	-0.40**	-0.38**	-0.40**	0.35**	1	0.63**	پراکسیداز (Peroxidase)
-0.22*	-0.29**	-0.27**	-0.20*	-0.21*	-0.09 ^{ns}	-0.22*	-0.15 ^{ns}	-0.26**	-0.24**	0.53**	0.40**	1	سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase)

جدول ۳- ضرایب همبستگی فنوتیپی ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در شرایط تنش خشکی ۵- بار برای ژنوتیپ‌های برنج

Table 3. The Phenotypic correlation coefficients of morphological and biochemical characteristics under -5 bar drought stress conditions for rice genotypes

Germination rate	Germination percent (%)	Shootlet length(cm)	Rootlet length(cm)	Shootlet fresh weight(g)	Rootlet Fresh weight(g)	Shootlet dry weight(g)	Rootlet dry weight(g)	Length vigor index(cm)	Weight vigor index(g)	Catalase (mmol)	Peroxidase (µg)	Superoxide dismutase (mg)	ویژگی (Character)
سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی (%)	طول ساقچه (سانتی‌متر)	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	وزن تر ساقچه (گرم)	وزن تر ریشه‌چه (گرم)	وزن خشک ساقچه (گرم)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم)	شاخص بنیه طولی (سانتی‌متر)	شاخص بنیه وزنی (گرم)	کاتالاز (میلی‌مول)	پراکسیداز (میکروگرم)	سوپراکسید دیسموتاز (میلی‌گرم)	
1	0.94**	1	0.30**	0.64**	0.64**	0.27**	0.77**	0.42**	0.78**	0.81**	0.87**	-0.24**	سرعت جوانه‌زنی (Germination rate)
0.30**	1	0.60**	0.31**	0.64**	0.64**	0.27**	0.77**	0.42**	0.78**	0.81**	0.87**	-0.24**	درصد جوانه‌زنی (Germination percent)
0.64**	0.31**	1	0.52**	0.91**	0.52**	0.45**	1	0.54**	0.91**	0.60**	0.80**	0.91**	طول ساقچه (Shootlet length)
0.27**	0.26**	0.91**	0.52**	1	0.45**	1	0.54**	0.91**	0.60**	0.80**	0.91**	0.91**	طول ریشه‌چه (Rootlet length)
0.77**	0.68**	0.40**	0.75**	0.45**	1	0.45**	1	0.54**	0.91**	0.60**	0.80**	0.91**	وزن تر ساقچه (Shootlet fresh weight)
0.42**	0.38**	0.86**	0.55**	0.93**	0.54**	1	0.54**	0.91**	0.60**	0.80**	0.91**	0.91**	وزن تر ریشه‌چه (Rootlet Fresh weight)
0.78**	0.70**	0.39**	0.80**	0.38**	0.91**	0.51**	1	0.38**	0.87**	0.91**	0.87**	0.91**	وزن خشک ساقچه (Shootlet dry weight)
0.81**	0.82**	0.63**	0.90**	0.55**	0.77**	0.60**	0.80**	1	0.91**	0.91**	0.87**	0.91**	وزن خشک ریشه‌چه (Rootlet dry weight)
0.87**	0.82**	0.57**	0.74**	0.579**	0.84**	0.69**	0.87**	0.91**	0.91**	0.91**	0.87**	0.91**	شاخص بنیه طولی (Length vigor index)
-0.24**	-0.25**	-0.20*	-0.19*	-0.20*	-0.14 ^{ns}	0.24**	-0.16 ^{ns}	-0.26**	-0.25**	1	0.50**	1	شاخص بنیه وزنی (Weight vigor index)
-0.30**	-0.34**	-0.13 ^{ns}	-0.28**	-0.1 ^{ns}	-0.19*	-0.13 ^{ns}	-0.27**	-0.35**	-0.32**	0.50**	1	1	کاتالاز (Catalase)
-0.40**	-0.34**	-0.16 ^{ns}	-0.32**	-0.19*	-0.37**	-0.27**	-0.36**	-0.39**	-0.41**	0.38**	0.31**	1	پراکسیداز (Peroxidase)
												1	سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase)

جدول ۴- بار عامل‌های دوران یافته، واریانس نسبی و تجمع‌ی ژنوتیپ‌های برنج در شرایط بدون تنش (شاهد)

Table 4. The rotated factorial loads, relative and cumulative variance of rice genotypes in non-stress conditions (control)

بار عاملی (Factor load)				ویژگی (Character)
اول (First)	دوم (Second)	سوم (Third)	اشتراک‌ها (Commonalities)	
0.85	-0.06	-0.06	0.73	سرعت جوانه‌زنی (Germination rate)
0.88	-0.21	-0.06	0.83	درصد جوانه‌زنی (Germination percentage)
0.75	-0.21	0.46	0.82	طول ساقچه (Shootlet length)
0.69	-0.25	0.38	0.69	طول ریشه‌چه (Rootlet length)
0.04	-0.15	0.84	0.72	وزن تر ساقچه (Shootlet fresh weight)
0.31	0.05	0.54	0.39	وزن تر ریشه‌چه (Rootlet fresh weight)
0.75	-0.16	0.46	0.81	وزن خشک ساقچه (Shootlet dry weight)
0.82	-0.15	0.32	0.79	وزن خشک ریشه‌چه (Rootlet dry weight)
0.89	-0.23	0.27	0.91	شاخص بنیه طولی (Length vigor index)
0.93	-0.16	0.28	0.96	شاخص بنیه وزنی (Weight vigor index)
-0.17	0.82	0.03	0.7	کاتالاز (Catalase)
-0.25	0.6	-0.29	0.5	پراکسیداز (Peroxidase)
-0.09	0.84	-0.04	0.72	سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase)
43.29	15.67	14.72		واریانس نسبی (%) (Relative variance)
43.29	58.96	73.68		واریانس تجمعی (%) (Cumulative variance)

جدول ۵- بار عامل‌های دوران یافته، واریانس نسبی و تجمع‌ی ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش خشکی ۳- بار

Table 5. The rotated factorial loads, relative and cumulative variance of rice genotypes under -3 bar drought stress conditions

بار عاملی (Factor load)				ویژگی (Character)
اول (First)	دوم (Second)	سوم (Third)	اشتراک‌ها (Commonalities)	
0.47	0.41	-0.55	0.69	سرعت جوانه‌زنی (Germination rate)
0.525	0.32	-0.57	0.7	درصد جوانه‌زنی (Germination percentage)
0.2	0.92	-0.22	0.93	طول ساقچه (Shootlet length)
0.88	0.14	-0.09	0.81	طول ریشه‌چه (Rootlet length)
0.22	0.92	-0.15	0.92	وزن تر ساقچه (Shootlet fresh weight)
0.905	0.21	-0.04	0.86	وزن تر ریشه‌چه (Rootlet fresh weight)
0.255	0.92	-0.16	0.93	وزن خشک ساقچه (Shootlet dry weight)
0.895	0.14	-0.22	0.87	وزن خشک ریشه‌چه (Rootlet dry weight)
0.775	0.49	-0.31	0.94	شاخص بنیه طولی (Length vigor index)
0.70	0.56	-0.34	0.93	شاخص بنیه وزنی (Weight vigor index)
-0.03	-0.14	0.74	0.57	کاتالاز (Catalase)
-0.29	-0.09	0.8	0.74	پراکسیداز (Peroxidase)
-0.06	-0.14	0.8	0.66	سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase)
32.55	26.84	21.75		واریانس نسبی (%) (Relative variance)
32.55	59.39	81.13		واریانس تجمعی (%) (Cumulative variance)

درصد از تغییرات را توجیه کرد، صفات وزن تر ساقچه و ریشه‌چه در جهت مثبت بیشترین تأثیر را داشتند که می‌توان نام این عامل را "عامل مربوط به وزن تر" نامید (جدول ۴).

در حالت تنش خشکی ۳- بار، عامل اول ۳۲/۵۵ درصد از کل تغییرات را توجیه کرد. در این عامل درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و شاخص بنیه طولی و وزنی در جهت مثبت بیشترین تأثیر را داشتند که می‌توان نام این عامل را عامل مربوط به بخش زیرزمینی گیاهچه گذاشت. عامل دوم ۲۶/۸۴ درصد از تغییرات را توجیه کرد، صفات طول ساقچه‌چه، وزن تر ساقچه‌چه، وزن خشک ساقچه‌چه و شاخص بنیه وزنی در جهت مثبت بیشترین تأثیر را داشتند، که می‌توان نام این عامل را عامل مربوط به بخش هوایی گیاه نامید. عامل سوم ۲۱/۷۵ درصد از تغییرات کل را توجیه کرد. در این عامل صفات کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در جهت مثبت بیشترین تأثیر را داشتند و صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی نیز در جهت منفی تأثیر گذار بود و می‌توان نام این عامل را، عامل مربوط به خصوصیات بیوشیمیایی گذاشت (جدول ۵).

در حالت تنش خشکی ۵- بار عامل اول ۴۱/۹۱ درصد از تغییرات کل را توجیه کرد (جدول ۶). در این عامل، صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و شاخص بنیه طولی و وزنی در جهت مثبت بیشترین تأثیر را داشتند که می‌توان نام این عامل را عامل مربوط به

در سطح تنش خشکی ۳- بار صفت پراکسیداز که یک صفت مهم در مقاومت به خشکی است و اندازه‌گیری آن تا حدودی مشکل است به دلیل مواد و وسایلی که برای اندازه‌گیری آن مورد نیاز است با سرعت و درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه طولی (که اندازه‌گیری آنها راحت است) همبستگی نسبتاً خوبی نشان دادند بنابراین می‌توان از صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه طولی در گزینش غیر مستقیم برای بهبود صفت پراکسیداز استفاده نمود.

تجزیه به عامل‌ها

سه عامل برای هر کدام از شرایط بدون تنش خشکی، ۳- بار و ۵- بار استخراج شد. این عوامل در شرایط بدون تنش، ۷۳/۶۸ درصد، در شرایط تنش ۳- بار، ۸۱/۱۳ درصد و در شرایط تنش ۵- بار، ۸۱/۷۳ درصد از کل تغییرات را توجیه کردند. در حالت بدون تنش (شاهد) عامل اول ۴۳/۲۹ درصد از تغییرات را توجیه کرد که در این عامل سرعت و درصد جوانه‌زنی، طول ساقچه‌چه و ریشه‌چه، وزن خشک ساقچه‌چه و ریشه‌چه و شاخص بنیه طولی و وزنی بیشترین تأثیر را در جهت مثبت داشتند، و بنابراین می‌توان این عامل را "عامل مربوط به صفات مورفولوژیک" نامید. عامل دوم ۱۵/۶۷ درصد از تغییرات را توجیه کرد که در این عامل، صفات کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بیشترین تأثیر را در جهت مثبت داشتند و بنابراین می‌توان نام این عامل را "عامل مربوط به صفات بیوشیمیایی" گذاشت. در عامل سوم که ۱۴/۷۲

دقت بیشتر در استخراج عامل‌های مشترک به عنوان عامل‌های تأثیر گذار بر متغیر مربوطه می‌باشد (Parida & Das, 2005). بیشترین میزان اشتراک مربوط به صفات شاخص بنیه وزنی (۰/۹۶)، شاخص بنیه طولی (۰/۹۱)، درصد جوانه‌زنی (۰/۸۳) و طول ساقه‌چه در سطح شاهد و در سطح تنش خشکی ۳- بار، صفات طول ساقه‌چه (۰/۹۳)، وزن تر ساقه‌چه (۰/۹۲)، وزن خشک ساقه‌چه (۰/۹۳)، شاخص بنیه طولی (۰/۹۴) و شاخص بنیه وزنی (۰/۹۲) و در سطح ۵- بار، طول ساقه‌چه (۰/۹۲)، وزن تر ساقه‌چه (۰/۹۶)، وزن خشک ساقه‌چه (۰/۹۱) و شاخص بنیه طولی (۰/۹۱) برآورد شده است.

بخش زیر زمینی گیاه گذاشت. عامل دوم ۲۴/۸۸ درصد از تغییرات را توجیه کرد. صفات طول ساقه‌چه، وزن تر و خشک ساقه‌چه در جهت مثبت بیشترین تأثیر را داشتند که می‌توان نام این عامل را عامل مربوط به بخش هوایی گیاه گذاشت. عامل سوم ۱۴/۹۴ درصد از تغییرات کل را توجیه کرد که صفات کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز بیشترین تأثیر را در جهت مثبت داشتند. لذا می‌توان نام این عامل را، عامل موثر بر صفات بیوشیمیایی گذاشت (جدول ۶). در استخراج عامل‌ها، اشتراک هر متغیر بخشی از واریانس آن متغیر است که هرچه میزان آن بیشتر باشد نشان دهنده

جدول ۶- بار عامل‌های دوران یافته، واریانس نسبی و تجمعی ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش خشکی ۵- بار
Table 6. The rotated factorial loads, relative and cumulative variance of rice genotypes under drought stress conditions -5 bar

بار عاملی (Factor load)			اشتراک‌ها (Commonalities)	ویژگی (Character)
اول (First)	دوم (Second)	سوم (Third)		
0.91	0.06	-0.23	0.89	سرعت جوانه‌زنی (Germination rate)
0.87	0.06	-0.25	0.82	درصد جوانه‌زنی (Germination percentage)
0.23	0.93	-0.08	0.92	طول ساقه‌چه (Shootlet length)
0.75	0.42	-0.12	0.76	طول ریشه‌چه (Rootlet length)
0.2	0.96	-0.07	0.96	وزن تر ساقه‌چه (Shootlet fresh weight)
0.87	0.27	-0.05	0.83	وزن تر ریشه‌چه (Rootlet fresh weight)
0.33	0.89	-0.11	0.91	وزن خشک ساقه‌چه (Shootlet dry weight)
0.89	0.22	-0.10	0.85	وزن خشک ریشه‌چه (Rootlet dry weight)
0.83	0.41	-0.22	0.91	شاخص بنیه طولی (Length vigor index)
0.85	0.41	-0.21	0.93	شاخص بنیه وزنی (Weight vigor index)
-0.01	-0.16	0.85	0.75	کاتالاز (Catalase)
-0.19	0.007	0.79	0.65	پراکسیداز (Peroxidase)
-0.32	-0.08	0.58	0.45	سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase)
41.91	24.88	14.94		واریانس نسبی (%) (Relative variance)
41.91	66.79	81.73		واریانس تجمعی (%) (Cumulative variance)

بیشترین همبستگی فنوتیپی در شرایط بدون تنش (شاهد) بین صفات شاخص بنیه طولی با شاخص بنیه وزنی، شاخص بنیه وزنی با وزن خشک ساقه‌چه و شاخص بنیه وزنی با طول ریشه‌چه و در محیط با تنش خشکی ۳- بار بین صفات وزن تر ساقه‌چه با وزن خشک ساقه‌چه و طول ساقه‌چه با وزن تر ساقه‌چه و در محیط تنش ۵- بار بین صفات سرعت با درصد جوانه‌زنی، شاخص بنیه طولی با طول ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه با وزن خشک ساقه‌چه و شاخص بنیه طولی و وزنی وجود دارد، می‌توان از صفات ذکر شده در بالا به عنوان معیاری برای ارزیابی رشد گیاهچه، بنیه بذر و جوانه‌زنی بذور استفاده کرد. در سطح تنش خشکی ۳- بار صفت پراکسیداز با سرعت و درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه طولی همبستگی نسبتاً خوبی نشان دادند بنابراین می‌توان از صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی و شاخص بنیه طولی در گزینش غیر مستقیم برای بهبود صفت پراکسیداز استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه یاسوج به پاس حمایت‌های مالی انجام شده برای اجرای این تحقیق در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد سپاسگزاری می‌نمایند.

در کل میزان اشتراک برای بیشتر صفات مورد بررسی بالا بوده است و نشان می‌دهد که عامل انتخاب شده توانسته است تغییرات صفات را به صورت مطلوبی توجیه نماید.

نتیجه‌گیری کلی

میانگین صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه در سطح تنش خشکی ۳- بار نسبت به سطح شاهد افزایش یافته است که امکان دارد بتوان از تنش خشکی ۳- بار به عنوان پرایمینگ بذر برنج استفاده نمود. ضریب تنوع فنوتیپی تمام صفات در سطح تنش خشکی ۵- بار نسبت به دو سطح دیگر بالاتر بود. ضریب تنوع ژنوتیپی در صفات شاخص بنیه وزنی و سوپراکسید دیسموتاز در سطح تنش خشکی ۵- بار نسبتاً بالا بود که تنوع بالا در این صفات و در سطح تنش خشکی ۵- بار نشان دهنده این است که می‌توان از این صفات به عنوان معیاری برای انتخاب مصنوعی در شرایط تنش خشکی ۵- بار استفاده کرد. با توجه به بالا بودن قابلیت وراثت‌پذیری عمومی در سطح تنش خشکی ۳- بار، گزینش برای صفات درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و شاخص بنیه طولی و وزنی و در شرایط تنش خشکی ۵- بار، گزینش برای صفات درصد جوانه‌زنی و وزن تر ریشه‌چه مناسب می‌باشد. با توجه به اینکه

منابع

- Abdul-Baki, A. A., & Anderson, J. D. (1973). Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. *Crop science*, 13(6), 630-633.
- Aebi, H. (1984). [13] Catalase *in vitro*. In *Methods in enzymology*, (Vol. 105, pp. 121-126). Elsevier.
- Arabzadeh, B., & Tavakoli, A. (2006). Economic analysis of deficit irrigation management for rice in direct dry seeded farming. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 7(26), 99-110 (In Persian).
- Astaraki, H., Sharifi, P., & Sheikh, F. (2020). Estimation of genotypic correlation and heritability of some of traits in faba bean genotypes using restricted maximum likelihood (REML). *Plant Genetic Researches*, 6(2), 111-128 (In Persian).
- Bakhsipour, S., Gazanchian, A., Mohaddesi, A., Rahim Soroush, H., & Nasiri, M. (2013). Genotypic and phenotypic correlations between grain yield and some agronomic traits in promising rice lines. *Pajouhesh and Sazandegi*, 97(4), 82-90 (In Persian).
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1), 276-287.
- Byers, D. (2008). Components of phenotypic variance. *Nature education*, 1(1), 161.
- Chaves, M. M., & Oliveira, M. M. (2004). Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of experimental botany*, 55(407), 2365-2384.
- Demiral, T., & Türkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and experimental botany*, 53(3), 247-257.
- Falconer, D., & Mackay, T. (1996). Introduction to quantitative genetics., 4th edn (Longmans Green: Harlow, UK).
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29(1), 185-212.
- Ganjeali, A., Mousavi Kouhi, S. M., Beyk Khormizi, A., & Hossaini, S. V. (2020). Effect of seed priming on germination and morphophysiological traits of Rice transplants (*Oryza sativa* L. cv. Hashemi) under different moisture regimes. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research*, 7(4), 433-445 (In Persian).
- Guo, Z., Ou, W.-z., Lu, S.-y., & Zhong, Q. (2006). Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44(11-12), 828-836.
- Hossaini, S., Ganjeali, A., Lahouti, M., & Beyk Khormizi, A. (2014). Effect of drought stress on seed germination and some morphophysiological and biochemical traits of *Oryza sativa* L. cv. Hashemi seedlings. *Applied Field Crops Research*, 27(105), 182-188 (In Persian).
- Hosseinalipour, B., Rahnema, A., & Farrokhan Firouzi, A. (2020). Effect of drought stress on wheat root growth and architecture at vegetative growth stage. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 51(1), 63-75 (In Persian).
- Ikić, I., Maričević, M., Tomasović, S., Gunjača, J., Šatović, Z., & Šarčević, H. (2012). The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheats. *Euphytica*, 188, 25-34.
- Jackson, J. E. (2005). *A user's guide to principal components*. John Wiley & Sons.
- Jamie, D., & DeCoster, J. (1998). Overview of factor analysis. *Department of Psychology, University of Alabama*.
- Jarideh, P., Amiri Fahlani, R., Masoumi Asl, A., Moradi, A., & Hosseini Chaleshtory, M. (2021). Genetic parameters estimation and factor analysis of morphological and physiological characteristics of F₂: 4 rice (*Oryza sativa* L.) genotypes in germination stage under salinity conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 14(1), 183-194 (In Persian).
- Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*, 57(2), 315-319.
- Kavar, T., Maras, M., Kidrič, M., Šuštar-Vozlič, J., & Meglič, V. (2008). Identification of genes involved in the response of leaves of *Phaseolus vulgaris* to drought stress. *Molecular Breeding*, 21, 159-172.
- Khazaie, L. (2022). Genetic variation of some agronomic characteristics and grain quality traits of rice mutant genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 14(44), 77-89 (In Persian).
- Michel, B. E., & Kaufmann, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiology*, 51(5), 914-916.
- Nguyen, H. T., Babu, R. C., & Blum, A. (1997). Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. *Crop science*, 37(5), 1426-1434.
- Nikkhah, H. R., Tajali, H., Tabatabaie, S. A., & Taheri, M. (2022). Evaluation of yield stability and drought tolerance of barley genotypes in temperate regions of the Iran. *Journal of Crop Breeding*, 14(44), 1-17 (In Persian).
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.
- Qalandari, S., Amiri Z., & Barkhordar, M. (2015). Effect of drought stress on sensitive and tolerant genotypes of crop plants. International conference on science and technology research, Kuala Lumpur, Malaysia, December 14.
- Ramazani Shahrestani, S., Sharifi, P., & Ebadi, A. (2019). Investigating the effects of osmotic stress on some characteristics of seedling growth in rice at the germination stage. *Seed Researches*, 90(3), 53-62 (In Persian).
- Ramezani, M., & Rezaei SokhtAbandani, R. (2012). The impact of seed priming and its period on germination components and the seedling growth of rice in Tarom Deilamani variety. *Journal of Biology Science* 5(4), 93-107 (In Persian)
- Richards, R. (1996). Defining selection criteria to improve yield under drought. *Plant growth regulation*, 20, 157-166.
- Soltani, E., Akram, G. F., & Memar, H. (2008). The effect of priming on germination components and seedling growth of cotton seeds under drought. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources* 14 (5), 9-16.
- Verma, S., Bajpai, G., Tewari, S., & Singh, J. (2005). Seedling index and yield as influenced by seed size in pigeonpea. *Legume Research-An International Journal*, 28(2), 143-145.
- Ziegler, A. C. d. F., & Tambarussi, E. V. (2022). Classifying coefficients of genetic variation and heritability for *Eucalyptus* spp. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 22.