



"مقاله پژوهشی"

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

شمیم خالق جو^۱ و علیرضا ترنگی^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 مسؤول: 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 ریزمماهواره، تعداد ۴۰ لاین F₇ حاصل از تلاقی رقم محلی غریب و رقم اصلاح شده سپیدرود در دو محیط بدون تنفس (غرقاب) و تنفس 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 تنفس خشکی، دارای تنوع بوده و در برابر خشکی واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. نتایج تجزیه خوش‌های صفات مورفو‌لولوژیک نشان داد که تحت تنفس خشکی، لاین‌های L27، L28، L29، L38 و L39 با کمترین درصد کاهش صفات، بیشترین مقدار عملکرد دانه، وزودرس تر بودن به عنوان متتحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها شناسایی شدند. بعد از آن‌ها لاین‌های L9، L12، L21، L25، L26، L30، L19، L12، L23، L41، والد سپیدرود، شاهد خزر و هاشمی بیشترین عملکرد را تحت شرایط تنفس خشکی داشتند. نتایج تجزیه رگرسیونی نشان داد که ۱۳ عدد از ۲۴ نشانگر ریزمماهواره مورد مطالعه شامل RM423، RM211، RM555، RM16030، RM236، RM416، RM12091، RM431، RM11943، RM214، RM520، RM12203، RM12146 و RM233A با بیش از یک صفت مورفو‌لولوژیک مرتبط با تحمل به خشکی در ارتباط بودند و بنابراین می‌توان از این نشانگرهای مختلف اصلاح برنج به منظور غربال و انتخاب ارقام و لاین‌های متتحمل به خشکی در مناطق تحت این تنفس محیطی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه خوش‌های، تنفس خشکی، لاین نوترکیب، نشانگر ریزمماهواره

مقدمه

تنفس، واژه‌ای است که اولین بار توسط دانشمندان علوم بیولوژیک در مورد موجودات زنده به کار برده شد و آن را به عنوان هر عاملی که امکان بالقوه وارد اوردن صدمه به موجودات زنده را دارد، تعریف نمودند (۱۴). خشکی شایع‌ترین تنفس 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 برنج خیز با تنفس 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 تنفس 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 تنفس قرار می‌گیرند (۱۷).

لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب (RILs)^۱ یکی از جمعیت‌های اصلاحی محسوب می‌شوند. خویش‌آمیزی افراد F₂ و گزینش تک بذر آن‌ها، پس از هفت تا ده نسل خودگشتنی، تولید لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب را فراهم می‌سازد (۳۸). این جمعیت‌ها شامل یکسری از لاین‌های هموژیگوس می‌باشند که هر کدام شامل ترکیبی از قطعات کروموزومی منحصر به فرد از والدین می‌باشند. RILs‌ها 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،

دادند. براساس تجزیه رگرسیون داده‌های مولکولی و صفات مورفولوژیکی، در مجموع ۷۰ نشانگر برای شرایط نرمال و ۷۲ نشانگر برای شرایط تنفس خشکی برای صفات مورفولوژیکی شناسایی شد. در شرایط نرمال عرض برگ پرچم با ۹ نشانگر و در شرایط تنفس خشکی طول خروج خوش از غلاف، عرض برگ پرچم، تعداد دانه کل، تعداد دانه پر خوش و عملکرد در هکتار با ۶ نشانگر بیشترین نشانگرهای مثبت را نشان دادند. بیشترین توجیه تغییرات در شرایط نرمال مربوط به صفت مدت زمان رسیدگی (۰/۲۰) توسط مکان‌های ژئی ۷، ISSR6-7، ISSR10-11، ISSR7-4، ISSR1-7 ISSR2-5، ISSR8-ISSR4-8، ISSR1-5، ISSR1-2، 1-ISSR5 در شرایط تنفس خشکی بیشترین توجیه تغییرات مربوط به صفت عملکرد در هکتار (۰/۱۷) توسط مکان‌های ژئی ۱-ISSR3، 10-ISSR10، 8-ISSR10، 6-ISSR1-ISSR9، 8-ISSR تبیین شد. در این مطالعه تعدادی از نشانگرهای 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 تنفس خشکی، بررسی نمودند. نتایج تجزیه خوش‌های برای صفات زراعی در شرایط نرمال و تنفس خشکی ژنوتیپ‌ها را به ترتیب به چهار و سه گروه تقسیم کرد. تجزیه رگرسیون چندگانه بین صفات اندازه‌گیری شده و آلل‌های نشانگرهای ارتباط معنی‌داری را بین برخی از آلل‌های تکثیر شده نشان داد. همچنان، نتایج تجزیه رگرسیون نشان داد که در شرایط نرمال و خشکی به ترتیب تعداد خوش‌چه ثانویه و باروری بیشترین درصد از تغییرات عملکرد را توجیه می‌کند. آن‌ها بدین نتیجه رسیدند که از نتایج این تحقیق می‌توان برای برنامه‌های بهترزآمدی و انتخاب ارقام مناسب و متحمل به تنفس خشکی استفاده نمود.

بر همین اساس، این تحقیق به منظور بررسی میزان تنوع در جمعیت نوترکیب برنج تحت شرایط تنفس خشکی و انتخاب ارقام و لاین‌های متحمل به تنفس خشکی اجراء شد. هم‌زمان با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره، تجزیه ارتباطی این نشانگرهای 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 (جمعًاً چهار رقم شاهد) در دو آزمایش جداگانه تحت شرایط بدون تنفس (آبیاری غرقانی طبق عرف معمول) و تنفس خشکی در مرحله زایشی در موسمه تحقیقات برنج کشور رشت مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت اعمال تنفس، در مرحله حداقل پنجه ژئی آبیاری قطع و تا انتهای فصل رشد ادامه داشت. در طول دوره رشد با مشاهده عالیم تنفس از قبیل لول شدن برگ‌ها، خشک شدن و ترک برداشتن خاک،

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

یکی از موارد بسیار مهم در بهترزآمدی 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 متتحمل به خشکی می‌شود. در روش‌های مولکولی مثل تجزیه ارتباطی از رابطه رگرسیونی بین مکان‌های ژئی کنترل‌کننده صفات برای شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفات کمی استفاده می‌شود.

رئیسی و صبوری (۲۷) جهت اعتبارسنجی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با تحمل به تنفس خشکی و شوری در برنج، از جمعیت طبیعی شامل برنج‌های هوایی، ارقام خارجی و ایرانی استفاده نمودند. مواد گیاهی در شرایط نرمال و همچنین دو سطح از تنفس اسمزی (۸-۱۶-بار حاصل از مانیتور) با استفاده از آزمون‌های استاندارد جوانه‌زنی از لحاظ ۱۴ 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 خوش‌هایی که پارامتر DK را به حداقل خود می‌رساند برابر ۳ می‌باشد. سپس تجزیه ارتباط با استفاده از ماتریس ساختار جمعیت و با مدل‌های آماری MLM و GLM 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، RM431، RM19367 و RM270، RM به عنوان نشانگرهای مرتبط با تحمل به تنفس اسمزی با توجیه تغییرات مرتبط با چندین صفت جوانه‌زنی شناسایی شدند. همچنین نشانگر RM270 با توجیه ۴۰٪ از تغییرات شاخص بنیه بذر و نشانگر RM276 با توجیه ۳۳٪ از تغییرات درصد آب بافت گیاهچه و نشانگر RM523 با توجیه ۴۰٪ و ۳۰٪ درصد از تغییرات ضریب سرعت جوانه‌زنی در دو مدل، بیشترین ضریب تبیین را در شرایط تنفس نسبت به سایر نشانگرهای به خود اختصاص دادند که می‌تواند دلیلی بر تایید ارتباط آن‌ها با صفات جوانه‌زنی در شرایط تنفس اسمزی باشد. با توجه به نتایج کسب شده، در صورت تایید نتایج در سایر زمینه‌های ژنتیکی می‌توان از این نشانگرهای 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 تنفس، تا مرحله پنجمدهی ارقام به طور غرقاب انجام شد. سپس برای ایجاد تنفس، از ۴۰ روز پس از نشاء (مرحله حداقل 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 آغازگرهای ۲-ISSR-8، ISSR-9 و آغازگرهای ۱0-ISSR-10 با ۰/۴۷ کمترین مقدار PIC را به خود اختصاص

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.

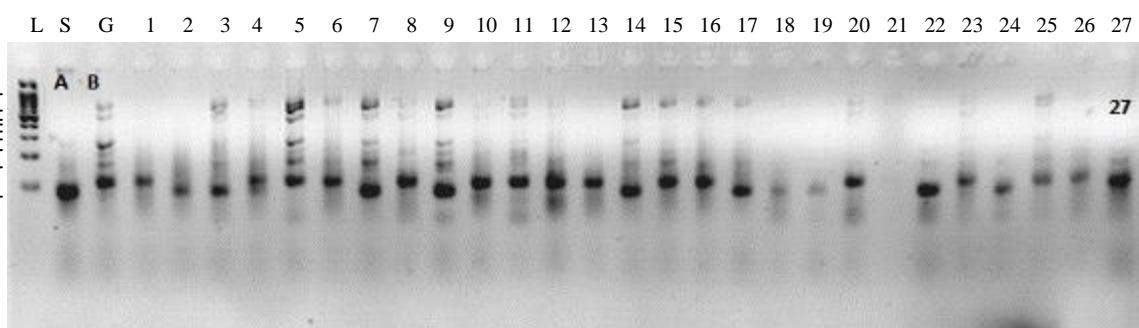
تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ انجام شد. برای بررسی میزان شباهت‌ها و تفاوت‌های بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات مورفو‌لژیک، تجزیه خوشای به روش حداقل واریانس Ward انجام شد. برش دندروگرام جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس بیشترین فاصله بین دو ادغام متواالی انجام و سپس صحت گروه‌بندی حاصل با تجزیه تابع تشخیص ارزیابی شد. هر دو تجزیه خوشای و تابع تشخیص با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام شد. برای نشانگر ریزماهواره نیز ابتدا الگوی نواری مشاهده شده در ژلهای آگارز ۱٪ بر مبنای وجود یا فقدان نوار بهتریب با اعداد یک و صفر مرتب شد و داده‌ها به صورت یک ماتریس 40×80 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 خوشای بر مبنای ضربیب تشابه جاکاراد و روش UPGMA (که بیشترین ضربیب 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، خصوصیاتی شامل تاریخ گل‌دهی، ارتفاع بوته، طول خوش، درصد کل تبدیل، درصد برنج سالم، درصد برنج خرد و عملکرد در واحد هکتار بر اساس سیستم اندازه‌گیری استاندارد برنج، روی ۸۸ بوته از هر لاین اندازه‌گیری شد (۳).

استخراج DNA از نمونه‌های برگی 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.

واکشن PCR در دستگاه Thermocycler Biosystems AppliedTouch down شامل و اسرشت‌سازی اولیه به مدت ۴ دقیقه در دمای 94°C و بعد ۳۵ چرخه حرارتی به صورت ۴۵ ثانیه در دمای 94°C ، ۴۵ ثانیه در دمای 72°C به منظور اتصال آغازگرها، یک دقیقه در دمای 55°C به منظور اختصاصی تر شدن اتصال آغازگرها به DNA الگو و جلوگیری از اتصال غیرتخصی آن‌ها و نیز حذف نوارهای شبیه ریزماهواره، برنامه دمایی دستگاه به صورت Touch down شده، به‌طوری که دمای مرحله اتصال آغازگرها در ده انجام شد، چرخه اول 65°C در نظر گرفته شد و در هر چرخه یک درجه سلسیوس از این دما کاسته شد تا به دمای 55°C رسید. به دنبال آن، ۳۰ چرخه حرارتی باقی‌مانده با همین دما انجام شد و درنهایت دمای نگهداری ۴ درجه سانتی‌گراد اعمال گردید. چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جهت تکثیر DNA ژنومی با ۲۴ جفت آغازگر ریزماهواره با استفاده از روش فروودی-کاهشی^۱ صورت گرفت. این برنامه جهت اختصاصی کردن محصولات واکشن زنجیره‌ای پلی‌مراز بوده و دارای دو



شکل ۱- الگوی نواریندی محصولات PCR تکثیر شده توسط آغازگر RM12091 برای تعدادی از افراد مورد مطالعه. L: لدر، S: والد، G: سپیدرود، A: 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 ریزماهواره مورد مطالعه

Table 1. Information of the studied microsatellite markers

نامگذاری	آغازگر رفت	آغازگر برگشت	موتیف	اندازه محصول تقربی	منبع
RM11943	CTTGTTCGAGGACGAAGATAGGG	CCAGTTACCAGGGTCGAAACC	GA(11)	76	Vikram et al., 2015
RM431	TCCTGCGAAGACTGAAGAGTTG	AGAGCAAAACCTGGTTCAC	AG(16)	251	Vikram et al., 2015
RM104	GAAAGAGGAGAGAAAGATGTGTGCG	TCAACAGACACACCGGCCACCGC	GA(9)	222	Yue et al., 2006
RM12023	TGCGTACCTCTGCTCCTCTGC	GACGAAGCCGACCAAGTGAAGC	TCG(8)	93	Vikram et al., 2015
RM12091	TGTCCAGAGAAATGACAAAGTACGC	GGATGTATATCTGCCACCAAATGC	TC(12)	214	Vikram et al., 2011
RM12146	AGTATGCCCTGCCCACTACACTAGG	CAGCGAATGGCAAGAGCAACC	AG(12)	99	Vikram et al., 2015
RM12233	CTTGAGTTCGAAGCGAGAACG	CACTTGAGCTCGAGACGTAGCC	TCC(8)	82	Vikram et al., 2011
RM416	GGGAGTTAGGGTTTGGAGC	TCCAGTTTCACACTGCTCG	GA(9)	114	Venuprasad et al., 2009
RM520	AGGAGCAAGAAAAGTCCCC	GCCAATGTGTGACGCAATAG	AG(10)	247	Vikram et al., 2015
RM16030	GCGAACTATGAGCATGCCAAC	GGATTACCTGGTGTGCACTGTC	AG(11)	99	Vikram et al., 2015
RM236	GCGCTGGTGGAAAATGAG	GGCATCCCTTTGATTCCTC	CT(18)	191	Swamy et al., 2013
RM279	GCGGGAGAGGGATCTCCT	GGCTAGGAGTTAACCTCGCG	GA(16)	174	Swamy et al., 2013
RM423	AGCACCCATGCCCTATGTG	CCTTTTCAGTAGCCCTCCC	TTC(9)	273	Swamy et al., 2013
RM53	ACGTCTCGACGCATCAATGG	CACAAGAACTTCCTCCGTAC	GA(14)	182	Uday, 2013
RM555	TTGGATCAGCCAAGGAGAC	CAGCATTGTGGCATGGATAC	AG(11)	223	Swamy et al., 2017
RM211	CCGATCTCATCAACCAACTG	CTTCACGAGGATCTAAAGG	(TC)3A(TC)18	161	Palanog et al., 2014
RM233A	CCAATGAACCTACATGTTG	GCATTGCAGACAGCTATTGA	CT(20)	162	Sellamuthu et al., 2015
RM468	CCCTCCTGTGTTGGCTAC	TGATTTCTGAGAGCAACCC	(TAT)8	265	Dixit et al., 2014
RM105	GTCGTGACCCATCGGAGCCAC	TGGTCGAGGTGGGATCGGGTC	CCT(6)	134	Swamy et al., 2013
RM551	AGCCCAGACTAGCATGATTG	GAAGGCGAGAAGGATCACAG	AG(18)	192	Swamy et al., 2013
RM573	CCAGCCTTGCTCCAAGTAC	TCTTCTCCCTGGACCACAC	GA(11)	201	Palanog et al., 2014
RM168	TGCTGCTTGCTGCTTCCCTT	GAAACGAATCAATCCACGGC	T15(GT)14	116	Dixit et al., 2014
RM250	GGTCAACCCAAGCTGATCA	GATGAAGGCCCTCCACGCAG	CT(17)	153	Palanog et al., 2014
RM269	GAAAGCGATCGAACCGAC	GCAAATGCGCCTCGTGTGTC	GA(17)	182	Swamy et al., 2013

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 خوش با ۷۱/۱۴ درصد و ۵/۲۳ درصد بود (جدول ۲). به علاوه، صفاتی نظیر درصد برنج خرد (۶۵/۳۴ درصد)، درصد برنج سالم (۳۲/۷۰ درصد)، درصد کل تبدیل (۱۱/۲۲) و ارتفاع بوته ۱۰/۷۲ نیز به شدت تحت تاثیر خشکی قرار گرفته و ارزش آن‌ها به مقدار زیادی کاهش یافت.

نتایج و بحث

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 ایجاد شده در بین ژنوتیپ‌های برنج بر مبنای صفات مورد بررسی نوع 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 مریعات صفات مورد مطالعه								منابع تغییرات آزادی	درجه
عملکرد دانه در بوته	درصد برنج خرد	درصد برنج سالم	درصد برنج سالم	درصد کل تبدیل	طول خوش	ارتفاع بوته	تعداد روز تا گلدهی		
۱۵۴۳۴/۶۴*	۱/۰۸**	۶۳/۱**	۵۷/۴۷**	۶۴/۶۶**	۲۰۴۱/۶۵**	۳۰۵/۷۳**	۱	محیط	
۱۸۷۹/۶۵	۰/۳۷	۵۴/۶۱	۵۷/۷۴	۵۷/۹۱	۶۸۵/۰۴	۵۵۱/۳۸	۴	تکرار درون محیط	
۳۶۸/۴۳**	۰/۰۴**	۶۳/۷۸**	۶/۲۱**	۶۹/۹۴**	۵۶۸/۴۴**	۱۷۳/۶۵**	۴۳	ژنوتیپ	
۲۳۴/۴۵**	۰/۰۲**	۵۷/۵۲**	۳/۲۶**	۲۱/۷۱**	۳۱۲/۲۶**	۶۲/۱۰*	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	۴/۵۶	ضریب تغییرات (درصد)	

* 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 گله‌ی (۶/۱۲ درصد) بود. تحت شرایط خشکی گیاه برای گریز از خشکی از مکانیسم رسیدگی زودهنگام استفاده می‌کند و در نتجه زمان گله‌ی و رسیدگی کاهش می‌یابد. نتایج این بررسی با نتایج ابرشهر و همکاران (۱۰) مطابقت داشت.

ارزش‌های فتوتیپی صفات مورد مطالعه در هریک از والدین سپیدرود و غریب، افراد شاهد و نیز لاین‌های F₇ در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین‌ین 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 (۱۰) 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. اwoک و همکاران (۲۳) با ایجاد تنش آبی در انتهای مرحله رویشی مشاهده کردند که خشکی در طی فاز زایشی، موجب کاهش عملکرد شلتون 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 گله‌ی، باعث افزایش درصد پوکی دانه‌ها و

جدول ۳- میانگین صفات و درصد کاهش میانگین صفات در اثر تنش خشکی در لاین‌های F₇Table 3. Traits mean and percentage of traits loss due to drought stress in F₇ lines

صفت	شرایط نرمال	میانگین صفات	درصد کاهش صفات در اثر خشکی	
			مقدار t	درصد کاهش صفات در اثر خشکی
تاریخ گله‌ی (روز)	۹۴/۸۰ ± ۱/۱۵	۸۹ ± ۱/۱۶	۱۱/۵۴**	۶/۱۲
ارتفاع بوته (سانتی متر)	۱۱۰/۸۹ ± ۲/۱۳	۹۹ ± ۲/۶۵	۲/۲۵*	۱۰/۷۲
طول خوشة (سانتی متر)	۲۵/۳۵ ± ۰/۳۷	۲۴ ± ۱/۶۹	۲/۴۸*	۵/۳۳
درصد کل تبدیل	۶۶/۳۲ ± ۰/۸۵	۶۱/۸۲ ± ۰/۹۵	۶/۷۵**	۱۱/۲۳
درصد برنج سالم	۴۴/۱۳ ± ۲/۵۱	۲۵/۱۳ ± ۱/۸۷	۱۲/۳۵**	۳۲/۷۰
درصد برنج خرد	۲۲/۱۹ ± ۲/۰۶	۲۶/۶۹ ± ۱/۸۹	۱۱/۷۴**	-۶۵/۳۴
عملکرد (هکتار)	۵۳۰/۲ ± ۱۰/۴۷	۱۵۳۱/۸۱ ± ۹/۳/۰۹	۴۷/۷۱ **	۷۱/۱۴

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

صفات تاریخ گله‌ی و عملکرد در واحد هکتار به ترتیب برتری ۸ و ۱۴۸۲ عددی را در شرایط نرمال و برتری ۱۱ و ۷۶ 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 مدنظر قرار دارد، بنابراین والد سپیدرود و نتاجی 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 نتاج 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 فتوتیپی صفات مورد مطالعه در نسل F₇ در برخی موارد بیشتر از والدین بود که این مسئله می‌تواند به خاطر تنوع ژنتیکی و محیطی درون و بین لاین‌ها باشد. دامنه نتاج نسل F₇ در دو شرایط نرمال و تنش خشکی در جداول ۳ الف و ب نشان داده شده است. تعدادی از نتاج در هر دو شرایط از لحاظ ارزش‌های فتوتیپی 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 ۵۴۴±۱۷۲/۶ و ۲۰۷۵±۱۴۶/۷۵ گرم برآورد گردید که به ترتیب ۱۴۸۲ کیلوگرم و ۷۹۶ کیلوگرم از والد غریب با میانگین ۳۹۵۸±۱۲۷/۶ و ۱۲۷۹±۹۷/۵ بیشتر بود. همچنین والد غریب برای صفت روز تا گله‌ی یک کاهش ۸ و ۱۱ روزی را نسبت به والد سپیدرود به ترتیب در شرایط نرمال و تنش نشان داد. بنابراین، از آنجایی که صفت زودرسی مد نظر به نژادگران می‌باشد، والد غریب و نتاجی 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 خرد معنی‌داری بین والدین مشاهده شد، به طوری که والد غریب برای صفات طول خوشه، درصد کل تبدیل، درصد برنج سالم و درصد برنج خرد برتری ۰/۸، ۰/۲، ۱/۵ و ۰/۱۶ عددی را در شرایط نرمال و برنج برتری ۲، ۰/۱۶، ۰/۲۸ و ۰/۳۰ 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، ۱۲۸، ۷۶). با توجه به اهمیت بیشتر تنفس خشکی در تفکیک ژنوتیپ‌ها، فقط نتایج تجزیه خوش‌های مربوط به تنفس خشکی ارایه شد. بر این اساس، ژنوتیپ‌های مورد بررسی در دو گروه اصلی دسته‌بندی شدند (شکل ۲).

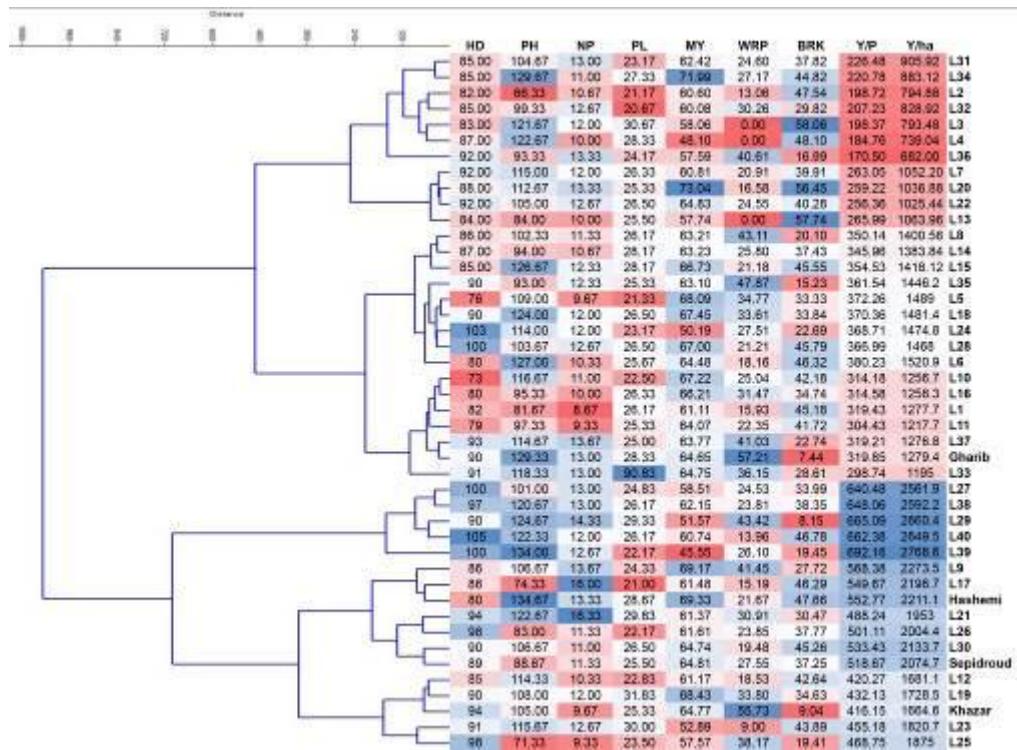
صفت و کمتر از والد دارای حداقل مقدار صفت بود. چنین وضعی برای اکثر صفات مشاهده گردید که می‌تواند دلیلی بر وجود پدیده تفکیک متتجاوز در نسل F₇ باشد. همچنین از طرف دیگر عوامل محیطی نیز می‌تواند چنین حالتی را ایجاد نماید. مطالعات زیادی پدیده تفکیک متتجاوز را در

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

نامه تغییرات	F ₇ لاین‌های	شاهد			والدین مقدار t (P ₁ -P ₂)	غريب m ± s _x	سپیدرود m ± s _x	صفت
		هاشمی (m ± s _x)	خرز (m ± s _x)	مشاهد (m ± s _x)				
۷۸-۱۱۰	۹۴/۸۰ ± ۱/۱۵	۹۰ ± ۱/۰۷	۱۰۳ ± ۱/۵۶	۱۶/۷۱**	۹۴ ± ۱/۶۳	۱۰۲ ± ۳/۴۱	تاریخ گل‌دهی	
۷۹/۳۳-۱۴۳	۱۱۰/۸۹ ± ۲/۱۳	۱۲۸ ± ۲/۵۳	۱۲۵ ± ۳/۴۶	۳۳/۴۵**	۱۴۳/۰۰ ± ۲/۸۵	۱۰۸/۰۰ ± ۴/۱۷	ارتفاع بوته	
۲۱-۳۰	۲۵/۳۵ ± ۰/۰۷	۲۹ ± ۰/۴۴	۲۶ ± ۰/۲۷	۱۷/۲۶**	۳۲ ± ۰/۴۶	۲۸ ± ۱/۱۴	طول خشش	
۴۷-۷۶	۷۲/۳۲ ± ۰/۸۵	۷۲/۳۵ ± ۰/۶۷	۶۷/۲۶ ± ۰/۹۶	۱/۸۵**	۶۹/۳۶ ± ۱/۲۶	۶۸/۵۸ ± ۱/۷۸	درصد کل تبیل	
۵/۷-۶۴/۳	۳۴/۷۷ ± ۲/۵۱	۵۳/۲۷ ± ۱/۸۸	۵۷/۶۳ ± ۱/۸۸	۱۲/۱۰**	۵۶/۳۲ ± ۲/۶۳	۵۴/۱۲ ± ۳/۶۷	درصد برنج سالم	
۲/۹-۵۴/۶	۲۲/۱۹ ± ۲/۰۶	۱۹/۰۸ ± ۱/۹۶	۹/۶۳ ± ۱/۹۷	۱۵/۵۲**	۱۳/۰۴ ± ۲/۲۵	۱۴/۴۶ ± ۳/۶۹	درصد برنج خرد عملکرد/هکtar	
۱۵۳-۰-۵۷۵۹	۵۳۰/۷ ± ۱۰/۴۷	۴۲۲/۰ ± ۱۰/۷۴	۳۹۶/۸ ± ۱۰/۷۷	۱۲۵/۵۲**	۳۹۵/۸ ± ۱۲/۷۶	۵۴۴/۰ ± ۱۷/۲۶		

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

نامه تغییرات	F ₇ لاین‌های	شاهد			والدین مقدار t (P ₁ -P ₂)	غريب m ± s _x	سپیدرود m ± s _x	صفت
		هاشمی (m ± s _x)	خرز (m ± s _x)	مشاهد (m ± s _x)				
۷۳-۱۰۵	۸۹ ± ۱/۱۶	۸۰ ± ۱/۲۳	۹۴ ± ۱/۷۳	۱۳/۴۱**	۷۸ ± ۱/۲۵	۸۹ ± ۲/۶۵	تاریخ گل‌دهی	
۶۶-۱۴۰	۹۹ ± ۲/۶۵	۱۳۵ ± ۲/۸۸	۱۰۵ ± ۳/۴۶	۲۷/۶۶**	۱۲۹ ± ۳/۱۳	۸۹ ± ۳/۴۲	ارتفاع بوته	
۲۱-۳۲	۳۴ ± ۱/۶۹	۳۹ ± ۰/۶۸	۲۵ ± ۰/۲۷	۱۱/۲۴**	۲۸ ± ۱/۷۸	۲۶ ± ۱/۳۳	طول خشش	
۴۶-۷۳	۶۱/۸۲ ± ۰/۹۵	۶۹/۳ ± ۰/۷۲	۶۴/۷۷ ± ۰/۹۶	۱/۸۵ns	۶۴/۶۵ ± ۰/۹۶	۶۴/۸۱ ± ۱/۱۲	درصد کل تبیل	
۹-۴۸	۲۵/۱۳ ± ۱/۸۷	۲۱/۷ ± ۱/۹۶	۵۵/۷۳ ± ۱/۸۸	۴۲/۳۵**	۵۵/۲۱ ± ۲/۲۳	۲۷/۵۵ ± ۲/۵۷	درصد برنج سالم	
۸-۵۸	۳۶/۶۹ ± ۱/۸۹	۴۷/۷ ± ۲/۴۴	۹/۰۴ ± ۱/۹۷	۳۷/۵۲**	۷/۴۴ ± ۱/۶۷	۳۷/۲۵ ± ۱/۶۶	درصد برنج خرده	
-۲۷۶۸ ۶۸۲	۱۵۳۱/۸۱ ± ۹۳/۰۹	۲۲۱۱ ± ۱۰/۶۶	۱۶۶۴/۶ ± ۱۰/۷۷	۱۴۶/۷۷**	۱۲۷۹ ± ۹۷/۵	۲۰۷۴/۷ ± ۱۴۶/۷۵	عملکرد در هکtar	



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

HD: تاریخ گلدی، PH: ارتفاع بوته، NP: تعداد کل تبدیل، PL: طول خوش، MY: درصد برج سالم، WRP: درصد برج 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 Length, 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 برج خرد شده.

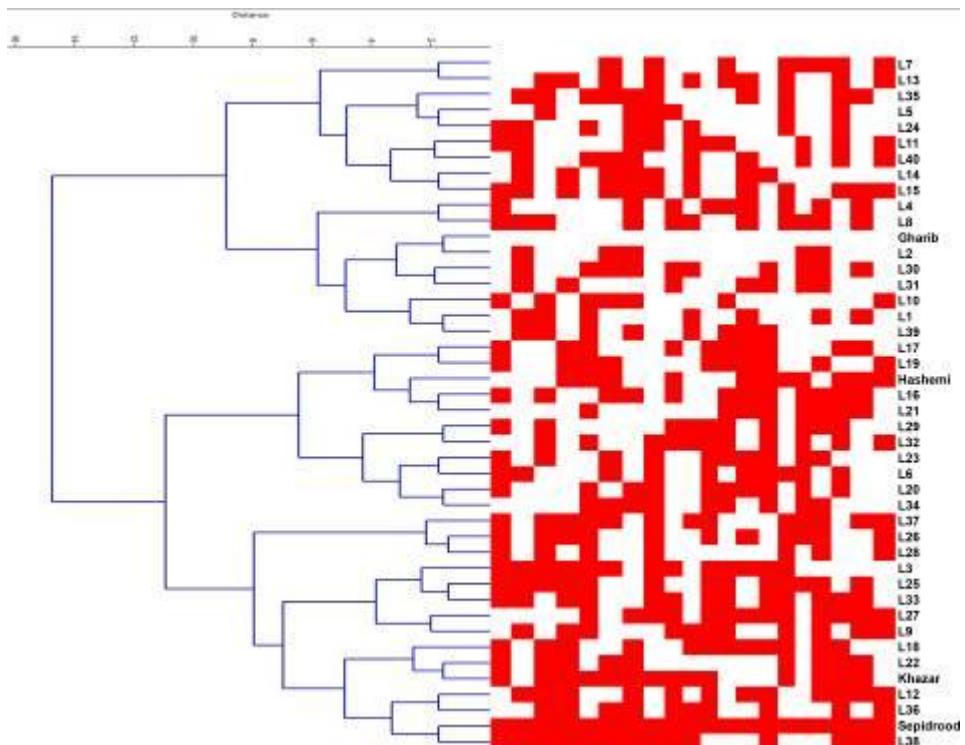
از میان این ۲۴ نشانگر، برای ۴ نشانگر، RM168، RM573، RM250 و RM269 در والدین چندشکلی مشاهده شد و از آتالیز مولکولی حذف شدند. در حالیکه در سایر نشانگرها جهت بررسی تجزیه ارتباطی و تجزیه خوشای ایستفاده شد. نتایج مقایسه گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با روش‌های مختلف تجزیه خوشای و معیارهای متفاوت تشابه بر اساس ضریب همبستگی کوفتیک، شکل دندروگرام و نوع گروه‌بندی نشان داد که گروه‌بندی بر اساس ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA، بهترین روش گروه‌بندی را ارایه داد (میزان ضریب کوفتیک در این روش ۰/۸۹ بود که بیان گر کارایی بالای این روش در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها است).

میزان تشابه بین لاین‌های مورد مطالعه بر اساس ضریب تشابه جاکارد بین ۰/۰ تا ۱ متفاوت 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، L24، L40، L11، L22، 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، L36، L4، L32، L2، L34 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 خوش نسبت به سایر لاین‌ها بودند. از جهتی دارای بیشترین مقدار برای صفت درصد برج 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 L16، L10، L6، L24، L18، L5، L35، L15، L14، L8، L1، L33، L37 و L11 بود. با توجه به صفات مورد مطالعه در این لاین‌ها می‌توان دریافت که این زیرگروه نسبت به سایر لاین‌ها مقادیر حد واسط صفات را دارد. همچنین اعضای این گروه نسبت به سایرین دیررس بودند. گروه دوم نیز دارای دو زیرگروه بود. زیرگروه اول شامل لاین‌های L27، L29، L38، 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 برج سالم بودند. زیرگروه دوم نیز شامل لاین‌های L9، L12، L30، L26، L21، L17، L19، L25 و L23 شاهد خزر و هاشمی بود. با توجه

کنار هم قرار گرفتند. اعضای این گروه اکثرا 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، L5، L35، L24، L11، L23، L40، L1، L8، L15، L14 در کنار هم و در کنار والد خود (غیری) قرار گرفتند. در گروه دوم نیز لاین‌های L17، L29، L21 در کنار هم قرار گرفتند. این نتایج با نتایج تجزیه خوش‌های کنار هم قرار گرفتند.

L39، L1، L10، L31، L30، L2، L8، L4 غریب بود. اعضای این گروه دارای متوسط مقدار برای اکثر صفات مورفولوژیک مورد مطالعه بودند. گروه دوم نیز دو زیرگروه داشت. لاین‌های L19، L17، L16، L21، L19، L29، L23، L32، L6، L20، L34، L23، L32، L29، L21، L16، L23، L34 و رقم شاهد هاشمی در زیرگروه اول قرار گرفتند. اعضای این گروه از نظر طول خوش و ضعیت مطلوبی داشتند، اما از نظر صفت عملکرد دانه وضعيت متوسطی دارا بودند. در زیرگروه دوم نیز لاین‌های L22، L18، L9، L27، L33، L25، L3، L28، L26، L37، L38، L36، L12، رقم والدی سپیدرود و رقم شاهد هاشمی



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

۲۰ نشانگر مرتبط با QTL بزرگ اثر DTY از RM233A 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 به عنوان 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 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 ارایه شده است. مشخص شد که تعداد ۱۳ نشانگر ریزماهواره (RM12091، RM431، RM11943، RM236، RM416، RM12091، RM431، RM11943، RM211، RM555، RM16030، RM236، RM416)

1- Informative markers

مطالعه، نشانگرهای RM12091، RM431، RM11943 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 تنفس 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)، ونپراساد و همکاران (۳۴) و نوپراساد 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 تنفس خشکی ارتباط معنی‌داری را بین نشانگر RM12091 با عملکرد دانه در واحد هکتار نشان داد. ارتباط نشانگرهای RM11943 و RM431 با نیز RM12091 خشکی گزارش شده است (۲۷). در بین نشانگرهای مورد

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

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

R ²	صفت	نشانگرهای آگاهی بخش	سطح معنی‌داری
		RM11943	...
0/۵۴	تاریخ گل‌دهی	RM416	0/۰۰۰۴
		RM431	0/۰۰۱
			0/۰۴
0/۴۹	ارتفاع بوته	RM16030	0/۰۰۵۲
		RM1287	0/۰۰۲۴
		RM555	0/۰۰۶۳
0/۳۵	طول خوشة	RM12091	0/۰۱۰۳
		RM236	0/۰۰۰۵
			0/۰۰۰۱
0/۷۲۱	عملکرد در هکتار	RM11943	0/۰۴۹
		RM431	0/۰۰۳
		RM12091	0/۰۰۰۴
		RM416	0/۰۰۰۴
		RM236	0/۰۰۳۹
0/۳۳	درصد کل تبدیل	RM211	0/۰۰۰۴
		RM233A	0/۰۰۶۳
0/۳۹	درصد برنج سالم	RM12146	0/۰۰۳۴
		RM12023	0/۰۰۰۱
		RM423	0/۰۰۰۴
0/۲۸	درصد برنج خرد	RM520	0/۰۰۱۵

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

نتیجه‌گیری

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 تنفس خشکی، دارای تنوع بوده و در برابر تنفس خشکی واکنش‌های متفاوتی نشان دادند. بنابراین، با توجه به وجود این طیف گسترده پاسخ به تنفس 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 تنفس 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، L30، L26، L21، L12، L19، L11، 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 \times 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. Mauroisset, 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. Ghiassy Oskooee, 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. Takamure 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. Allagholtipour, 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 markerstightly 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