Archive of SID

Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 49, No 4, Winter 2019 (13-24)
DOI: 10.22059/ijfcs.2017.220374.654215

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۷ (ص۲۴-۱۳)

بررسی رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب برنج از لحاظ تحمل به خشکی با استفاده از شاخص‌های تحمل و نشانگرهای SSR پیوسته به خشکی

عاطفه صبوری*[۱]، احمدرضا دادرس[۲]، حنانه خوش چهره[۳]، امیر وطن پرست[٤] و حامد افلاطونی[٤]

۱ و ٤ استادیار و دانش‌آموخته‌گان کارشناسی اصلاح نباتات گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت. ایران. ۲. استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران ۳. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه یاسوج. ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۲۷)

چکیده

تنش خشکی همواره یکی از مهم‌ترین عامل‌های محدودکننده در تولید محصولات گیاهی بوده است. در این تحقیق شمار ۱٤۲ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ (اینبرد لاین) نوترکیب برنج F7 به‌دست‌آمده از تلاقی رقم‌های شاه‌پسند و IR28 در بهار و تابستان ۱۳۹٤ در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه گیلان بررسی شد. پس از ثبت عملکرد رگه‌ها در شرایط عادی و تنش خشکی، به‌منظور شناسایی رگه‌های متحمل به خشکی از شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش و نشانگرهای ریزماهوارهٔ پیوسته به خشکی استفاده شد. بنا بر نتایج تجزیهٔ خوشه‌ای، همهٔ رگه‌ها به چهارگروه تقسیم شدند. بر پایهٔ این گروه‌بندی دو رگهٔ (۳۷ و ۱٤٤) به همراه زیرگروه ۱۱ عضوی، درمجموع بر پایهٔ شاخص‌های GMP، STI و MP، به‌عنوان متحمل‌ترین رگه‌ها شناسایی شدند و میانگین عملکرد ۱۳ رگهٔ یادشده در شرایط بدون تنش و تنش خشکی به ترتیب ۵/۰۸٦ و ٤/٦۷۸ تن در هکتار به دست آمد. به‌منظور اعتبارسنجی در این جمعیت، برای نشانگرهایی که در بررسی‌های پیشین به‌عنوان نشانگر پیوسته به QTLهای مرتبط با تحمل به تنش خشکی شناسایی‌شده بودند، تجزیهٔ رگرسیونی انجام شد. نشانگر RM7 برای همهٔ متغیرهای وابسته، RM231 با عملکرد در هر دو شرایط، STI ، نشانگر RM302 با عملکرد در هر دو شرایط، GMP و MP ارتباط معنی‌دار داشتند و نشانگرهای RM12091، RM19367 و RM10793 در درجهٔ بعدی اهمیت قرار داشتند. تجزیهٔ ارتباط نشان داد ۵۱/٤ درصد از تغییرپذیری عملکرد تحت تنش خشکی توسط نشانگرهای RM7، RM231، RM302، RM12091 و RM19367 توجیه شدند که می‌تواند نشان‌دهندهٔ تأیید اهمیت این نشانگرها درزمینهٔ ژنتیکی حاضر باشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، رگرسیون گام‌به‌گام، کمبود آب، نشانگرهای ریزماهواره، QTL.

Investigation of rice recombinant inbred lines based on drought tolerance using tolerance indices and SSR markers

Atefeh Sabouri*[1], Ahmad Reza Dadras[2], Hannaneh Khoshchehreh[3], Amir Vatanparast[4], Hamed Aflatouni[4]

1 and 4 Assistant professor, Former B.Sc student of Plant Breeding of Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
2. Assistant Professor of Crop and Horticultural Science Research Department, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Zanjan, Iran.
3. Former M.Sc student of Plant Breeding and Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Yasouj University, Iran.

(Received: November 15, 2016- Accepted: February 15, 2017)

ABSTRACT

Drought stress is considered as one of the most important limiting factors in plant production. In the present study, 142 recombinant inbred lines F7 (RILs) derived from IR28 and Shahpasand were investigated in Faculty of Agricultural Sciences University of Guilan during spring and summer 2015. After recording of yield under normal and drought stress conditions, in order to determine the drought tolerant lines were used tolerance indices and microsatellites markers that identified as linked to drought stress. According to the cluster analysis results, all of lines were divided to four groups. In this grouping two lines (37 and 144) a long with another sub group with 11 lines were most tolerant lines based on tolerance indices (GMP, STI and MP). Average yield of these 13 lines under normal and drought stress condition were 5.086 and 4.678 t/ha respectively. In order to validate identified markers for drought stress identified in previous studies, a stepwise regression was performed. The marker RM7 for all dependents variables, RM231 for yield under two conditions, STI and RM302 for yield under two conditions, GMP, and MP were significant and thereafter RM12091, RM19367 and RM10793 were the next important markers. Association analysis revealed 51.4% of variation of yield under drought stress was explained by RM7, RM231, RM302, RM12091 and RM19367 markers that can be indicative a confirmation of these markers importance in present genetic background.

Keywords: Rice, Stepwise regression, Water deficit, Microsatellite markers, QTL.

* Corresponding author E-mail: atefeh_sabouri@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) از جمله مهم‌ترین مادهٔ غذایی جهان به شمار می‌آید (Emam, 2007) و به‌عنوان دومین و مهم‌ترین غله پس از گندم نقش کلیدی در اقتصاد کشور به‌ویژه استان‌های حاشیهٔ جنوبی دریای خزر را ایفا می‌کند. از دیدگاه ژنتیکی نیز برنج در بین غلات اهمیت ویژه‌ای دارد، چون یک گیاه مدل تک‌لپه با اندازهٔ کوچک و میزان کمتر توالی‌های تکراری در ژنگان (ژنوم) در مقایسه با دیگر غلات است و همین ویژگی‌ها آن را برای تجزیه‌های ژنتیکی مولکولی مناسب می‌سازد (Freeling, 2001). در بین غلات، برنج بیشترین نیاز آبی را در بین غلات دارد. این گیاه تا رسیدگی فیزیولوژیکی دانه‌ها حدود ۸ تا ۲۰ هزار مترمکعب و برای تولید ۱ کیلوگرم مادهٔ خشک ۷۰۰ لیتر آب نیاز دارد (Karimi, 2008)، بنابراین یکی از محدودیت‌های اصلی که باعث کاهش عملکرد برنج می‌شود کمبود آب است و در حقیقت خشکی مهم‌ترین عامل محدودکنندهٔ تولید برنج در ۴۰ میلیون هکتار از اراضی زیر کشت برنج در آسیا است (Venuprasad *et al.*, 2008) و افزایش عملکرد این محصول به‌ویژه تحت تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی، همیشه به‌عنوان یک هدف اساسی برای محققان اصلاح نباتات به شمار می‌رود. با توجه به وجود اثر متقابل بین نژادگان (ژنوتیپ) و محیط، معیارهای مختلفی برای گزینش نژادگان‌ها بر پایهٔ عملکرد آن‌ها در شرایط تنش و بدون تنش پیشنهاد شده است. شاخص حساسیت به تنش خشکی (SSI) توسط Fischer and Maurer (1978) معرفی شد و به پیشنهاد Rosielle and Hamblin (1981) شاخص‌های تحمل (TOL) و میانگین حسابی (MP) برای ارزیابی رقم‌ها به تنش ارائه شدند. همچنین فرناندز در بررسی عملکرد رقم‌ها در دو محیط (تنش و بدون تنش)، استفاده از شاخص تحمل به تنش (STI) و میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) را برای غربال کردن رقم‌ها پیشنهاد کرد (Fernandez, 1992).

وجود تنوع قابل توجه در سازوکارهای مقاومت به خشکی در برنج اهمیت این گیاه را در بررسی‌های مولکولی تنش خشکی دوچندان می‌کند (Price and Courtois, 1999). از سوی دیگر توارث پیچیدهٔ تحمل به تنش خشکی و کنترل آن به‌وسیلهٔ شمار زیادی ژن باعث می‌شود تا استفاده از روش‌های سنتی و کلاسیک اصلاح نباتات در بهبود آن پیشرفت چندانی نداشته باشد. این در حالی است که توسعهٔ نشانگرهای مولکولی در دهه‌های اخیر توانسته است تحول چشم‌گیری در فناوری زیستی (بیوتکنولوژی) و اصلاح نباتات ایجاد کند.

Falconer and Mackay (1996) در نتایج بررسی‌های خود اظهار داشتند، اگر نشان داده شود که نشانگرهای مولکولی پیوسته به ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفات کمی هستند، انتخاب برای چنین نشانگرهایی می‌تواند کارایی اصلاحی این صفات را بهبود بخشد. پس از اجرای برنامه-های پرشمار مکان‌یابی QTL با استفاده از نشانگرهای مولکولی، QTLهای زیادی برای صفات مختلف در شرایط مختلف و با استفاده از زمینه‌های مختلف ژنتیکی شناسایی شده‌اند. همچنین در ارتباط با تنش خشکی روی برنج نیز بررسی‌های گسترده‌ای به انجام رسیده است. Bernier *et al.* (2007) و Venuprasad *et al.* (2012a, 2012b) برای صفت عملکرد در شرایط تنش خشکی، Vikram *et al.* (2011) برای صفات مختلف زراعی و عملکرد در شرایط تنش خشکی و Ghimire *et al.* (2012) و Diwan *et al.* (2013) برای متغیرهای مختلف جوانه‌زنی توانستند چندین QTL بزرگ اثر را شناسایی کنند. نخستین QTL بزرگ اثر برای عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی qDTY12.1 بود که توسط Bernier *et al.* (2007) در یک جمعیت F3 ۴۳۶ فردی مشتق از تلاقی بین رقم‌های آپلند Vandana و Way Rarem شناسایی شد. این QTL روی کروموزوم ۱۲ در حدفاصل نشانگرهای RM28166 و RM28048 توانست تغییرپذیری این صفت را با ضریب تبیین برابر با ۳۳ درصد توجیه کند. Venuprasad *et al.* (2009) دو QTL بزرگ اثر به نام‌های qDTY2.1 و qDTY3.1 روی کروموزوم ۲ و ۳ برای عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی در BC1 مشتق از تلاقی رقم Swarna (یک رقم غرقابی با عملکرد بالا) و Apo (یک رقم آپلند) شناسایی کردند. این QTLها به ترتیب توانستند ۱۶/۳ درصد و ۳۰/۷ درصد از تغییرپذیری عملکرد دانه در شرایط تنش شدید خشکی توجیه کنند. Ghimire *et al.* (2012) با استفاده از دو جمعیت مکان‌یابی رگهٔ خویش‌آمیختهٔ (اینبرد لاین) نوترکیب مشتق از تلاقی Dhagaddeshi/Swarna و

www.SID.ir

Archive of SID

Dhagaddeshi/IR64 در دو فصل زراعی در شرایط عادی و در شرایط تنش خشکی، توانستند یک QTL بزرگ اثر qDTY1.1 را برای عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی روی کروموزوم ۱ در حدفاصل نشانگرهای RM431 و RM12091 در هر دو جمعیت شناسایی کنند.

Vikram *et al.* (2011) با استفاده از جمعیت مکان‌یابی N22/Swarna موفق شدند QTL بزرگ اثر به نام qDTY3.2 مرتبط با وزن دانه در شرایط تنش خشکی شناسایی کنند. این QTL در بررسی‌های بعدی توسط Yadaw *et al* (2013) که با استفاده از IR77298-5-6-18/2*Sabitri انجام شده بود در بازوی کوچک کروموزوم ۳ در مجاورت نشانگر RM231 دوباره گزارش شد.

Venuprasad *et al.* (2012a) توانستند در سه زمینهٔ ژنتیکی Apo/Swarna، Apo/IR72 و Vandana/IR72 یک QTL بزرگ اثر به نام qDTY6.1 مرتبط با عملکرد دانه در محیط‌های هوازی شناسایی کنند. در این بررسی qDTY6.1 پیوسته با دو نشانگر ریزماهواره RM510 و RM19367 بود که روی کروموزوم ۶ شناسایی شدند. این QTL توانست تا ۶۶ درصد در شرایط هوازی و تا ۳۹ درصد در شرایط غرقابی تغییرپذیری‌های عملکرد دانه را توجیه کند. Mishra *et al.* (2013) به کمک یک جمعیت رگه‌های خویش‌آمیختهٔ تلاقی برگشتی مشتق از تلاقی IR74371-46-1-1/Sabitri توانستند یک QTL بزرگ اثر (qDTY12.1) روی کروموزوم ۱۲ در حدفاصل نشانگرهای RM28166 وRM28199 شناسایی کنند که ارتباط معنی‌داری با عملکرد دانه در مرحلهٔ زایشی و تحت تنش خشکی داشت. درمجموع این بررسی‌ها می‌توان دریافت که مهم‌ترین کروموزم‌ها که واجد QTLهای بزرگ اثر مرتبط با عملکرد تحت تنش خشکی هستند اغلب روی کروموزوم‌های ۱۲، ۶، ۳ و ۲ شناسایی شدند. اما نکتهٔ مهم اینکه به‌رغم مکان‌یابی QTLهای پرشمار، ازآنجایی‌که این QTLها با استفاده از زمینه‌های مختلف ژنتیکی شناسایی شده‌اند لذا به‌طور مستقیم قابل استفاده نیستند و هنوز یک شکاف بین اصول بنیادی و تحقیقات کاربردی در مکان‌یابی QTL وجود دارد (Burton, and Miranda, 2013). بنابراین تعیین اعتبار QTLها و تأیید نشانگرهای نامزد (کاندید) پیوسته به این QTLها در یک جمعیت خاص یک گام اساسی و ضروری پیش از استفاده از آن‌ها در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر است (Nicholas, 2006). این تحقیق نیز در راستای دستیابی به هدف‌های زیر انجام شد. ۱) شناسایی رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب متحمل و حساس به خشکی بر پایهٔ شاخص‌های تحمل به تنش و نشانگرهای پیوسته به QTLهای مرتبط با خشکی ۲) اعتبارسنجی نشانگرهای کاندید تحمل به تنش خشکی در رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از جمعیت رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب F7 به‌دست‌آمده از تلاقی رقم‌های برنج شاه‌پسند و IR28 به ترتیب به‌عنوان رقم‌های متحمل و حساس به خشکی (Sabouri *et al.*, 2012) استفاده شد. رقم شاه‌پسند یک رقم بومی پر محصول، با آمیلوز بالا و عطر متوسط است. رقم IR28 رقم پرمحصول، آمیلوز بالا، عطر ضعیف و ارسال‌شده از مؤسسهٔ بین‌المللی تحقیقات برنج(IRRI)[1] در کشور فیلیپین است. ارزیابی جمعیت F7 برای دستیابی به هدف‌های این طرح در مزرعهٔ پژوهشی دانشگاه گیلان در بهار و تابستان ۱۳۹۴ انجام شد. این آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو بخش بدون تنش و تنش خشکی اجرا شد. شمار ۱۴۶ رگه، هر رگه در دو ردیف به طول ۲ متر در هر تکرار و نشاکاری به‌صورت تک بوته و با فاصلهٔ ۲۵×۲۵ سانتی‌متر انجام شد که با توجه از بین رفتن شمار ۴ رگه در طول آزمایش، آزمایش با ۱۴۲ رگه انجام شد. به‌منظور اعمال تنش خشکی، آبیاری در مرحلهٔ بیشینهٔ پنجه‌زنی یعنی حدود ۳۰ روز پس از نشا-کاری قطع شد و تا انتهای دورهٔ رویش ادامه یافت. مرحلهٔ بیشینهٔ پنجه‌زنی به این دلیل انتخاب شد تا پس از قطع آب در این مرحله و تا ناپدید شدن آب در سطح کشتزار، در عمل تنش خشکی در مرحلهٔ آغاز تشکیل آغازه‌های خوشه (Panicle initiation) در ساقهٔ اصلی که مناسب‌ترین زمان برای تأثیرگذاری تنش است (Singh *et al.*, 1996)، اعمال شود. برای هدایت و خارج کردن آب از بخش تحت تنش آزمایش، زه‌کش‌هایی به عمق ۵۰ سانتی‌متر با استفاده از بیل مکانیکی حفر شد. آمار هواشناسی ایستگاه هواشناسی رشت در فصل‌های زراعی سال ۱۳۹۴در جدول ۱ آورده

1. International Rice Research Institute (IRRI)

www.SID.ir

Archive of SID

شده است. برای اندازه‌گیری عملکرد دانه از هر کرت، بوته‌های ۰/۵ مترمربع برداشت شد و درنهایت از میانگین آن‌ها برای تجزیه‌های آماری استفاده شد.

توارث‌پذیری عمومی با رابطهٔ $H^2 = \frac{\delta^2 g}{\delta^2 ph}$ به دست آمد. پیشرفت ژنتیکی در نتیجهٔ انتخاب، تفاوت بین میانگین ارزش جمعیت مبدأ و میانگین ارزش ژنتیکی رگه‌های انتخاب‌شده است و با رابطهٔ $GA=K(\sigma_p)\ H^2$ به دست آمد که در این رابطه GA پیشرفت ژنتیکی، σ_p انحراف معیار پدیدگانی (فنوتیپی)، K دیفرانسیل انتخاب و H^2 وراثت‌پذیری است (Falconer and Mackay, 1996) برای ارزیابی تحمل یا حساسیت رگه‌ها، به تنش کمبود آب از شاخص‌های میانگین حسابی (MP) ، میانگین هندسی (GMP)، تحمل (TOL)، شاخص حساسیت به تنش (SSI)، شاخص تحمل به تنش (STI) و شاخص پایداری عملکرد (YSI) استفاده شد که با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه شدند.

$$MP = \frac{Ys + Yp}{2}$$ (Rosielle and Hamblin. 1981) (۱)

$$GMP = \sqrt{Y_S . Y_P}$$ (Fernandez, 1992) (۲)

$$TOL = Yp - Ys$$ (Rosielle and Hamblin. 1981) (۳)

$$SSI = (1 - \frac{Y_S}{Y_P}) \div (1 - \frac{Y_{\bar{S}}}{Y_{\bar{P}}})$$ (Fischer and Maurer, 1978) (۴)

$$STI = \frac{Y_P \times Y_S}{(Y_{\bar{P}})^2}$$ (Fernandez, 1992) (۵)

$$YSI = \frac{Y_S}{Y_P}$$ (Bouslama and Schapaugh, 1984) (۷)

در این رابطه‌ها، Yp: عملکرد رگه‌ها در محیط بدون تنش، Ys: عملکرد رگه‌ها در محیط تنش، $Y_{\bar{P}}$: میانگین عملکرد همهٔ رگه‌ها در محیط بدون تنش و $Y_{\bar{S}}$: میانگین عملکرد همهٔ رگه‌ها در محیط تنش است. برای تعیین مناسب‌ترین شاخص‌ها از محاسبهٔ ضریب‌های همبستگی ساده بین این شاخص‌ها و عملکرد دانه در شرایط تنش کمبود آب و بدون تنش استفاده شد. به‌منظور گروه‌بندی نژادگان‌ها بر پایهٔ شاخص‌های تحمل به تنش و عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش تجزیهٔ خوشه‌ای به روش‌های مختلف از جمله UPGMA، ادغام برحسب دورترین فاصله‌ها (Complete Linkage method) و روش Ward انجام شد. با توجه به نتایج، درنهایت گروه‌بندی به‌دست‌آمده از روش Ward که در تفکیک رگه‌ها موفق‌تر بود، برای تفسیر انتخاب شد. بنا بر نتایج تجزیهٔ خوشه‌ای، گروه مربوط به متحمل‌ترین رگه‌ها و گروه مربوط به حساس‌ترین رگه‌ها تعیین و وارد مرحلهٔ بعد یعنی ارزیابی نژادگانی شدند. تجزیه‌های آماری در این قسمت با استفاده از نرم‌افزار SPSS و SAS انجام شد.

جدول ۱. آمار هواشناسی ایستگاه هواشناسی رشت در فصول زراعی سال ۱۳۹۴

Meteorological data in Rasht in cropping seasons of 2014.Table 1

AD months	Solar months	Mean max tem. (°C)	Mean min tem. (°C)	Mean tem. (°C)	Mean RH	Rainfall (mm)	Sunny hours
21 March-20 April	Farvardin	16.1	8.6	12.4	82	147.7	115.5
21 April-21 May	Ordibehesht	22.3	13.1	17.7	76	43.8	179.3
22 May-21 June	Khordad	29.7	19.2	24.5	70	0.1	270.7
22 June- 22 July	Tir	31.6	22.1	26.9	73	81.2	264.2
23 July- 22 August	Mordad	33.1	21.6	27.4	74	13.6	292.2
23 August- 22 September	Shahrivar	28.5	19.6	24.1	79	120.9	155.8

در مرحلهٔ ارزیابی نژادگانی در آغاز به‌منظور استخراج DNA در مرحلهٔ پنجه‌زنی، از برگ‌های تازه و جوان، نمونه‌های برگی تهیه شد و آنگاه به روش CTAB، DNA استخراج شد (Saghai Maroof, 1994). پس از استخراج DNA، کیفیت و کمیت تقریبی آن با ژل آگاروز ۰/۸درصد تعیین شد. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز درمجموع ۲۵ جفت آغازگر (جدول ۲) استفاده شد. سعی شد از نشانگرهایی که بنا بر نتایج بررسی‌های معتبر پیشین با استفاده از جمعیت‌ها و زمینه‌های ژنتیکی پرشمار، پیوسته با QTLهای صفات مرتبط با تنش‌های غیرزیستی به‌ویژه خشکی شناسایی شده‌اند استفاده شود. پس از رقیق‌سازی DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۱۰ میکرولیتر، با اجزای ۲ میکرولیتر DNA (۲۰ نانوگرم در میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر از بافر (۱۰X) PCR، ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر

www.SID.ir

Archive of SID

با غلظت ۶۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط dNTP (۲ میلی‌مولار)، ۰/۴۸ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)، ۰/۱۲ میکرولیتر آنزیم *Taq* DNA polymerase (۵ واحد در میکرولیتر) و ۵ میکرولیتر آب دیونیزه شده به‌صورت تاچ داون و توسط دستگاه ترموسایکلر BIO RAD انجام شد. چرخهٔ گرمایی شامل یک چرخهٔ واسرشت اولیه برای DNA الگو بود که در دمای ۹۴ درجهٔ سلسیوس و به مدت ۴ دقیقه انجام شد و به دنبال آن ده چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجهٔ سلسیوس، ۴۵ ثانیه در دمای ۶۵ درجهٔ سلسیوس (با کاهش هر ۱ درجهٔ سلسیوس در هر چرخه تا رسیدن به دمای اتصال) و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس و به دنبال آن ۲۶ چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجهٔ سلسیوس، ۴۵ ثانیه در دمای ۵۵ درجهٔ سلسیوس و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس بود و پس از به پایان رسیدن ۲۶ چرخهٔ بالا، نمونه‌ها برای انجام بسط نهایی پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند. با توجه به اینکه مواد گیاهی این تحقیق رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب بودند لذا در آغاز همهٔ آغازگرها روی دو والد شاه‌پسند و IR28 آزمون شد و در صورت داشتن چندشکلی، ارزیابی نژادگانی روی گروه رگه‌های حساس و متحمل شناسایی‌شده در مرحلهٔ ارزیابی نژادگانی صورت گرفت.

سپس فرآورده‌های PCR با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکریل آمید ۶درصد تفکیک و به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شدند (Switzer *et al.*, 1979). درنهایت امتیازدهی نوارها به‌صورت صفر و یک به ترتیب برای بود و نبود نوار DNA انجام گرفت. پس از ثبت اطلاعات نژادگانی رگه‌ها بر پایهٔ نشانگرهای ریزماهواره چندشکل بین والدین، در آغاز گروه‌بندی رگه‌ها با استفاده از ضریب‌های مختلف مانند جاکارد، سازگاری (تطابق) ساده، دایس و .. و الگوریتم‌های مختلف از جمله UPGMA، ادغام برحسب دورترین فاصله‌ها (Complete Linkage method) و روش پیوند همجواری یا اتصال همسایگی (NJ) با استفاده از نرم‌افزارهای مختلف از جمله NTYSIS، GGT و5.05 MEGA انجام شد و نمودار درختی (دندروگرام) به روش اتصال همسایگی و ضریب جاکارد با توجه به تفکیک بهتر رگه‌ها برای تفسیر استفاده شد. در مرحلهٔ نهایی به‌منظور تعیین ارتباط معنی‌دار یا غیر معنی‌دار بین نشانگرهای ریزماهواره و شاخص‌های تحمل از تجزیهٔ رگرسیونی گام‌به‌گام با استفاده از نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

جدول ۲. اطلاعات نشانگرهای ریزماهوارهٔ مورد استفاده

Table 2. Information of used microsatellite markers.

No.	Name	Chr.	Reference	No.	Name	Chr.	Reference
1	RM5	1	Diwan *et al.*, 2013	14	RM480	5	Gramene site
2	RM7	3	Diwan *et al.*, 2013; Verma *et al.*, 2014	15	RM493	1	Thomson *et al.*, 2010
3	RM104	1	Vikram *et al.*, 2011	16	RM510	6	Venuprasad *et al.*, 2012b
4	RM140	1	Thomson *et al.*, 2010	17	RM511	12	Bernier *et al.*, 2007
5	RM190	6	Gramene site	18	RM523	3	Bernier *et al.*, 2007
6	RM212	1	Wang *et al.*, 2005	19	RM3805	6	Venuprasad *et al.*, 2012b
7	RM231	3	Diwan *et al.*, 2013	20	RM5672	7	Gramene site
8	RM270	12	Gramene site	21	RM10793	1	Thomson *et al.*, 2010
9	RM276	6	Gramene site	22	RM11943	1	Vikram *et al.*, 2011
10	RM302	1	Venuprasad *et al.*, 2012b	23	RM12091	1	Vikram *et al.*, 2011
11	RM306	1	Diwan *et al.*, 2013	24	RM19367	6	Venuprasad *et al.*, 2012b
12	RM319	1	Wang *et al.*, 2005	25	RM28099	12	Bernier *et al.*, 2007
13	RM431	1	Vikram *et al.*, 2011	26	RM28166	12	Bernier *et al.*, 2007

نتایج و بحث

نتایج محاسبهٔ ضریب همبستگی بین عملکرد رگه‌ها با شاخص‌های تحمل در جدول ۳ آورده شده است. با توجه به بیشترین همبستگی بین عملکرد در شرایط عادی و در شرایط تنش خشکی با شاخص‌های GMP، STI و MP، لذا از این شاخص‌ها استفاده شد. همبستگی معنی‌دار بین برخی شاخص‌های تحمل با عملکرد در شرایط بدون تنش و تنش خشکی در تحقیقات پیشین نیز بر روی برنج مشاهده شده بود. Erfani *et al.* (2013) با بررسی ۲۶ نژادگان برنج تحت رژیم‌های مختلف آبیاری نشان داد، شاخص‌های MP، HM، GMP و STI را که همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه در هر دو سطح تنش و بدون تنش داشتند، به‌عنوان بهترین شاخص‌ها برای گزینش نژادگان‌های برنج متحمل به خشکی معرفی کردند. Ghiasy Oskoee (2012)

www.SID.ir

Archive of SID

et al., نیز با بررسی ۱۵ نژادگان برنج در دو محیط بدون تنش و تنش خشکی دریافتند شاخص‌های STI، HARM، GMP و MP با داشتن ارتباط معنی‌دار با عملکرد می‌توانند نژادگان‌های متحمل‌تر و با عملکرد بالاتر را شناسایی کنند. Safaei Chaeikar *et al.* (2008) با بررسی ۴۹ نژادگان برنج در شرایط تنش خشکی پایان فصل اظهار داشتند شاخص‌های MP، GMP، HM و STI همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه در هر دو شرایط تنش و بدون تنش دارند و از آن‌ها به‌عنوان شاخص‌های برتر برای گزینش رقم‌های متحمل و پرمحصول‌تر استفاده کردند. همبستگی بین شاخص‌ها با عملکرد دانه در شرایط بدون تنش و تنش، می‌تواند یک معیار مناسب برای ارزیابی و غربال نژادگان‌ها استفاده شود. به باور Fernandez (1992) شاخص‌هایی که تنوع ژنتیکی بین نژادگان‌ها داشته و ضمن داشتن وراثت‌پذیری در هر دو محیط همبستگی قابل توجهی با عملکرد داشته باشند می‌توانند در گزینش نژادگان‌های با عملکرد بالاتر موفق باشند.

جدول ۳. ضریب‌های همبستگی بین شاخص‌های تحمل و حساسیت با عملکرد دانهٔ رگه‌ها در شرایط بدون تنش و تنش خشکی

Table 3. Correlation coefficients between sensitivity and tolerance indices with grain yield of rice lines under normal and drought stress conditions

	GMP	STI	MP	SSI	TOL	YSI
Yield under normal condition	.899**	.894**	.893**	.359**	.335**	-.359**
Yield under drought stress condition	.906**	.870**	.913**	-.477**	-.518**	.477**

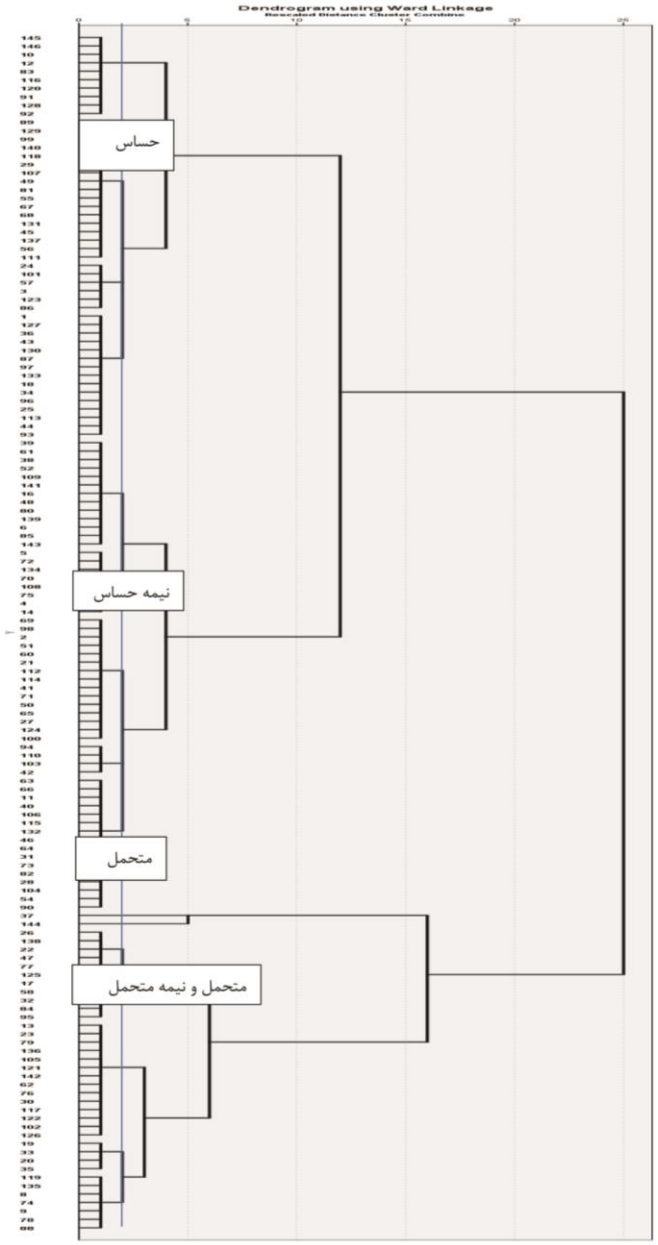
تجزیهٔ خوشه‌ای بر پایهٔ شاخص‌های تحمل

شکل (۱) نمودار درختی به‌دست‌آمده از تجزیهٔ خوشه‌ای رگه‌ها بر پایهٔ شاخص‌های GMP، STI و MP به روش Ward را نشان می‌دهد. بررسی این نمودار با در نظر گرفتن جایگاه‌های برش متفاوت نشان داد، درصورتی‌که جایگاه برش در نمودار محلی باشد که چهار گروه به دست آید، تفکیک رگه‌های متحمل و حساس میسر خواهد بود. آزمون تجزیهٔ تابع تشخیص برای بررسی وجود اختلاف بین چهار گروه حاصل با آمارهٔ لاندای ویلک برابر با ۰/۶۸۱ و معنی‌دار ($P<0.001$) به دست آمد. یک گروه کوچک دو عضوی به همراه گروه ۳۶ عضوی (متشکل از دو زیرگروه ۱۱ عضوی و ۲۵ عضوی)، شامل رگه‌هایی بودند که مقادیر شاخص‌های GMP، STI و MP، در آن‌ها بیش از دیگر گروه‌ها و میانگین کل بود. دو رگه و در مرتبهٔ بعدی زیرگروه ۱۱ عضوی، درمجموع بر پایهٔ شاخص‌های مورد بررسی متحمل‌ترین رگه‌ها به شمار آمدند. این رگه‌ها عبارت بودند از رگه‌های شماره ۱۷، ۲۲، ۲۶، ۳۲، ۴۷، ۵۸، ۷۷، ۸۴، ۹۵، ۱۲۵، ۱۳۸ و دو رگهٔ ۳۷ و ۱۴۴. از بین این رگه‌ها، رگهٔ ۳۷ با داشتن عملکرد ۶ و ۴/۹ تن در هکتار به ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش خشکی به‌عنوان برترین رگه شناسایی شد. میانگین عملکرد ۱۳ رگهٔ یادشده در شرایط بدون تنش و تنش خشکی به ترتیب ۵/۰۸۶ و ۴/۶۷۸ تن در هکتار به دست آمد. زیرگروه دیگر با ۲۵ عضو، زیرگروه نیمه متحمل نام‌گذاری شد چون میانگین شاخص‌ها برای این زیرگروه، از میانگین کل بالاتر، اما از ۱۳ رگهٔ نامبرده کمتر بودند. میانگین عملکرد ۲۵ رگهٔ این زیرگروه در شرایط بدون تنش و تنش خشکی به ترتیب ۴/۷۹۹ و ۴/۴۷۷ تن در هکتار به دست آمد. دو گروه بزرگ دیگر به ترتیب با ۴۸ و ۵۶ رگه شامل رگه‌های با عملکرد کمتر در شرایط عادی و تنش خشکی و یا در هر دو محیط بودند و در نتیجه بر پایهٔ شاخص‌های تحمل به ترتیب گروه‌های حساس و نیمه حساس نام گرفتند. گروه ۴۸ عضوی از لحاظ میانگین شاخص‌ها کمترین مقادیر را به خود اختصاص داد. بنابراین حساس‌ترین رگه‌ها با کمترین عملکرد در این گروه قرار گرفتند. میانگین عملکرد ۴۸ رگهٔ این گروه در شرایط بدون تنش و تنش خشکی به ترتیب ۱/۸۵۵ و ۱/۱۵۳ تن در هکتار به دست آمد. پس از این گروه، ۵۶ رگهٔ گروه دیگر در مرتبهٔ بعدی قرار گرفتند. این گروه (نیمه حساس) از لحاظ شاخص‌ها برتر از گروه حساس بودند اما از دیگر گروه‌ها و میانگین کل گروه‌ها کمتر بودند. میانگین این گروه ۵۶ عضوی در شرایط بدون تنش و تنش خشکی به ترتیب ۳/۰۹۲ و ۲/۰۳۸ تن در هکتار به دست آمد. شایان یادآوری است، توسعهٔ یک جمعیت اصلاحی متفرق از منشأ تلاقی هدفمند و دستیابی به رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب با دامنه‌ای گسترده از تحمل به تنش خشکی، فرصت مناسبی را برای شناسایی

www.SID.ir

Archive of SID

رگه‌های متحمل و حساس به خشکی فراهم می‌کند. جمعیت رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب مورد بررسی با توجه به تفاوت بارز والدین (شاه‌پسند و IR28) در تحمل به تنش خشکی، چنین ویژگی را داشت. توسعهٔ جمعیت‌های اصلاحی که با استفادهٔ تلاقی بین رقم‌های متحمل و رقم‌های حساس به تنش خشکی با عملکرد بالا تشکیل شده باشد، در ترکیب پتانسیل عملکرد بالا و تحمل به خشکی بسیار مؤثر است (Kumar *et al.*, 2009; Dixit *et al.*, 2014).



شکل ۱. نمودار درختی به‌دست‌آمده از تجزیهٔ خوشه‌ای رگه‌های برنج به روش Ward بر پایهٔ شاخص‌های تحمل و عملکرد بوته در شرایط بدون تنش و تنش خشکی.

Fig. 1. Dendrogram derived from cluster analysis of rice lines by Ward method based on tolerance indices under normal and drought stress.

در تحقیقات برنج از شاخص‌های تحمل و حساسیت برای شناسایی رقم‌های با عملکرد بیشتر و متحمل‌تر استفاده شده است. Ghiasy Oskoee *et al.* (2012) با بررسی ۱۵ نژادگان برنج در دو محیط بدون تنش و تنش خشکی با استفاده از تجزیهٔ نمودار دووجهی (بای پلات) و شاخص‌های تحمل، نژادگان‌های گرده، سرخو، سنگ جو،

www.SID.ir

Archive of SID

IR83752-B-B123، طام امیری و طارم محلی به‌عنوان نژادگان‌های دارای عملکرد بالا و متحمل به خشکی معرفی شدند. Karim Koshteh and Sabouri (2015) با انجام تحقیقی روی رقم‌های برنج با استفاده از شاخص‌های تحمل و حساسیت اعلام کردند، رقم‌های سپیدرود و طارم محلی و نژادگان هوازی IR83752-B-B123 که بیشترین میزان عملکرد دانه را در هر دو شرایط محیطی داشتند و شاخص تحمل به تنش بالایی به دست آوردند، به‌عنوان نژادگان‌های متحمل معرفی شدند.

انتخاب تودهٔ رگه‌های برتر و ضعیف‌تر بر پایهٔ عملکرد

با در نظر گرفتن توزیع داده‌های مربوط عملکرد رگه‌ها به‌صورت یک توزیع عادی، به‌منظور تعیین رگه‌های برتر و ضعیف‌تر از حدود ۱۰-۱۵ درصد انتهای توزیع استفاده شد. در شرایط بدون تنش برترین رگه‌ها عبارت بودند از رگه-های ۴، ۸، ۹، ۱۴، ۱۹، ۲۰، ۳۳، ۳۵، ۳۷، ۷۴، ۷۸، ۸۸، ۱۱۹، ۱۳۵ و ۱۴۴ که میانگین عملکردشان برابر با ۵/۶۵ تن در هکتار بود و در شرایط تنش خشکی رگه‌های ۱۷، ۳۲، ۳۷، ۴۷، ۵۸، ۷۷، ۸۴، ۹۵، ۱۲۵ بالاترین عملکرد را به خود اختصاص دادند و میانگین عملکرد این رگه‌ها در این شرایط برابر با ۴/۶۷ تن در هکتار بود. شماری از این رگه‌ها درمجموع رگه‌های برتر از لحاظ شاخص نیز شناسایی شدند و عبارت بودند از ۱۷، ۳۲، ۳۷، ۴۷، ۵۸، ۷۷، ۸۴، ۹۵، ۱۲۵ و ۱۴۴. میزان توارث‌پذیری عمومی و پیشرفت ژنتیکی عملکرد در شرایط عادی به ترتیب ۶۷/۴۳ درصد و ۳۵/۰۱ و در شرایط تنش خشکی میزان توارث‌پذیری عمومی و پیشرفت ژنتیکی عملکرد به ترتیب ۷۴/۸۳ درصد و ۳۹/۸۸ برآورد شد. در مقابل ضعیف‌ترین رگه‌ها از لحاظ عملکرد در شرایط بدون تنش رگه‌های۱۰، ۱۲، ۴۲، ۴۵، ۹۲، ۱۱۱، ۱۳۷، ۹۱ و ۱۲۸ و در شرایط تنش خشکی رگه‌های ۱۰، ۹۱، ۱۲۰، ۱۲۸، ۱۲۹، ۱۴۶، ۸۹، ۱۱۶، ۱۴۳ و ۹۲ کمترین عملکرد را داشتند. پس از تعیین این رگه‌ها، که درمجموع ۳۷ رگه از ۱۴۲ رگه را شامل می‌شد، ارزیابی نژادگانی روی رگه‌های برگزیده انجام شد.

تجزیهٔ خوشه‌ای بر پایهٔ اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره

پس از ارزیابی اولیهٔ والدین جمعیت (رقم شاه‌پسند و IR28) با همهٔ نشانگرهای ریزماهوارهٔ پیوسته با QTLهای بزرگ اثر مرتبط با خشکی مشخص شد از ۲۶ نشانگر ریزماهواره، شمار ۱۳ نشانگر چندشکل بودند. این نشانگرها عبارت بودند از RM7، RM190، RM212، RM231، RM302، RM431، RM493، RM510، RM3805، RM10793، RM11943، RM12091، و RM19367 که از این نشانگرهای چندشکل شناسایی‌شده برای ارزیابی نژادگانی رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب منتخب استفاده شد. دندروگرام به‌دست‌آمده از تجزیهٔ خوشه‌ای اطلاعات نژادگانی رگه‌ها، بر پایهٔ ضریب سازگاری ساده و روش اتصال همسایگی به‌صورت نمایش تابشی در شکل ۲ ارائه شده است. در صورتی که سازگاری خویشاوندی رگه‌ها از دو جنبهٔ عملکرد و نژادگان در نظر گرفته شود شماری از رگه-ها تعیین شدند که افزون بر اینکه از لحاظ ژنتیکی نزدیکی بالایی با رقم متحمل داشتند، با توجه به نتایج ارزیابی پدیدگانی، این رگه‌ها نیز عملکرد خوبی در شرایط عادی و یا تنش خشکی و یا حتی هر دو شرایط از خود نشان دادند. رگه‌های ۴، ۸، ۱۹، ۲۰، ۳۳، ۳۷، ۸۸، ۱۱۹ و ۱۳۵ در شرایط عادی و رگه‌های ۱۷، ۳۲، ۳۷، ۴۷، ۵۸، ۷۷، ۸۴، ۹۵ و ۱۲۵ در شرایط تنش خشکی عملکردهای بالایی داشتند و از لحاظ نژادگانی نیز نزدیکی قابل توجهی با والد شاه‌پسند نشان دادند به‌طوری‌که در یک گروه قرار گرفتند و در مقابل رگه‌های ۱۲، ۴۲، ۹۲، ۱۱۱، ۱۳۷ و ۹۱ در شرایط عادی و رگه‌های ۹۱، ۱۲۹، ۸۹، ۱۱۶ و ۹۲ در شرایط تنش خشکی به‌عنوان ضعیف‌ترین رگه‌ها شناخته شدند چون کمترین عملکرد را داشتند و از نظر نژادگانی نیز نزدیکی بالایی با رگهٔ حساس IR28 از خود نشان دادند و درمجموع در یک گروه واقع شدند.

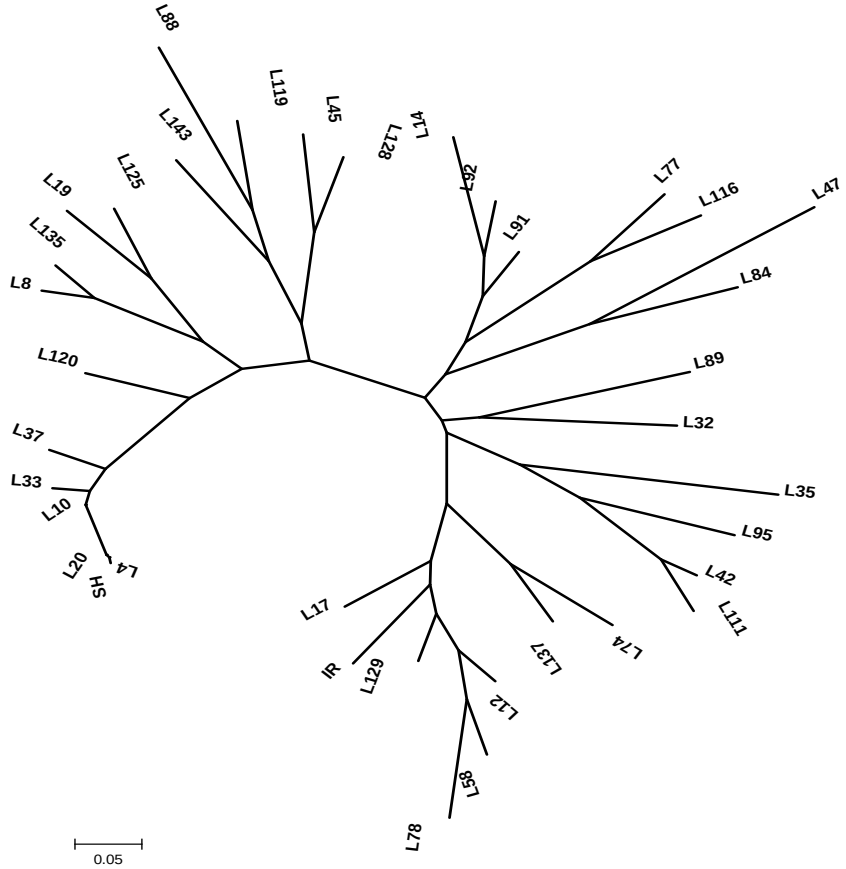
تجزیهٔ رگرسیونی بین عملکرد بوته و شاخص‌های تحمل به تنش با نشانگرهای ریزماهواره

به‌منظور تعیین نشانگرهای ریزماهوارهٔ مرتبط با تنش خشکی در این پژوهش، تجزیهٔ رگرسیونی بین صفات عملکرد در دو شرایط و همچنین سه شاخص مورد استفاده به‌عنوان متغیرهای وابسته و نشانگرهای ریزماهواره به‌عنوان متغیرهای مستقل انجام شد. نتایج این تجزیه در جدول ۴ آورده شده است. از جمله بررسی‌هایی که در آن‌ها برای شاخص‌های تحمل، QTL گزارش شده باشد می‌توان به پژوهش Tiwari *et al.*, (2016) اشاره کرد که با استفاده از

www.SID.ir

Archive of SID

یک جمعیت رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب برنج به‌دست‌آمده از تلاقی CSR11 و MI48 در شرایط تنش شوری اشاره کرد که شمار سه QTL برای شاخص تحمل SSI به نام‌های qSSIGY2.1، qSSIGY2.2 و qSSIGY2.3 با استفاده از نشانگرهای SNP روی کروموزوم ۲ شناسایی کردند. همچنین Hu *et al.*, (2007) با استفاده از ۱۹۵ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب به‌دست‌آمده از تلاقی بین Zhenshan97B و IRAT109 و نشانگرهای ریزماهواره شمار چهار QTL برای شاخص تحمل به خشکی (نسبت عملکرد دانه در شرایط تنش به عملکرد دانه در شرایط عادی) به نام‌های qDRI1، qDRI4، qDRI5 و qDRI9 به ترتیب روی کروموزوم‌های ۱، ۴، ۵ و ۹ شناسایی کردند.



شکل ۲. نمودار درختی به‌دست‌آمده از اطلاعات ژنتیکی رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب برنج به روش اتصال همسایگی و ضریب جاکارد. والدIR28 ، با IR و والد شاه‌پسند با SH نشان داده شده است.

Figure 2. Dendrogram derived from genetic information of rice RILs using Neighbor-Joining and Jaccard coefficient. Parent IR28 and Shahpasand showed by IR and SH.

بنا بر نتایج مندرج در جدول ۴، نشانگرهایی شناسایی شدند که افزون بر ارتباط با عملکرد با شاخص‌های مورد بررسی نیز ارتباط معنی‌داری داشتند، به‌عبارت‌دیگر با نسبت‌های ریاضی مختلف عملکرد در هر دو شرایط که در حقیقت عملکرد در هر دو شرایط را در بر دارد، ارتباط داشتند، می‌توان انتظار داشت این نشانگرها اهمیت بسیار بالایی در برنامه‌های اصلاحی عملکرد در شرایط تنش خشکی داشته باشند. در بررسی Rahimi *et al.* (2014) در ارتباط با مکان‌یابی QTLهای عملکرد در شرایط عادی و تنش خشکی و شاخص‌های تحمل، با استفاده از جمعیت F5 به‌دست‌آمده از تلاقی دو رقم برنج ایرانی غریب در سپیدرورد در شرایط تنش خشکی، شماری از QTLهایی که برای شاخص‌ها شناسایی‌شده بود در همان موقعیت یا در نواحی ژنگانی نزدیک به QTLهایی بود که برای عملکرد دانه ردیابی شده بود. آن‌ها این QTLها را برای برنامه‌های بهنژادی و انتخاب به کمک نشانگر بسیار ارزشمند گزارش کردند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. ضریب تبیین مدل و ضریب رگرسیون استانداردشدهٔ نشانگرهای ریزماهواره معنی‌دار مرتبط با عملکرد و شاخص‌های تحمل

Table 4. Coefficient of determination model and standardized regression coefficient of significant microsatellite markers linked to yield and tolerance indices.

Dependent variable	Marker-allele	Standardized coefficient Beta	R^2 model
Yield under normal conditions	RM7	0.514**	
	RM231	0.409*	
	RM302	-0.353*	
	RM10793	-0.312*	0.291
Yield under drought conditions	RM7	0.633**	
	RM231	0.304*	
	RM302	-0.439**	
	RM12091	-0.536**	
	RM19367	0.275*	0.514
GMP	RM7	0.569**	
	RM302	-0.418**	
	RM12091	-0.553**	0.451
STI	RM7	0.434*	
	RM212	-0.350*	
	RM231	0.628**	
	RM10793	-0.336*	0.311
MP	RM7	0.580**	
	RM302	-0.413**	
	RM12091	-0.548**	0.448

با دقت در جدول ۴ مشاهده می‌شود، نشانگر RM7 برای همهٔ متغیرهای وابسته و RM231 برای عملکرد در هر دو شرایط و STI ، معنی‌دار بود. در تحقیق Vikram *et al.* (2011) با استفاده از جمعیت مکان‌یابی N22/Swarna و همچنین Yadaw *et al* (2013) با استفاده از IR77298-5-6-18/2*Sabitri، QTL بزرگ‌اثری روی بازوی کوچک کروموزوم ۳ شناسایی شد که بخش قابل توجهی از تغییرپذیری‌های پدیدگانی وزن دانه را در شرایط خشکی توجیه کرد این در مجاورت نشانگر RM231 قرار داشت که در این تحقیق نیز از نشانگرهای معنی‌دار مهم شناسایی شد. Verma *et al.* (2014) برای پیدا کردن QTLهای بزرگ اثر کنترل‌کنندهٔ عملکرد در شرایط تنش آبی در مدت چند سال، روی کروموزوم ۱ qDTY1.1 را شناسایی کردند که در مجاورت نشانگر RM302 قرار داشت، این نشانگر در این پژوهش برای عملکرد در هر دو شرایط، GMP و MP حضور پررنگ‌تری درمجموع نشانگرهای معنی‌دار داشت. همچنین Verma *et al.*, (2014) روی کروموزوم ۳، qDTY 3.3 را در مجاورت RM7 ردیابی کردند که در این پژوهش برای همهٔ متغیرها، یک نشانگر آگاهی‌بخش مهم تعیین شد. این نشانگر در ارتباط با مؤلفه‌های جوانه‌زنی هم ارتباط معنی‌داری نشان داد (Diwan *et al.*, 2013) و در درجهٔ بعدی اهمیت، نشانگرهای RM12091، RM19367 و RM10793 قرار داشتند. باید خاطرنشان کرد، وجود نشانگرهای معنی‌دار در چند رابطهٔ رگرسیونی دور از انتظار نیست چون بین این متغیرها همبستگی قابل توجهی وجود دارد. افزون بر اینکه، تبیین قابل توجه تغییرپذیری متغیرهای وابسته توسط نشانگرها نشان می‌دهد در تأیید بررسی‌های پیشین، این نشانگرها در این جمعیت نیز می‌توانند نامزد مناسبی برای انتخاب به کمک نشانگر باشند. نشانگر RM12091 در تحقیق Ghimire *et al.*, (2012) با استفاده از دو جمعیت مکان‌یابی رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب مشتق از تلاقی Dhagaddeshi/Swarna و Dhagaddeshi/IR64 در دو فصل زراعی در شرایط عادی و در شرایط تنش خشکی، در مجاورت QTL بزرگ اثر qDTY1.1 برای عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی گزارش شده بود. همچنین نشانگر

www.SID.ir

Archive of SID

RM19367 توسط Venuprasad *et al.* (2012a) در سه زمینهٔ ژنتیکی Apo/Swarna، Apo/IR72 و Vandana/IR72 در مجاورت QTL بزرگ اثر qDTY6.1 معرفی شده بود. در بررسی‌های مختلف QTLهایی که در چندین زمینهٔ ژنتیکی شناسایی شده‌اند و یا چندین محیط شناسایی شده‌اند نه‌تنها برای بهبود رقم‌های حساس به خشکی بلکه برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) به‌منظور توسعهٔ رقم‌های متحمل به خشکی و با عملکرد بالا نیز کاربرد دارند (Dixit *et al.*, 2014).

نتیجه‌گیری کلی

الگوی بارش‌های غیرقابل پیش‌بینی، کاهش منبع‌های طبیعی آب شیرین، و افزایش خشک‌سالی در سال‌های اخیر دلایلی هستند که با رشد روزافزون جمعیت، توجه به بهبود رقم‌های برنج نسبت به تحمل به تنش خشکی را بیش‌ازپیش ضروری می‌کند. بررسی ۱۴۲ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب برنج مشتق از تلاقی شاه‌پسند و IR28 با استفاده از شاخص‌های تحمل و حساسیت نشان داد، سه شاخص GMP، STI و MP برترین شاخص‌ها برای تعیین رگه‌های متحمل به خشکی هستند. تجزیهٔ خوشه‌ای بر پایهٔ شاخص‌های تحمل همهٔ رگه‌ها را به چهار گروه تقسیم کرد. بر پایهٔ این تقسیم‌بندی شمار ۱۳ رگه توانستند، برتر بودن خود را با کسب مقادیر شاخص‌های بالاتر نشان دهند. از سوی دیگر بررسی برترین و ضعیف‌ترین رگه‌ها از لحاظ نشانگرهای ریزماهوارهٔ پیوسته به خشکی نشان داد، رگه‌های ۴، ۸، ۱۹، ۲۰، ۳۳، ۳۷، ۸۸، ۱۱۹، ۱۳۵ و ۱۴۴ که در شرایط عادی و رگه‌های ۱۷، ۳۲، ۳۷، ۴۷، ۵۸، ۷۷، ۸۴، ۹۵، ۱۲۵ و ۱۴۴ که در شرایط تنش خشکی عملکرد بالایی داشتند بر پایهٔ ارزیابی نژادگانی نیز نزدیکی قابل توجهی با والد متحمل شاه‌پسند نشان دادند. همچنین رگهٔ ۳۷ با داشتن عملکرد ۶ و ۴/۹ تن در هکتار به ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش خشکی به‌عنوان برترین رگه شناسایی شد. نتایج تجزیهٔ ارتباط نشان داد، شماری از نشانگرهای SSR مورد استفاده در این تحقیق از جمله RM7 و RM231 در توجیه تغییرپذیری‌های عملکرد و شاخص‌های تحمل نقش قابل توجهی داشتند.

REFERENCES

1. Bernier, J., Kumar, A., Ramaiah, V., Spaner, D. & Atlin, G. (2007). A large-effect QTL for grain yield under reproductive-stage drought stress in upland rice. *Journal of Crop Science*. 47(2), 507–518.
2. Bouslama, M. & Schapaugh, W.T. (1984). Stress tolerance in soybean. Part 1: Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science*. 24, 933-937.
3. Burton, J. & L. Miranda. (2013). Soybean Improvement: Achievements and Challenges. *Ratarstvo i Povrtarstvo*. 50(2), 44-51.
4. Dixit, Sh., Singh, A. & Kumar, A. (2014). Rice Breeding for High Grain Yield under Drought: A Strategic Solution to a Complex Problem. *International Journal of Agronomy*, 1-15.
5. Diwan, J. M., Channbyregowda, V., Shenoy Salimath, P. & Bhat, R. (2013). Molecular mapping of early vigour related QTLs in rice. *Research Journal of Biology*. 1, 24-30.
6. Emam, E. (2007). Cereal Production. Shiraz University Press. pp190.
7. Erfani, F., Shokrpour, M., Momeni, A. & Erfani. A. (2013). Evaluation of drought tolerance in rice varieties using yield-based indices at vegetative and reproductive stage. *Sustainable Agriculture and Production Science*, 4, 135-148.
8. Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. (1996). Introduction to Quantitative Genetics. 4th edition. Longman, Harlow, UK.
9. Fernandez, G.C. (1992). Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo, C. G. (ed.). Proceedings of the *International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crop to Temperature and Water Stress, Taiwan*, 13-18 August, pp. 257-270.
10. Fischer, R.A. & Maurer. R. (1978). Drought resistance in spring wheat Cultivars. I. Grain yield response. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 897-912.
11. Freeling, M. (2001) Grasses as a single genetic system reassessment (2001). *Plant Physiology* 125, 1191-1197.
12. Ghiasy Oskoee, M., Farahbakhsh, H., Sabouri, H. & Mohamadi Nejad. Gh. (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.
13. Ghimire, K.H., Quiatchon, L.A., Vikram, P., Mallikarjuna Swamy, B.P., Dixit, S., Ahmed, H., Hernandez, J.E., Borromeo, T.H., Kumar, A. (2012). Identification and mapping of a QTL (qDTY 1.1) with a consistent effect on grain yield under drought. *Field Crops Research*, 131, 88-96.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Hu, S., Yang, H., Zou, G., Liu, H., Liu, G., Mei, H., Cai, R., Li, M. & Luo, L. (2007). Relationship between coleoptile length and drought resistance and their QTL mapping in rice. *Rice Science*, 14, 13–20.
15. Karim Koshteh, R. & Sabouri. H. (2015). Rice drought-tolerant genotypes recognition using multivariate analysis. *Agroecology Journal*. 11(4), 13-24.
16. Karimi, H. (2008). *Crops.* Tehran University. Sixth Edition. (In Farsi).
17. Kumar, A., Verulkar, S.B., Dixit, S, Chauhan, B., Bernier, J., Venuprasad, R., Zhao, D. & Shrivastava, M.N. (2009). Yield and yield-attributing traits of rice (*Oryza sativa* L.) under lowland drought and suitability of early vigor as a selection criterion. *Field Crops Research* 114, 99–107.
18. Mishra, K.K., Vikram, P., Yadaw, R.B., Swamy, B.P.M., Dixit, S., Sta Cruz, M.T., Maturan, P., Marker, S. & Kumar, A. (2013). qDTY 12.1: a locus with a consistent effect on grain yield under drought in rice. *BMC Genetics.* 14, 12.
19. Nicholas, F.W. (2006). Discovery, validation, and delivery of DNA markers. *Australian Journal of Experimental Agriculture.* 46, 155-158.
20. Price, A.H. & Courtois, B. (1999). Mapping QTLs associated with drought resistance in rice: progress, problems and prospects. *Plant Growth Regulation.* 29, 123–133.
21. Rahimi, M, Rabiei, B., Dehghani, H. & Tarang, A.R. (2014). Mapping main and epistatic QTLs for drought tolerance indices in F_5 population of rice. *Modern Genetics Journal*. 8 (4), 435-448.
22. Rosielle, A.A. & Hamblin, J. (1981). Theoretical aspect of selection for yield in stress and non- stress environment. *Corp Science.* 21, 943-946.
23. Sabouri, H., Sabouri, A. & Khatami Nejad, R. (2012). Mapping QTLs linked to some traits related to drought stress in rice. *Journal of Crop Production and Processing*. 2 (4), 1-12.
24. Saghai Mroof, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P, Zhang, Q. & Allard, R.W. (1994). Extraordinarily polymorphic DNA in barely species diversity, chromosomal location, and population dynamics, *Proceeding of the Natioal Academy of Sceinces. USA.* 91, 5466-5570.
25. Safaei-Chaeikar, S., Rabiei, B., Samizadeh, H. & Esfahani, M. (2008). Evaluation of tolerance to terminal drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Iranian Journal of Crop Sciences.* 9 (4), 315-331.(In Farsi)
26. Singh, V.P., Singh, R.K., Singh, B.B. & Zeigler, R.S. (eds). (1996). Physiology of Stress Tolerance in Rice: *Proceedings of the International Conference on Stress Physiology of Rice*, 28 Feb-5 March 1994, Lucknow, U.P., India, 239 p.
27. Switzer, R.C., Merril, C.R. & Shifrin, S. (1979). A highly sensitive silver stain for detecting proteins and peptides in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 98(1), 231-237.
28. Thomson, M.J., de Ocampo M., Egdane, J., Akhlasor Rahman, M., Godwin Sajise, A., Adorada, D.L., Tumimbang-Raiz, E., Blumwald, E., Seraj, Z.I., Singh, R.K., Gregorio, G.B. & Ismail, A.M. (2010). Characterizing the Saltol quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice.* 3(2), 148-160.
29. Tiwari, S., SL, K., Kumar, V., Singh, B., Rao, A., Mithra SV, A., Rai, V., Singh, A.K. & Singh, N.K. (2016). Mapping QTLs for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by bulked segregant analysis of recombinant inbred lines using 50K SNP chip. *PLoS ONE* 11(4), 1-19.
30. Venuprasad, R., Bool, M.E., Quiatchon, L. & Atlin, G.N. (2012a). A QTL for rice grain yield in aerobic environments with large effects in three genetic backgrounds. *Theoretical and Applied Genetics*. 124, 323-332.
31. Venuprasad, R., Bool, M.E., Quiatchon, L., Sta Cruz, M.T., Amante, M. & Atlin, G.N. (2012b). A large effect QTL for rice grain yield under upland drought stress on chromosome 1. *Molecular Breeding* 30, 535-547.
32. Venuprasad, R., Dalid, C.O., Del Valle, M., Zhao, D., Espiritu, M., Sta Cruz, M.T., Amante, M., Kumar, A. & Atlin, G.N. (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, 177–190.
33. Venuprasad, R., Sta Cruz, M.T., Amante, M., Magbanua, R., Kumar, A. & Atlin, G.N. (2008). Response to two cycles of divergent selection for grain yield under drought stress in four rice breeding populations. *Field Crops Research*, 107, 232–244.
34. Verma, S.K., Saxena, R.R., Saxena, R.R., Xalxo, M.S. & Verulkar S.B. (2014b). QTL for grain yield under water stress and non-stress conditions over years in rice (*Oryza sativa* L.). *Australian Journal of Crop Science.* 8(6), 916-926.
35. Vikram, P., Mallikarjuna Swamy, B.P., Dixit, S., Ahmed, H.U., Sta Cruz, M.T., Singh, A.K. & Kumar, A. (2011). qDTY 1.1, a major QTL for rice grain yield under reproductive-stage drought stress with a consistent effect in multiple elite genetic backgrounds. *BMC Genetics.* 12, 89.
36. Wang, X., Zhu, J., Mansueto, L. & Bruskiewich, R. (2005). Identification of candidate genes for drought stress tolerance in rice by the integration of a genetic (QTL) map with the rice genome physical map. *Journal of Zhejiang University Science B.* 6(5), 382-388.
37. Yadaw, R.B., Dixit, S., Raman, A., Mishra, K.K., Vikram, P., Swamy, B.P.M., Sta Cruz, M.T., Maturan, P.T., Pandey, M. & Kumar, A. (2013). A QTL for high grain yield under lowland drought in the background of popular rice variety Sabitri from Nepal. *Field Crops Research*. 144, 281–287.

www.SID.ir