Archive of SID

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دوازدهم، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۸
۱۰۰۳-۱۰۱۶
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.1665.1373

مقاله پژوهشی

تجزیه ارتباط نشانگرهای پیوسته با QTLهای مرتبط با تحمل به خشکی در تعدادی از لاین‌ها و ارقام برنج

رمضان قلی‌زاده سرستی[۱]، حسین صبوری[۲*]، علی راحمی کاریزکی[۳]، حسین‌علی فلاحی[۴]، محسن رضایی[۱]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی در کشاورزی، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس
۲. دکتری ژنتیک بیومتری، دانشیار گروه تولیدات گیاهی، عضو هیئت‌علمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس
۳. دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی، استادیار گروه تولیدات گیاهی، عضو هیئت‌علمی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس
۴. استادیار بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش ترویج کشاورزی، ساری

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۱۸

چکیده

به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس برنج به تنش خشکی، آزمایشی با ۴۸ژنوتیپ برنج در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو محیط بدون تنش (غرقاب) و تنش خشکی در سال زراعی ۱۳۹۵ در شهرستان بابل موردمطالعه قرار گرفت. بیشترین میانگین عملکرد در شرایط نرمال متعلق به ژنوتیپ‌های Azucena.Bala.91 و AH.NA.45 به ترتیب با ۷/۶۷ و ۷/۴۸ تن در هکتار بود. در شرایط تنش بیشترین میانگین متعلق به ژنوتیپ‌های AH.NA.112 ، AH.NA.45 و IR30 به ترتیب با ۵/۹۶۸ و ۶/۲۱۹ و ۵/۵۲۴ تن در هکتار بود. برای بررسی تنوع مولکولی از ۹ نشانگر ریزماهواره استفاده شد درمجموع ۳۱ آلل با میانگین ۳/۴۴ آلل در هر مکان ژنی مشاهده گردید. میانگین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) ۰/۵۱ برآورد شد که نشانگرهای RM22وRM12093 با ۰/۶۸ بیشترین و RM324 با ۰/۱۴ کمترین مقدار را برای این شاخص نشان دادند. نشانگر RM324 با ۰/۱۵ کمترین تنوع ژنی و نشانگر RM12093 با ۰/۷۳ بیشترین تنوع ژنی را داشتند از ۹ نشانگر ریزماهواره نشانگرهای RM22 و RM12093 با دارا بودن بیشترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی و تنوع ژنی و تعداد آلل در این مطالعه به‌عنوان بهترین نشانگر جهت بررسی تنوع ژنی روی برنج شناسایی شد. در شرایط نرمال تعداد خوشه و تعداد روز تا گلدهی و در شرایط تنش خشکی وزن خوشه با بیشترین نشانگرهای مثبت را نشان دادند. در شرایط نرمال تعداد خوشه با هفت نشانگر و در شرایط تنش خشکی طول خوشه، طول ساقه، طول برگ پرچم، طول دانه چهار نشانگر بیشترین نشانگرهای مثبت را نشان دادند. همچنین تجزیه هاپلوتایپی ژنوتیپ‌های به‌دست‌آمده را در ۲۵ گروه تقسیم‌بندی نمود. از نتایج این تحقیق می‌توان در برنامه‌های اصلاحی برای ایجاد جمعیتی با هتروزیگوسیتی بالا برای تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های برنج استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: **برنج، تجزیه ارتباط، تنش خشکی، نشانگرهای مولکولی**

مقدمه

برنج مانند برخی از گیاهان زراعی از قدیمی‌ترین نباتاتی است که در دنیا برای تهیه خوراک انسان کشت می‌گردید. تعیین نقطه یا نقاطی از جهان که در آن برنج به وجود آمده است در حال حاضر فوق‌العاده مشکل است اما می‌توان قبول کرد که ارقام زراعی از ارقام وحشی آن جداشده‌اند. ارقام وحشی در بین دو منطقه آسیا و آفریقا به‌طور فراوان وجود دارند و این دو منطقه را بایستی محل پیدایش برنج محسوب نمود (Amiri and Soleimani, 2005). برنج بعد از گندم مهم‌ترین و ضروری‌ترین ماده غذایی در جهان به‌حساب می‌آید و۴۰ تا ۵۰ درصد غذای مردم دنیا را تشکیل می‌دهد و

* نگارنده پاسخگو: حسین صبوری. پست الکترونیک: hos.sabouri@gmail.com.

www.SID.ir

Archive of SID

یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی است که در دنیا کشت و کار می‌شد. بیشترین مصرف برنج در قاره آسیا است و حدود ۹۰ درصد مصرف برنج در این قاره است و۸۰ درصد کالری روزانه مردم را تأمین می‌کند (Pirdashti et al., 2006). سطح زیر کشت برنج در جهان ۱۵۹۸۰۷۷۲۲ هکتار بوده و تولید برنج که بر مبنای شلتوک (Paddy) است ۷۴۰۹۶۱۴۴۵ تن و متوسط عملکرد این گیاه نیز برابر ۴۳۶۶/۶ کیلوگرم در هکتار است این آمار برای ایران ۵۵۶۷۸۷ هکتار برای سطح زیر کشت ۲۳۸۶۴۹۲ تن برای عملکرد و ۴۲۸۶۲ کیلوگرم در هکتار برای عملکرد است (FAO, 2016).

نقوی و همکاران (Naghavi et al., 2016) دریافتند که تنش خشکی هنگامی افزایش می‌یابد که میزان تبخیر بالای برگ‌ها از ظرفیت و توانایی ریشه‌ها برای جذب آب از خاک تجاوز نموده و فراتر رود. گیاهان مکانیسم‌های مختلفی را برای مقاومت در برابر خشکی به کار می‌برند که ازجمله این روش‌ها گریز یا فرار از خشکی است. مهم‌ترین عامل بروز تنش خشکی، کمبود رطوبت خاک است و عوامل دیگری مانند باد، دما، رطوبت نسبی، نوع خاک، تشعشع خورشیدی و برخی خصوصیات گیاهی که روی تعرق و جذب آب تأثیر دارند آن را تشدید یا تعدیل می‌کنند (Fischer and Wood, 1979). اهدائی و واینس (Ehdaie and Waines, 1993) بیان نمودند ژنوتیپ‌هایی که آب قابل‌دسترس را با کارایی بیشتری مصرف نموده و قادر به تحمل تنش خشکی باشند، یک هدف عمده برای افزایش عملکرد محصولات زراعی در محیط‌های مستعد تنش خشکی می‌باشند. لذا شناسایی صفات مرتبط با تحمل به خشکی می‌تواند در گزینش ژنوتیپ‌های سازگار به کار گرفته شود. رفتارهای سازگاری گیاه به تنش خشکی نقش مهمی در تحمل به تنش ایفا می‌کنند. این رفتارها توسط ژن‌ها کنترل و مهار می‌شود و می‌تواند تحت شرایط غیر تنش عمل کنند (Bouman and Toung, 2001).

آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم‌های گیاهی و تعیین روابط ژنتیکی مواد اصلاحی، اساس بسیاری از برنامه-های اصلاح نباتات است (Donini et al., 1998). از دیدگاه به‌نژادی تحمل به خشکی یک صفت پیچیده و کمی است و روش اندازه‌گیری مستقیمی برای سنجش آن وجود ندارد که این امر باعث مشکل شدن شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی می‌شود (Abdolshahi et al., 2010). برای این کار می‌توان از تجزیه ارتباط و هاپلوتایپی استفاده نمود. در تجزیه ارتباط رابطه بین ژنوتیپ و فنوتیپ گیاه مستقیماً برای شناسایی نواحی کروموزومی دخیل در کنترل صفت با استفاده از نامتعادل بودن پیوستگی موجود در جمعیت‌های طبیعی و مجموعه‌های ژرم‌پلاسم بررسی می‌شود (Buckler et al., 2002). به‌کارگیری هاپلوتایپ‌ها هم در بررسی ارتباط ژنتیکی نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این اهمیت، زمانی که قدرت اطلاع‌دهی نشانگرهای افراد کم بوده و یا زمانی که چندین نشانگر ژنتیکی در ژن منتخب وجود داشته باشد، نمود بیشتری خواهد داشت (Hosseinzadeh et al., 2012)؛ اما برای استفاده از دو تجزیه ارتباط و هاپلوتایپی نیاز به استفاده از نشانگر است. استفاده از نشانگرهای مولکولی جهت تعیین تنوع ژنتیکی و دسته‌بندی مواد ژنتیکی بهترین روش است زیرا تعیین تنوع بر اساس نشانگرهای مورفولوژیکی با توجه به اثرات متقابل محیط و ژنوتیپ بر فنوتیپ گیاهان، کارایی لازم را نخواهد داشت. نشانگرهای DNA به دو دسته مبتنی بر PCR و غیر مبتنی بر PCR تقسیم می-شوند که از نشانگرهای معمول مبتنی بر PCR می‌توانRAPD، AFLP وSSR را نام برد (Reddy et al., 2002).

با بررسی‌هایی که پرایس و همکاران (Price et al., 2000) روی QTLهای مرتبط با تحمل به خشکی انجام دادند QTLهایی برای مرفولوژی توزیع ریشه، اجتناب از خشکی، توانایی نفوذ ریشه در خاک، تنظیم اسمزی، هدایت روزنه‌ای، پیچیدگی برگ، پایداری غشای سلول، انباشتگی اسید آبسیزیک و چندین ویژگی فنولوژی دیگر کشف شد. تولی و همکاران (Tavalla et al., 2015) نیز گزارش کردند که تجزیه هاپلوتایپی، ۲۲ ژنوتیپ برنج را در قالب ۱۶ هاپلوتایپ مختلف قرار داده و هاپلوتایپ شماره ۸ که شامل ژنوتیپ‌های دیلمانی و IR25571 بود، بیشترین شباهت را به ژنوتیپ Bala داشته است؛ که نشان می‌دهد این ژنوتیپ‌ها همانند والد Bala واجد QTLهای کنترل‌کننده تحمل به خشکی باشند. لیموچی و همکاران (Limochi et al., 2017) با بررسی تأثیر کاهش دور آبیاری به‌عنوان تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه، به این نتیجه رسیدند که تحت شرایط تنش و مطلوب، میزان شاخص تحمل به تنش خشکی دانه پر، شاخص حساسیت به خشکی وزن دانه، شاخص تحمل به تنش و عملکرد دانه، شاخص خسارت خشکی، شاخص حساسیت به تنش، شاخص تحمل و میزان کاهش عملکرد

www.SID.ir

Archive of SID

ژنوتیپ‌های موردمطالعه تفاوت بسیار معنی‌داری با یکدیگر داشتند.

هدف از این آزمایش بررسی تنوع آللی، تجزیه ارتباط و هاپلوتایپ‌های نشانگرهای ریزماهواره پیوسته به ژن‌های تحمل به خشکی در برنج بود.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان آزمایش

مواد گیاهی مورد بررسی در این پژوهش که شامل ۴۸ رقم و لاین برنج بود؛ از موسسه تحقیقاتی برنج کشور، موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI) و لاین‌های ایجادشده در دانشگاه گنبدکاووس تهیه‌شده و در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در دو محیط جداگانه غرقاب (بدون تنش) و تنش خشکی از نظر تنوع صفات مورفولوژیک و ژنتیکی در سال زراعی ۱۳۹۵ در شهرستان بابل با طول جغرافیایی ۳۶ درجه ۲۷ دقیقه شمالی و عرض جغرافیایی ۳۹ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۷ متر از سطح دریا موردبررسی قرار گرفت. این منطقه از لحاظ آب و هوایی جزء اقلیم نیمه مدیترانه‌ای دارای تابستانی مرطوب و با حرارت بالا و بارندگی کم و زمستان معتدل با نزول‌های آسمانی فراوان است در تقسیم‌بندی اکولوژی زراعی ایران، آب‌وهوای منطقه سواحل خزر مدیترانه-ای است. نوسانات درجه حرارت از ۷ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد است. متوسط حداقل درجه حرارت در اردیبهشت بیش از ۱۰ درجه سانتی‌گراد و متوسط رطوبت نسبی در طول سال به دلیل تأثیرپذیری از دریای مازندران بالا بوده و غیر از ماه خرداد به بیش از ۸۰ درصد می‌رسد نزولات سالانه حدود ۸۰۰ میلی‌متر بوده که بیشتر آن مربوط به دوره غیر فصل آبیاری برنج از مهرماه تا دی‌ماه است میزان بارندگی از فروردین تا مردادماه ۱۷۷ میلی‌متر است. میزان تبخیر و تعرق با روش پنمن ۱۰۸۶ میلی‌متر در سال است که بیشترین مقدار آن حدود ۱۶۴ میلی‌متر در خرداد و تیر کمترین آن در آذرماه حدود ۲۸ میلی‌متر است. بافت خاک محل آزمایش از نوع لومی بود.

قبل از کاشت بذر در خزانه، محل خزانه با دقت بالا توسط تیلر شخم زده شد. بذرها در ۳۰ فروردین در داخل گلدان به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد بعد به مدت ۲۴ ساعت در محلول ۲ در هزار سلست به‌منظور ضدعفونی قرار گرفت. سپس بذرها را بدون آبکشی در داخل پارچه‌های نخی قرار داده شدند تا جوانه‌دار شوند. در این مدت، بذرها چندین بار به‌آرامی تکان داده شدند تا جوانه‌زنی به‌طور یکنواخت انجام شود و برای خشک نشدن بذرها، چندین بار آب‌پاشی انجام شد بعدازاینکه بذرها ۲ تا ۳ سانتی‌متر رشد کردند به داخل خزانه که دارای پوشش نایلونی بود انتقال یافت. خزانه به طریق ژاپنی احداث شد، بدین ترتیب که سطح خزانه بالاتر از جوی‌های آبیاری طرفین قرار می‌گیرد سپس آبیاری خزانه انجام شد و زمانی که سطح آن کاملاً مرطوب شد آب اضافی خارج گردید و بذور جوانه‌دار شده در سطح خزانه پاشیده شدند. هم‌زمان با رشد نشاها در خزانه اقدام به آماده‌سازی زمین اصلی شد. انتقال نشاها به زمین اصلی زمانی که طول آن‌ها به حدود ۳۰ سانتی‌متر رسید صورت گرفت با توجه به تحقیقات انجام‌شده توسط نگارندگان طرح و اطلاع از تعداد روز تا گلدهی و رسیدگی برای کلیه ارقام و لاین‌ها، نشاء ژنوتیپ‌ها به‌گونه‌ای انجام شد که همه آن‌ها در مرحله حداکثر پنجه‌زنی با تنش مواجه شوند بدین گونه که از زمان شروع مرحله جوانه‌دار کردن بذرها و انتقال آن‌ها به خزانه و مرحله نشا ژنوتیپ‌های زودرس دیرتر از ژنوتیپ‌های دیررس این مراحل را می‌گذراندند تا اعمال تنش برای همه ژنوتیپ‌های مورد آزمایش یکسان باشد که با انجام این کار تمامی ژنوتیپ-ها در زمان اعمال تنش در دوره رویشی یکسانی قرار داشتند.

آبیاری مزرعه در هر دو محیط تنش و غرقاب تا مرحله پنجه‌زنی ژنوتیپ‌ها به‌طور یکسان به‌طور غرقاب انجام شد. سپس برای ایجاد تنش، از ۴۰روز پس از نشاء، آبیاری قطع‌شده و با توجه به ظهور علائم تنش خشکی در گیاهان (لوله‌ای شدن برگ) و رطوبت خاک تا زمان رسیدگی فیزیولوژیک ۲ بار آبیاری انجام گرفت که حداقل فاصله زمانی دورهای آبیاری از هم برابر با ۲۵ روز بود.

اندازه واحدهای آزمایشی ۴/۵ مترمربع (ابعاد کرت ۱/۵×۳ متر) و با فاصله یک متر از یکدیگر در نظر گرفته شد. بعد از انتخاب تصادفی تیمارها به واحدهای آزمایشی، نشاء کاری به‌صورت ۴ بوته در هر کپه انجام گرفت. هر ژنوتیپ در ۵ ردیف با فاصله ۳۵ سانتی‌متری بین بوته‌ها و ۳۵ سانتی‌متری بین ردیف‌ها به طول ۱/۵ متر کشت شد.

صفات موردبررسی

در مرحله رسیدگی جهت تعیین عملکرد دانه از سطح یک مترمربع برداشت صورت گرفت و عملکرد دانه با رطوبت ۱۴ درصد محاسبه شد. سایر صفات موردمطالعه شامل وزن ۱۰۰ دانه (وزن صد دانه تصادفی در هر کرت برحسب گرم)، تعداد

www.SID.ir

Archive of SID

ساقه، تعداد دانه پر، تعداد دانه‌های پوک، ارتفاع بوته (ارتفاع بلندترین پنجه از ناحیه طوقه در سطح خاک تا نوک خوشه بدون احتساب ریشک برحسب سانتی‌متر)، طول خوشه، از زیر خوشه تا انتهای خوشه بدون در نظر گرفتن ریشک برحسب سانتی‌متر)، تعداد خوشه‌چه، قطر ساقه (برحسب میلی‌متر)، طول دانه (برحسب میلی‌متر)، عرض دانه (برحسب میلی‌متر)، شکل دانه (برحسب میلی‌متر)، وزن کاه (برحسب گرم)، طول دوره رسیدگی (تعداد روز از نشاء تا رسیدگی کامل دانه)، طول برگ پرچم (از زیر برگ پرچم تا نوک آن برحسب سانتی‌متر)، عرض برگ پرچم (عرض برگ پرچم از پهن‌ترین قسمت برگ پرچم برحسب سانتی‌متر) از ۱۰ بوته به‌تصادف انتخاب و صفات اندازه‌گیری شد.

آزمایش‌های مولکولی

آزمایش‌های مولکولی در آزمایشگاه ژنتیک دانشگاه گنبدکاووس انجام گرفت که به همین منظور از هر یک از ژنوتیپ‌ها و از بین برگ‌های جوان و عاری از بیماری نمونه برگی جدا گردید و با کمک نیتروژن مایع آسیاب شد. استخراج DNA نمونه‌ها طبق روش CTAB انجام گرفت (SaghaiMaroof et al., 1994) و DNAهای استخراجی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس از نه نشانگر ریزماهواره متصل به QTLهای بزرگ اثر مقاومت به خشکی استفاده شد. لیست نشانگرها مورداستفاده به همراه منبع آن‌ها در جدول (۱) آمده است. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز در حجم ۱۰ میکرولیتر و به‌وسیله دستگاه ترموسایکلر مدل iCycler BIORAD انجام گرفت. محصول حاصل‌شده از PCR در ژل اکریل آمید ۶٪ و با دستگاه الکتروفورز عمودی مدل Clevear VS20 با ولتاژ ۱۸۰ جداسازی گردید و باند-های حاصل از الکتروفورز به‌وسیله نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد. امتیازدهی نوارهای حاصل بر روی ژل به ترتیب حروف الفبای انگلیسی انجام شد. بدین‌صورت که ابتدا تعداد آلل‌های هر نشانگر با در نظر گرفتن کلیه ژنوتیپ‌های موردبررسی مشخص گردید. سپس به بزرگ‌ترین آلل هر ژنوتیپ نمره A و نمره آلل‌های دیگر به ترتیب اندازه آن‌ها و بر اساس ترتیب حروف الفبای انگلیسی داده شد. همچنین امتیازدهی بر اساس وزن مولکولی به کمک نشانگر اندازه نیز صورت گرفت تا ماتریس داده‌های ژنوتیپی برای تجزیه در نرم‌افزار Power Marker نیز آماده گردد. از این نرم‌افزار جهت محاسبه شاخص‌های تنوع ژنتیکی مثل فراوانی آللی هر مکان ژنی، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده برای هر مکان ژنی و شاخص PIC استفاده شد. PIC شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی برای اندازه‌گیری چندشکلی نشانگرها، همچنین توزیع آلل‌های جایگاه‌های مکان ژنی در جمعیت است.

$$pic=1-\frac{\sum x_k^2}{N} \qquad [۱]$$

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های ثبت‌شده با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گرفت. رابطه بین هرکدام از صفات ثبت‌شده با نشانگرهای SSR نیز با استفاده از روابط رگرسیون و با کمک از نرم‌افزار SPSS 22 مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفته شد.

جدول ۱. اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره

Table 1. Information of Microsatellite markers

نشانگر Marker	آغازگر فوروارد Forward Sequence	آغازگر ریورس Revers Sequence	منبع Reference
RM22	GGTTTGGGAGCCCATTACA	CTGGGCTTCTTTCACTCGTC	Swamy et al., 2011
RM315	GAGGTACTTCCTCCGTTTCAT	AGTCAGCTCACTGTGCAGTG	Swamy et al., 2011
RM279	GCGGGAGAGGGATCTCCT	GGCTTAGGAGTTAACCTCGCG	Shamsudin et al., 2016
RM520	AGGAGCAAGAAAAGTTCCCC	GCCAATGTGTGACGCAATAG	Shamsudin et al., 2016
RM28048	TTCAGCCGATCCATTCAATTCC	GCTATTGGCCGGAAAGTAGTTAGC	Shamsudin et al., 2016
RM16030	GCGAACTATGAGCATGCCAACC	GGATTACCTGGTGTGTGCAGCAGTGTCC	Shamsudin et al., 2016
RM210	TCACATTCGGTGGCATTG	CGAGGATGGTTGTTCACTTG	Lanceras et al., 2004
RM244	CCGACTGTTCGTCCTTATCA	CTGCTCTCGGGTGAACGT	Swamy et al., 2011
RM252	TTCGCTGACGTGATAGGTTG	ATGACTTGATCCCGAGAACG	Swamy et al., 2011

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

تجزیه واریانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری (۱٪) بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات موردمطالعه وجود دارد. نظر به اینکه ژنوتیپ‌های موردمطالعه در آزمایش دارای مبدأ متفاوت و شامل ارقام اصلاح‌شده داخلی و بین‌المللی و محلی بوده و قاعدتاً تفاوت بین ژنوتیپ‌ها می‌تواند معنی‌دار باشد. تجزیه واریانس اثر متقابل ژنوتیپ و شرایط کشت صورت گرفت که این اثر متقابل برای صفات تعداد دانه‌های پر، تعداد دانه‌های پوک، تعداد خوشه‌چه، طول خوشه، تعداد ساقه، طول ساقه، قطر ساقه، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، طول دانه، عرض دانه، شکل دانه، وزن اندام هوایی، وزن هزار دانه، تعداد روز تا رسیدگی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و نشان‌دهنده رفتار متفاوت ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف شرایط کشت از نظر صفات موردمطالعه بود. نظر به معنی‌دار شدن اثر متقابل رقم و شرایط کشت، واریانس مرکب به دو تجزیه جداگانه نرمال و تنش برش‌دهی شد (جدول‌های ۳، ۴، ۵) تجزیه واریانس در هر دو شرایط نرمال و تنش خشکی نشان داد ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات موردمطالعه در هر دو شرایط تفاوت معنی‌داری داشتند. واکنش متفاوت ژنوتیپ‌های برنج بین محیط غرقاب و تنش خشکی توسط تعدادی از محققین مختلف نیز بررسی شد که می‌توان به لنسراس و همکاران (Lanceras et al., 2004) اشاره کرد.

سودمندی نشانگرهای ریزماهواره برای ژنوتیپ‌های موردمطالعه

تمامی ژنوتیپ‌ها با استفاده از نه نشانگر ریزماهواره بررسی شدند که درمجموع ۳۱ آلل با میانگین ۳/۴۴ آلل در هر مکان ژنی مشاهده شد. تمامی این جایگاه‌ها چندشکلی نشان دادند که این تعداد آلل زیاد بیانگر تنوع بالا در یک مکان ژنی است (Gharekhani et al., 2016). نشانگر RM60 دارای بیشترین تعداد آلل (شش) بود. مقدار محتوای اطلاعات چند شکل برای این نشانگر برابر با ۰/۶۵ بود که مقایسه مقدار این نشانگر برای همین شاخص (۰/۳۷) در مطالعات طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar et al., 2011) مطابقت نداشت. همچنین نشانگرهای RM324 و RM472با دو آلل کمترین تعداد آلل را دارا بودند.

جدول ۲. مشخصات ژنوتیپ‌های موردمطالعه

Table 2. Characteristics of studied genotypes

شماره No	ژنوتیپ Genotype	شماره No	ژنوتیپ Genotype	شماره No	ژنوتیپ Genotype	شماره No	ژنوتیپ Genotype
1	Azucena× Bala.91	13	Ahlami tarom.Sepid rod.112	25	Ahlami tarom.Neda.104	37	Ahlami tarom.Neda.41
2	Azucena× Bala.214	14	Ahlami tarom.Sepid rod.67	26	Ahlami tarom.Neda.16	38	Ahlami tarom.Neda.86
3	Azucena× Bala.42	15	Ahlami tarom.Sepid rod.78	27	Ahlami tarom.Neda.51	39	Ahlami tarom.Neda.82
4	Ahlami tarom.Sepid rod.91	16	Ahlami tarom.Sepid rod.24	28	Ahlami tarom.Neda.112	40	Ahlami tarom.Neda.125
5	Ahlami tarom.Neda.45	17	Ahlami tarom.Sepid rod.23	29	Ahlami tarom.Neda.106	41	Ahlami tarom.Neda.108
6	Azucena× Bala.206	18	Ahlami tarom.Sepid rod.120	30	Ahlami tarom.Neda.24	42	IR30
7	Azucena× Bala.287	19	Ahlami tarom.Sepid rod.135	31	Ahlami tarom.Neda.60	43	Hasani
8	DCL	20	Ahlami tarom.Sepid rod.138	32	Ahlami tarom.Neda.61	44	Norin
9	Line 835	21	Ahlami tarom.Sepid rod.73	33	Ahlami tarom.Neda.18	45	Ahlami tarom.Neda.66
10	Azucena× Bala.120	22	Ahlami tarom.Sepid rod.41	34	Ahlami tarom.Neda.90	46	Gil3
11	Ahlami tarom.Sepid rod.121	23	Ahlami tarom.Sepid rod.130	35	Ahlami tarom.Neda.66	47	Azucena× Bala.113
12	Ahlami tarom.Sepid rod.128	24	Ahlami tarom.Neda.84	36	Ahlami tarom.Neda.60	48	Hasansaraei

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳. تجزیه واریانس مرکب صفات مورد بررسی

Table 3. Combined variance analysis of the studied traits

Source of variation	منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS				
			تعداد دانه‌های پر Number of filled seeds	تعداد دانه‌های پوک Number of poke seeds	تعداد خوشه‌چه Number of panicles	طول خوشه Panicle length	تعداد خوشه Number of panicle
Stress	تنش	1	5211821.36**	993756.27**	25528.58**	306.69**	293.02**
Replication	تکرار (بلوک)	4	11140.22	50350.76	40.77**	3.15**	6.89**
Genotype	ژنوتیپ	47	1336463.21**	825052.36**	5878.04**	59.73**	41.28**
Genotype×Stress	ژنوتیپ× تنش	47	5211821.36**	62007.23	375.06**	12.49**	2.31**
Error	خطا	188	9901.31	58283.95	7.06	0.62	0.79
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*4.620*	*40.674*	*1.51*	*2.85*	*5.32*

** significant in 0.01 level of probability ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

Table 3. Continued **جدول ۳. ادامه**

Source of variation	منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS				
			طول ساقه Stem length	قطر ساقه Stem diameter	طول برگ پرچم Flag leaf length	عرض برگ پرچم Flag leaf width	تعداد روز تا رسیدگی Number of days to maturity
Stress	تنش	1	2607.02**	16.76**	542.71**	0.40**	0.00
Replication	تکرار (بلوک)	4	2.06	0.54	1.86**	0.001	0.000
Genotype	ژنوتیپ	47	1652.29**	3.93**	174.86**	0.31**	194.16**
Genotype×Stress	ژنوتیپ× تنش	47	41.03**	0.30**	9.50**	0.01**	0.00
Error	خطا	188	2.84	0.03	0.29	0.006	0.00001
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*1.32*	*3.36*	*1.52*	*7.51*	*7.87*

** significant in 0.01 level of probability ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

Table 3. Continued **جدول ۳. ادامه**

Source of variation	منابع تغییر	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS					
			طول دانه Grain length	عرض دانه Grain width	شکل دانه Grain shape	وزن کاه Straw weight	وزن صد دانه Weight 100 grains	عملکرد Yield
Stress	تنش	1	11.95**	0.58**	0.08**	21875.34**	2.79**	64038894.9**
Replication	تکرار (بلوک)	4	0.01	0.0003	0.005	93.77**	0.0002	19.000
Genotype	ژنوتیپ	47	5.11**	0.09**	2.02**	2307.82**	0.41**	6563392.8**
Genotype×Stress	ژنوتیپ× تنش	47	0.15**	0.006**	0.70**	253.14**	0.02**	611579.3**
Error	خطا	188	0.006	0.003	0.004	7.400	0.017	9.3**
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*0.78*	*0.98*	*1.41*	*2.64*	*0.36*	*0.06*

** significant in 0.01 level of probability ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴. تجزیه واریانس صفت مورد بررسی در شرایط نرمال

Table 4. Analysis of variance of the trait under normal conditions

منابع تغییر Source of variation		درجه آزادی df	میانگین مربعات MS				
			تعداد دانه‌های پر Number of filled seeds	تعداد دانه‌های پوک Number of poke seeds	تعداد خوشه‌چه Number of panicles	طول خوشه Panicle length	تعداد خوشه Number of panicle
Replication	تکرار	2	24.19	11.6	0.69	0.52	0.25
Genotype	ژنوتیپ	47	792183.83**	399341.67**	352.81**	27.24**	22.94**
Error	خطا	94	2322.50	1113.50	59.500	50.030	24.500
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*0.21*	*0.63*	*0.42*	*2.55*	*2.84*

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد — ** significant in 0.01 level of probability

جدول ۴. ادامه

Table 4. Continued

منابع تغییر Source of variation		درجه آزادی df	میانگین مربعات MS				
			طول ساقه Stem length	قطر ساقه Stem diameter	طول برگ پرچم Flag leaf length	عرض برگ پرچم Flag leaf width	تعداد روز تا رسیدگی Number of days to maturity
Replication	تکرار	2	1.85	0.00	0.16	0.001	0.00
Genotype	ژنوتیپ	47	895.82**	2.34**	89.45**	0.17**	97.08**
Error	خطا	94	177.75	0.028	15.955	0.180	0.000
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*1.04*	*0.30*	*1.11*	*3.84*	*0.00*

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد — ** significant in 0.01 level of probability

جدول ۴. ادامه

Table 4. Continued

منابع تغییر Source of variation		درجه آزادی df	میانگین مربعات MS					
			طول دانه Grain length	عرض دانه Grain width	شکل دانه Grain shape	وزن کاه Straw weight	وزن ۱۰۰ دانه Weight 100 grains	عملکرد Yield
Replication	تکرار	2	0.00	0.00	0.0009	8.64	0.00	724.36**
Genotype	ژنوتیپ	47	2.83**	0.04**	1.01**	1484.83**	0.21**	4131461.20**
Error	خطا	94	0.075	0.0032	0.089	830.25	0.00189	7.800
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*0.27*	*0.28*	*0.61*	*2.63*	*0.16*	*0.05*

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد — ** significant in 0.01 level of probability

جدول ۵. تجزیه واریانس صفت مورد بررسی در شرایط تنش

Table 5. Analysis of variance of the trait under stress conditions

منابع تغییر Source of variation		درجه آزادی df	میانگین مربعات MS				
			تعداد دانه‌های پر Number of filled seeds	تعداد دانه‌های پوک Number of poke seeds	تعداد خوشه‌چه Number of panicles	طول خوشه Panicle length	تعداد خوشه Number of panicle
Replication	تکرار	2	19830.05	116225.74	14.92	0.79	1.59
Genotype	ژنوتیپ	47	656845.32**	487717.91**	2732.29**	44.98**	20.65**
Error	خطا	94	1903688.06	11157671.33	1432.666	76.013	152.666
CV (%)	ضریب تغییرات (٪)		*6.97*	*52.26*	*2.32*	*3.39*	*2. 84*

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد — ** significant in 0.01 level of probability

www.SID.ir

Archive of SID

Table 5. Continued **جدول ۵. ادامه**

Source of variation	منابع تغییر	درجه آزادی df	MS میانگین مربعات: طول ساقه Stem length	قطر ساقه Stem diameter	طول برگ پرچم Flag leaf length	عرض برگ پرچم Flag leaf width	تعداد روز تا رسیدگی Number of days to maturity
Replication	**تکرار**	2	3.80	0.06	0.48	0.01	0.0001
Genotype	**ژنوتیپ**	47	797.5**	1.89**	94.91**	0.15**	97.08**
Error	**خطا**	94	365.333	6.377	46.08	1.0866	0.00
CV (%)	**ضریب تغییرات (٪)**		*1.56*	*5.01*	*2.04*	*10.11*	*0.00*

** significant in 0.01 level of probability ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

Table 5. Continued **جدول ۵. ادامه**

Source of variation	منابع تغییر	درجه آزادی df	MS میانگین مربعات: طول دانه Grain length	عرض دانه Grain width	شکل دانه Grain shape	وزن کاه Straw weight	وزن ۱۰۰ دانه Weight 100 grains	عملکرد Yield
Replication	**تکرار**	2	0.01	0.0007	0.008	9.75	0.0001	976.25**
Genotype	**ژنوتیپ**	47	2.43**	0.05**	1.08**	1076.12**	0.22**	3043510.9**
Error	**خطا**	94	1.136	0.072	0.848	936.833	0.0169	11.2
CV (%)	**ضریب تغییرات (٪)**		*1.11*	*0.39*	*1.89*	*3.31*	*0.52*	*0.08*

** significant in 0.01 level of probability ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

نشانگر RM324 با ۰/۱۵ کمترین و نشانگر RM12093 با ۰/۷۳ بیشترین تنوع ژنی را داشتند و متوسط تنوع ژنی ۰/۵۷ برآورد شد. قره‌خانی و همکاران (Gharekhani et al., 2016) در تحقیقی که بر روی ۳۸ رقم برنج با استفاده از ۱۴ نشانگر SSR انجام دادند مقدار تنوع ژنی را برای نشانگر RM472 ۰/۵۹۲ اعلام کردند که تشابه زیادی با مقدار ۰/۵۴ به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر برای این نشانگر داشت.

میانگین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) ۰/۵۱ برآورد شد که این مقدار با میانگین شاخص PIC (۰/۵۴) به‌دست‌آمده توسط طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar et al., 2011) برای ۴۷ رقم موردبررسی آن‌ها تشابه زیادی داشت. نشانگرهای RM22 وRM12093 نیز با ۰/۶۸ بیشترین و نشانگر RM324 با ۰/۱۴ کمترین شاخص PIC را نشان دادند.

اسکاریا و همکاران (Skaria et al., 2011) میانگین تعداد آلل‌های مشاهده‌شده و تعداد آلل مؤثر را در بررسی هشت واریته ۱/۶۶ و ۱/۳۷ گزارش کردند، همچنین میانگین تنوع ژنی به‌دست‌آمده توسط آن‌ها برابر با ۰/۲۲۴ بود. شاها و همکاران (Shaha et al., 2013) در مطالعه تنوع ژنی ۴۰ رقم برنج با استفاده از ۲۴ نشانگر SSR که در تمام ژنوم توزیع شده بودند، درمجموع ۶۶ آلل شناسایی کردند که میانگین آن‌ها ۲/۷۵ بود ارزش اطلاعات پلیمورفیک نیز ۰/۳۷۸ محاسبه شد.

نتایج و میانگین‌های بالای تعداد آلل مؤثر، ارزش PIC و تنوع ژنی مشاهده‌شده، در جایگاه‌های ریزماهواره بیانگر کارآمدی ریزماهواره‌ها مورداستفاده برای تمایز ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج و وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های موردمطالعه است. نشانگرهای RM22 و RM12093 با دارا بودن بیش‌ترین میزان محتوای اطلاعات چندشکل و تنوع ژنی و تعداد آلل در این مطالعه به‌عنوان بهترین نشانگر جهت بررسی تنوع ژنی از ژنوم برنج شناسایی شد.

بررسی تجزیه ارتباط

به‌کارگیری اطلاعات حاصل از برنامه‌های مکان‌یابی ژنی، مهم‌ترین گام ارزیابی کارایی نشانگرهای پیوسته با QTL و شناسایی نشانگرهای آگاهی بخشی است که بتوانند حتی در جمعیت‌هایی غیر از جمعیت اصلی مورداستفاده در مکان‌یابی QTL برای شناسایی ارقام متحمل و حساس و انتقال صفت

www.SID.ir

Archive of SID

مفید باشند (Sabouri et al., 2013). به همین منظور برای شناسایی آلل‌های تأثیرگذار بر صفات زراعی ارقام برنج در شرایط نرمال و خشکی تجزیه ارتباط بین پانزده صفت اندازه-گیری شده با نشانگرهای مولکولی مورد آزمایش به‌وسیله رگرسیون مرحله‌ای انجام شد. نتایج نشان داد که در صفات مربوط به عملکرد و اجزای عملکرد برای تعداد خوشه سه آلل با ارتباط منفی (RM12093-A، RM60-B، RM22-E) و چهار آلل (RM216-B، RM28166-B، RM28166-C و RM324-A) با ضریب رگرسیون مثبت وجود داشتند. برای تعداد دانه در خوشه یک آلل حاوی اطلاعات مثبت (RM22C) وجود داشت. برای وزن هزار دانه سه آلل حاوی اطلاعات مثبت (RM19367-A، RM216-A و RM22-D) و یک آلل حاوی اطلاعات منفی (RM472-A) ردیابی شد. صفت عملکرد نیز تنها با یک آلل (RM510-C) ارتباط داشت که R2 آن برابر با ۳۱/۸ و ضریب رگرسیون آن ۱۳۲۷۸۴/۵۸۲ و مثبت بود. نشانگر RM22 با ۱۱ صفت ازجمله سه صفت مربوط به عملکرد (تعداد دانه در خوشه، تعداد خوشه و وزن هزار دانه) ارتباط معنی‌داری را نشان داد به همین سبب می-توان گفت ژن‌های کنترل‌کننده این صفات در مجاورت این نشانگر قرار دارند.

جدول ۶. تنوع نشانگرهای ریزماهواره در ژنوتیپ‌های برنج موردمطالعه در این پژوهش

Table 6. The diversity of microsatellite markers in the studied rice genotypes in this research

نشانگر Marker	فراوانی آلل بزرگ Major Allele Frequency	تعداد آلل Allele Number	تنوع ژنی Gene Diversity	محتوای اطلاعات چند شکل PIC
RM28166	0.47	3	0.63	0.56
RM19367	0.43	3	0.64	0.56
RM216	0.66	3	0.50	0.45
RM22	0.37	5	0.73	0.7
RM510	0.47	3	0.62	0.55
RM60	0.41	6	0.7	0.65
RM324	0.92	2	0.15	0.14
RM472	0.54	2	0.5	0.37
RM12093	0.33	4	0.73	0.68
میانگین Mean	0.51	3.44	0.57	0.51

صبوری و همکاران (Sabouri et al., 2013) گزارش کردند که سه نشانگر RM3412، RM10655 و RM10136 در بیش از چند صفت ارتباط معنی‌دار نشان دادند و توانستند بخش قابل‌توجهی از تغییرات فنوتیپی صفات مرتبط با تحمل به تنش شوری را توجیه کنند. محمدی‌نژاد و همکاران (Mohammadi Nezhad et al., 2013) در تحقیقی که بر روی ۲۰ رقم برنج ایرانی و دو شاهد متحمل (Pokkali) و حساس (IR29) انجام دادند گزارش کردند که نشانگر RM6100 ارتباط معنی‌داری با چهار صفت تعداد پنجه، وزن دانه در بوته، تعداد دانه پر و وزن تک دانه داشته است. به همین دلیل RM6100 را به‌عنوان نشانگر اطلاع‌رسان و سودمند پیشنهاد نمودند. در باقی صفات دو صفت عرض برگ پرچم و عرض دانه با ارتباط داشتن با پنج آلل بیشترین ارتباط با آلل‌های مختلف را در بین دیگر صفات این دسته از خود نشان دادند. همچنین آلل RM22-E با R^2 معادل ۶۶/۹ درصد بیشترین مقدار R^2را از خود نشان داد. از نشانگرها و آلل‌های دارای اطلاعات مثبت و منفی در این بررسی می‌توان در پروژه‌های انتخاب بر اساس نشانگر در جهات مثبت و منفی برای افزایش یا کاهش ارزش صفت‌های مورفولوژیکی استفاده نمود.

هاپلوتایپی

پس از بررسی الگوهای باندی تشکیل‌شده بر روی ژل اکریل آمید ارزیابی هاپلوتایپی نشانگرهای ریزماهواره بر روی ۴۸ ژنوتیپ موردمطالعه انجام گردید. ژنوتیپ‌های مورداستفاده از لحاظ مطابقت آللی با یکدیگر گروه‌بندی شدند و میزان عملکرد، ارتفاع بوته، تعداد دانه پر و روز تا رسیدگی هر گروه هاپلوتایپ به‌عنوان معیار برای سنجش گروه‌ها و مقایسه برای بررسی میزان تحمل به خشکی قرار گرفت. در طی این بررسی‌ها ۲۵ گروه هاپلوتایپ تشکیل شد. از این تعداد ۲۳

www.SID.ir

Archive of SID

هاپلوتایپ به‌صورت منفرد و دو گروه دیگر دارای دو ژنوتیپ در زیرمجموعه خود بودند. گروه هاپلوتایپ سه (ژنوتیپ ۱۲) با ۸۴ سانتی‌متر دارای کمترین و هاپلوتایپ ۱۲ (ژنوتیپ ۱۷) با ۱۵۳ سانتی‌متر دارای بیشترین ارتفاع بوته بودند. هاپلوتایپ ۱۶ (ژنوتیپ ۱۹) با ۲۸۶۴/۶ دارای بیشترین و هاپلوتایپ ۲۴ (ژنوتیپ ۳۲) با ۱۱۱۶/۳ کمترین تعداد دانه پر را دارا بودند. در صفت روز تا رسیدگی هاپلوتایپ‌های ۱۰ و ۲۰ (به ترتیب ژنوتیپ‌های ۲۰ و ۴۳) با ۷۷ روز کمترین روز تا رسیدگی را داشتند. عملکرد این دو هاپلوتایپ به ترتیب برابر با ۳۲۳۶/۱۶ و ۳۴۹۹/۳۳ کیلوگرم در هکتار بود. مقایسه عملکرد این دو هاپلوتایپ با دو هاپلوتایپ شش و ۲۱ (به ترتیب ژنوتیپ‌های دو و سه) که با ۹۶ روز بیشترین روز تا رسیدگی را داشته و عملکردشان به ترتیب برابر با ۵۴۵۱/۶۶ و ۴۰۳۱/۱۶ بود نشان می‌دهد که کاهش روز تا رسیدگی موجب کاهش عملکرد گردیده است. این نتیجه‌گیری با نتایج محققین دیگر که گزارش کرده بودند همبستگی طول دوره پر شدن دانه نسبت به‌سرعت پر شدن دانه با عملکرد و وزن نهایی دانه در بـرنج بـالاتر بـوده و وزن نهایی دانه بـرنج را طـول دوره پر شدن دانه تعیین می‌کند مطابقت دارد (Vahdati rad et al., 2016; Jones et al., 1978; Vergara, 1997). گروه هاپلوتایپ ۱۱ (ژنوتیپ ۱۸) دارای بیشترین عملکرد در شرایط تنش خشکی به میزان ۶۰۳۰/۱۶ کیلوگرم در هکتار بود و به‌نوعی شاید بتوان گفت که بیشترین تحمل در برابر

جدول ۷. نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفت‌های مختلف

Table 7. The results of the association analysis between microsatellite markers and different traits

صفات Traits	عرض از مبدأ Intercept	آلل Allele	ضریب رگرسیون B	خطای استاندارد STD.ERROR	F	R^2
تعداد دانه در خوشه Number of grain per panicle	1916.780	RM22 -C	275.287*	132.222	4.335*	8.6
تعداد خوشه‌چه Number of panicles	172.317	RM12093 -A	-41.917**	10.840	14.954**	24.5
طول خوشه Panicle length	26.097	RM22 -A	-4.935**	1.028	14.891**	24.5
		RM12093 -A	3.640**	1.204	12.989**	36.6
		RM60 -B	2.836**	0.997	12.724**	46.5
وزن اندام هوایی Shoot weight	91.063	RM216 -A	14.237*	6.505	4.789*	9.4
تعداد خوشه Number of panicle	11.666	RM12093 -A	-3.119**	0.713	10.490**	18.6
		RM216 -B	1.694**	0.551	10.931**	32.7
		RM28166 -B	3.011**	0.722	9.808**	40.1
		RM28166 -C	2.558**	0.601	10.662**	49.8
		RM324 -A	2.742**	0.913	11.347**	57.5
		RM60 -B	-1.564*	0.612	10.934**	61.5
		RM22 -E	-2.831*	1.107	11.572**	66.9
طول ساقه Stem length	136.219	RM19367 -C	-15.952**	4.280	13.988**	23.3
		RM22 -A	-14.705**	4.598	11.609**	34
		RM22 -B	-11.531*	5.245	10.010**	40.6
قطرساقه Stem diameter	5.050	RM22 -D	0.710	0.366	8.127**	15
		RM60 -D	0.781**	0.257	6.744**	23.1
		RM22 -B	-0.699*	0.264	7.438**	6.33
طول برگ پرچم Flag leaf length	37.460	RM216 -B	-4.113**	1.538	3.642	7.3
		RM472 -A	-4.489**	1.533	5.214**	18.8
		RM60 -B	3.371*	1.655	5.103**	25.8
عملکرد (کیلوگرم بر هکتار) Yield (Kg/ha)	4212.085	RM510 -A	132784.582**	2891.846	21.418**	31.8

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

** and * significant in 0.01 and 0.05 level of probability

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۷. ادامه

Table 7. Continued

صفات Traits	عرض از مبدأ Intercept	آلل Allele	ضریب رگرسیون B	خطای استاندارد STD.ERROR	F	R2
عرض برگ پرچم Flag leaf width	0.982	RM216 -B	-0.142**	0.052	8.568**	15.7
		RM60 -B	0.205**	0.055	8.100**	26.5
		RM19367 -B	0.085**	0.025	8.392**	36.4
		RM22 -E	0.284**	0.110	9.172**	46
		RM12093 -A	-0.147**	0.068	8.890**	51.4
طول دانه grain length	8.962	RM22 -C	0.665**	0.216	8.419**	15.5
		RM12093 -D	0.958**	0.256	9.900**	30.6
		RM472 -B	0.624**	0.212	10.621**	42
عرض دانه grain width	1.980	RM216 -A	0.119**	0.041	15.930**	25.7
		RM19367 -A	0.144**	0.037	13.395**	37.3
		RM472 -A	-0.088**	0.031	13.428**	47.8
		RM22 -C	-0.063*	0.029	12.472**	53.7
		RM60 -E	0.221*	0.105	11.640**	58.1
شکل دانه Grain shape	4.728	RM22 -C	0.517**	0.121	15.068**	24.7
		RM12093 -D	0.733**	0.138	21.607**	49
		RM60 -D	-0.433**	0.144	18.130**	55.3
		RM60 -E	-1.168**	0.395	18.187**	62.9
وزن هزاردانه Weight of one thousand grain	24.785	RM19367 -A	3.1**	0.704	26.170**	36.3
		RM216 -A	2.893**	0.727	21.548**	48.9
		RM472 -A	-1.585**	0.567	18.28**	55.1
		RM22 -D	2.3*	0.982	16.270**	60.2
روز تا رسیدگی Day to the maturity	90.945	RM19367 -A	-6.810**	1.762	12.386**	21.2
		RM22 -B	-3.849*	1.833	8.856**	28.2

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

** and * significant in 0.01 and 0.05 level of probability

تنش خشکی را از خود نشان داد. ساردویی نسب (Sardouie Nasa, 2011) نیز تحقیقی مشابه برای بررسی تنوع هاپلوتایپی QTLهای کنترل‌کننده تحمل به شوری در گندم انجام داد و بیان کرد ژنوتیپ‌های متحملی که الگوی آللی یکسانی از لحاظ بخش‌های مختلف یک ناحیه داشته باشند، دال بر اهمیت آن ناحیه در مطالعات تحمل به شوری دارد.

نتیجه‌گیری

مقایسه نتایج تجزیه هاپلوتایپی و تجزیه ارتباط آلل‌ها با صفات مورد ارزیابی نشان داد که بین نتایج این دو روش بررسی اطلاعات، برای داده‌های به‌دست‌آمده مطابقت وجود دارد. بدین‌صورت که دو گروه هاپلوتایپ ۱۱ و یک دارای بیشترین عملکرد بوده و در دو آلل RM510-A و RM472-A مشترک هستند. آلل RM510-A با مقدار R^2 ۳۱/۸ در کنترل عملکرد نقش دارد و آلل RM472-A با R2 ۵۵/۱ در کنترل وزن هزار دانه اثرگذاری دارد. همچنین این آلل در کنترل دو صفت عرض دانه و طول برگ پرچم مؤثر است که می‌تواند نشان‌دهنده اهمیت این آلل و این دو صفت در کنترل عملکرد گیاه باشد. هاپلوتایپ ۱۱ با بیشترین تعداد دانه پر و هاپلوتایپ ۲۴ با کمترین تعداد دانه پر عملکردهای خود را توجیه کردند و این موضوع نشان‌دهنده مؤثر بودن این صفت بر میزان عملکرد گیاه است. نتایج تجزیه واریانس مرکب هم بیان‌گر این موضوع بود که اکثر صفات موردمطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. همچنین در تحقیقات اصلاحی بعدی می‌توان از نه آلل RM216 –A، RM28166 –B، RM28166 –C، RM12093 –D، RM22 –D، RM324 –A، RM510 –A، RM472 –B و RM19367 –B که دارای تأثیر مثبت بر روی بروز صفات زراعی برنج

www.SID.ir

Archive of SID

بودند به‌عنوان شناساگر برای انتخاب ژنوتیپ‌های بهتر استفاده نمود. همچنین با حذف چهار آلل RM22 –A، RM22 –B، RM472 –A و RM19367 –C- که تأثیر منفی در بروز صفات زراعی داشتند می‌توان از کاهش ارزش صفت‌های مورفولوژیکی لاین‌های مورد آزمایش جلوگیری کرد.

جدول ۸. گروه‌های هاپلوتایپی برای نشانگرهای متصل به ژن‌های تحمل به خشکی در ژرم‌پلاسم موردمطالعه

Table 8. Haplotype groups for markers associated with drought tolerance genes in the studied germplasm

نشانگر Marker	هاپلوتایپ Haplotype																								
RM28166	C	C	B	B	C	C	A	A	A	A	A	A	B	B	B	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
RM19367	A	C	B	B	B	B	A	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	A	A	A	B	C	C	C	C
RM216	A	B	B	B	A	A	A	A	B	B	B	B	B	B	C	B	B	A	A	C	B	B	B	B	B
RM22	A	C	B	B	A	C	E	B	B	C	C	C	B	B	B	C	C	B	C	D	A	A	A	A	A
RM510	A	B	B	B	A	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	B	C
RM60	B	B	C	C	B	B	D	E	D	A	C	D	B	D	C	C	C	D	B	D	B	A	F	C	B
RM324	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	B	A	B	A	A	A	A
RM472	A	B	B	B	A	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A	B	A	B	B	B	B
RM12093	B	C	C	D	B	B	B	B	D	C	D	D	A	D	C	C	A	C	B	A	B	D	C	C	D
شماره هاپلوتایپ§ Haplotype no.§	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
عملکرد (کیلوگرم در هکتار) Yield (Kg/ha)	5540.90	4813.92	3640	5454.66	5479.33	5451.66	4485	5524.5	3662.33	3236.16	6030.16	2770.33	2835.5	2832.33	3222.33	4887.66	3051.5	4857	3312	3499.33	4031.16	3659.16	3455.16	2086.3	3126.5
ارتفاع بوته Plant height	130.45	122.5	84	140	138	134.6	143.3	140	132	126.6	131	153	131.3	121	119.6	131	119	118.3	120.3	129	101	111	86.3	85.3	102
تعداد دانه پر Number of filled seeds	2196.4	2331.4	1706	2499	2722.3	2581.3	1864	2426.6	1781	1678.3	3172	1343	1549.3	1393.3	1536.6	2864.6	1605	2379.3	1258.6	1341	2147.3	1709.6	1609.3	1116.3	1567.6
روز تا رسیدگی Day to the maturity	81	89.5	92	82	93	96	79	87	92	77	92	92	85	82	85	85	92	86	84	77	96	92	93	95	88

§ 1: G47, G48, 2:G33, G34, 3: G12, 4: G13, 5: G1, 6: G2, 7: G7, 8: G42, 9: G14, 10: G20, 11: G18, 12: G17, 13: G22, 14: G15, 15: G21, 16: G19, 17: G45, 18: G8, 19: G5, 20: G43, 21: G3, 22: G37, 23: G41, 24: G32, 25: G35.

منابع

Abdolshahi, R., Omidi, M., Talei, A.R., YazdiSamadi, B., 2010. Evaluation of bread wheat genotypes for drought tolerance. Electronic Journal of Crop Production. 3(1), 159-171. [In Persianwith English Summary].

Bouman, B.A.M., Toung, T.P., 2001. Field water management to save water and increase its productivity in irrigated lowland rice. Agriculture Water Management. 11, 30- 49.

Buckler, E.S., Thornsberry, J.M., 2002. Plant molecular diversity and applications to genomics. Current Opinion in Plant Biology. 5, 107-111.

Donini, P., Stephenson, P., Bryan, G.Y., Kobner, R.M.D., 1998. The potential of microsatellite for high throughput genetic diversity assessment in wheat barley. Genetic Resources and Crop Evolution. 45, 415- 421.

Ehdaie, B., Waines, J.G., 1993. Variation in water use efficiency and its components in wheat. Crop Science. 31, 1282-1288.

FAO. 2016. Projection of Rice Production, Consumption and Trade to the Year. http://www.FAO.org.

Fischer, R.A., Wood, J.T., 1979. Drought resistansce in spring wheat cultivars grain yieidresponses. Australian Journal Agricultural Research. 29, 897-912.

Gharekhani, M., Navabpour, S., Sabouri, H., Ramezanpour, S.S., 2016. Study of Genetic

www.SID.ir

Archive of SID

Variation in Iranin rice (*Oryza sativa* L.) using SSR Markers. Journal of Crop Breeding. 8(20), 107-115. [In Persian with English Summary].

Hosseinzadeh, N., Mehrabi, Y., Daneshpour, M., AlaviMajd, H., Azizi, F. 2012. Genetic association of some haplotypes to level of HDL-C, triglyceride, and waistin family members with metabolic myndrome using haplotype based associationtest. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism. 14, 275-308. [In Persian with English Summary].

Jones, D.B., Peterson, M.L., Geng, S., 1978. Association between grain filling rate and duration and yield component in rice. Crop Science. 19, 641-645.

Lanceras, J.C., Pantuwan, G., Jongdee, B., Toojinda, T., 2004. Quantitative trait loci associated with drought tolerance at Rrproductive Stage in Rice. American Society of Plant Biologists. 135, 384-399.

Limochi, K., 2017. Effect of drought stress on yield and grain components of aerobic genotypes in northern Khuzestan. Phd dissertation, Faculty of Agriculture, University of Islamic Azad Tabriz, Iran. [In Persian with English Summary].

Mohammadi Nezhad, G., Ghasem Khani, M., Zare, R., Sardouei Nasab, S., Sabouri, H., 2013. Evaluation of allelic diversity of microsatellite markers in QTL region attributed to salinity tolerance in Iranian rice cultivars. Journal of Plant Production. 20(3), 145-157. [In Persian with English Summary].

Naghavi, M.R., Moghaddam, M., Toorchi, M., Shakiba, M.R. 2016. Evaluation of spring wheat cultivars for physiological, morphological and agronomic traits under drought stress. Journal of Crop Breeding. 8, 64–77. [In Persian with English Summary].

Pirdashti, H., TahmasebiSarvestani, Z., Nematzade, Gh., Esmaili, A., 2003. Effect of drought stress on yield of different varieties of rice. Journal of Agricultural Sciences and Caspian Resources. 1, 88-97. [In Persian with English Summary].

Price, A.H., Steele, K.A., Moore, B.J., Barraclough, P.B., Clark, L.J., 2000. A combined RFLP and AFLP linkage map of upland rice (*Oryza sativa* L.) used to identify QTLs for root penetration ability. Theoretical and Applied Genetics. 100, 49-56.

Reddy, M.P., Sarla, N., Siddiq, E.A., 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica. 128, 9–17.

Sabouri, A., Sabouri, H., Dadras, A.R., 2013. Association analysis of closely linked markers to major QTLs Saltol and SKC1 and salt tolerance-related traits in rice varieties. Cereal Research. 3(1), 53-68. [In Persian with English Summary].

Saghai Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q., Allard, R.W., 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomallocations and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 91, 5466-5470.

Sardouie Nasa, S., 2011. Haplotype Diversity at QTLs related to Salt tolerance in Wheat (*Triticum aestivum* L.). MSc dissertation, Faculty of Agriculture, University Razi, Iran. [In Persian with English Summary].

Shaha, S.M., Naveed, S.A., Arif, M., 2013. Genetic diversity in basmatic and non-basmatic rice varieties based on microsatellite markers. Pakistan Journal of Botany. 45, 423-431.

Shamsudin, N. A. A., Swamy, B. P. M., Ratnam, W., , Cruz, M. T. S., Raman, A., Kumar, A. 2016. Marker assisted pyramiding of drought yield QTLs into a popular Malaysian rice cultivar, MR219. BMC Genetics 17, 30-44.

Skaria, R., Sen, S., Muneer, P., 2011. Analysis of genetic variability in rice varieties (*Oryza sativa* L.) of Kerala using RAPD marker. Genetic Engineering and Biotechnology Journal. 10, 1-9.

Soleimani, A., Amiri Larijani. B., 2005. Fundamental Principles of Rice. Human Resource Development Center of Haraz Agriculture Press. 316pp. [In Persian].

Swamy, B. P. M., Vikram, P., Dixit, S., Ahmed, H. U., Kumar, A., 2011. Meta-analysis of grain yield QTL identified during agricultural drought in grasses showed consensus. BMC Genomics. 12, 319-337.

Tabkh kar, N., Rabii, B., Sabouri, A., 2011. Evaluation of allelic frequency and polymorphism of continuous microsatellite markers with genetic locations of grain quality control in rice. Iranian Journal of Field Crop Research. 42(3), 495-507. [In Persian].

Tavalla, R., Aalami, A., Sabouri, H., Sabouri, A., 2015. Evaluation of haplotype and allelic

www.SID.ir

Archive of SID

diversity of SSR markers linked to major effect QTL on chromosome 9 controlling drought tolerance in rice. Cereal Research. 5(2), 107-119. [In Persian with English Summary].

Vahdati Rad, A., Esfahani, M., Mohsen Abadi, G.R., Sabouri, A., Aalami, A., 2016. Effect of transplantation on speed, filling time, final weight and grain yield of rice cultivars. Journal of Crop Production and Processing. 6(19), 137-148. [In Persian].

Vergara, B., 1997. Rice Plant Growth and Development. IRRI Publication. Philippines.

www.SID.ir