بررسی تنوع ژنتیکی برای صفات مورفولوژیک در ژنوتیپ‌های برنج تحت تنش سرما

فاطمه هنرور[1]، حسین صبوری[2] و سکینه سعیدی‌سار[3]

چکیده

به منظور بررسی تنوع بین ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش سرما، ۲۲ ژنوتیپ برنج شامل ۱۱ ژنوتیپ بومی و اصلاح‌شده و ۱۱ ژنوتیپ خارجی ارزیابی شدند. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. ژنوتیپ‌های مذکور در شرایط نرمال (تیمار شاهد) و دمای ۱۰ درجه سلسیوس (تنش سرما) در شرایط اتاقک کشت مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی تنوع فنوتیپی ارقام، طول ریشه، طول اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف بین ژنوتیپ‌ها، در تنش سرما و اثر متقابل ژنوتیپ× سرما برای کلیه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. ضرایب همبستگی بین میانگین صفات اندازه‌گیری شده در گیاهچه‌ها، در شرایط نرمال و تنش با مقادیر شاخص‌های تحمل و حساسیت، بالا و معنی‌دار بود. تجزیه خوشه‌ای در شرایط سرما، ژنوتیپ‌های مورد بررسی را در سه گروه قرار داد که ژنوتیپ‌های حساس و متحمل را از هم تفکیک کرد. تجزیه کلاستر براساس شاخص‌های تحمل به تنش در صفت‌های مورفولوژیک مورد بررسی نیز منجر به جدایی ژنوتیپ‌های حساس از متحمل شد. تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها بیانگر وجود تنوع ژنتیکی برای صفات ارزیابی شده در مرحله گیاهچه در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط سرما بود.

واژه‌های کلیدی: برنج، فنوتیپ، تنش سرما، صفات مورفولوژیک.

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۲۵

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران، honarvarf@yahoo.com

۲- عضو هیأت علمی گروه کشاورزی دانشگاه جامع گنبدکاووس، گنبدکاووس، ایران.

۳- عضو هیأت علمی گروه علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

مقدمه

برنج از جمله ارزشمندترین گیاهان زراعی با سابقه کشت طولانی بوده و امروزه از محصولات مهم غذایی دنیا محسوب می‌شود (Kazemi-Arbat, 1995). تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش سرما بر ویژگی‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهان اثر می‌گذارند به‌طوری‌که آسیب گیاه برنج از دمای پایین در مناطق گرمسیری و معتدل گزارش گردیده، که این آسیب یکی از بزرگترین مشکلات تولید برنج در این مناطق محسوب می‌شود (Vergara & Visperas, 1971). برنج، گیاه حساس به سرما می‌باشد که محصول آن تحت این تنش تا حد زیادی کاهش می‌یابد. با توجه به اهمیت برنج، شناخت ارقام متحمل و مکانیسم دفاعی آن‌ها در مقابل دمای پایین ضروری می‌باشد (Ghorbany *et al*., 2011). سینها و همکاران (Sinha *et al*.,1991)، در شرایط نرمال تنوع ژنتیکی ۳۰ واریته بومی برنج آپلند را بر اساس ۱۰ صفت مورفولوژیک بررسی کردند که این واریته‌ها در شش دسته مختلف قرارگرفتند. بابائیان و همکاران (Babaeian *et al*., 1999)، به منظور بررسی تنوع صفات در برنج‌های بومی مازندران در شرایط نرمال، تعداد ۱۰۱ رقم و لاین را مورد بررسی قرار دادند و با استفاده از ١٤ صفت کمی، ژنوتیپ‌ها در هفت گروه مختلف قرارگرفتند. قربانی و همکاران (Ghorbany *et al*., 2011) اثر تنش سرما را بر صفات تشریحی و مورفولوژی در دو رقم مقاوم وحساس برنج در مرحله‌ی جوانه‌زنی بررسی کردند. نتایج نشان داد که طول و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه هر دو رقم نعمت و اوندا تحت تنش نسبت به شاهد کاهش پیدا کرد. شریفی و همکاران (Sharify *et al*., 2012) رشد ساقه‌چه در برخی از ارقام برنج در مرحله جوانه‌زنی را بررسی کردند که در آن اثر سرما روی رشد ساقه‌چه در ۱۸ ژنوتیپ برنج در قالب دو آزمایش جداگانه مورد بررسی قرار گرفت. رادفر (Radfar, 2004) با بررسی در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای ۲۰ رقم برنج بومی نشان داد که در مرحله جوانه‌زنی یک‌سری از ارقام نظیر گرده‌محلی، کوهرنگ، سازندگی و زاینده‌رود همانند رقم اوندا تحمل بالایی به تنش سرما نشان دادند.

درجه حرارت پایین باعث تغییر بیان ژن، تغییر متابولیسم سلولی و تغییر در نرخ رشد و بازده محصول و هم‌چنین کاهش میزان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در گیاه برنج می‌شود (Bodapti *et al*., 2005). هدف از این مطالعه، بررسی تنوع فنوتیپی بین ژنوتیپ‌های برنج به منظور ارزیابی تحمل به سرما در ارقام مورد بررسی بوده است.

مواد و روش‌ها

در این بررسی ۲۲ ژنوتیپ برنج شامل ۱۱ ژنوتیپ بومی و اصلاح‌شده و ۱۱ ژنوتیپ خارجی ارزیابی شدند (جدول ۱). آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار به‌طور جداگانه در دو شرایط تنش و بدون تنش انجام شد. ژنوتیپ‌های مذکور در تیمارهای شاهد و دمای ۱۰ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفتند. این مرحله از آزمایش به روش گریگوریو و همکاران (Gregario *et al*., 1993) در اتاقک کشت انجام شد. برای کشت از صفحات یونولیت و سینی‌های کشت استفاده شد. بذور به مدت ۲۰ دقیقه با محلول ۵۰ درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده و پس از شستشو با آب مقطر استریل به ظروف پتری حاوی کاغذ صافی منتقل شدند. مقدار کمی آب مقطر استریل به ظروف اضافه شد تا کاغذ صافی و بذور کاملاً مرطوب و خیس شوند. بذور جوانه‌زده در روز سوم به داخل هر سوراخ و روی شبکه‌های نایلونی (صفحه‌هایی از جنس پلاستیک با سوراخ‌های ریز که ریشه‌چه‌ها از آن عبور داده شدند) انتقال داده شدند. در هر سوراخ سه بذر جوانه‌زده قرار داده شد. تا سه روز پس از انتقال از آب مقطر استفاده شد. سپس محلول غذایی یوشیدا[1] (Yoshida, 1976) (جدول ۲) به سینی‌ها اضافه شد. محلول غذایی هر هفت روز تعویض شد. pH محلول هفته‌ای سه بار کنترل گردیده و با اضافه نمودن HCl و NaOH، pH محلول روی ۵/۵ ثابت نگه داشته شد. گیاهچه‌های برنج در شرایط محیط نرمال به مدت ١٤ روز در محلول غذایی یوشیدا (جدول۲) قرار گرفتند و سپس در شرایط محیط سرد گیاهچه‌های برنج تا سه هفته رشد نمودند. پس از آن، از هر محیط به طور جداگانه و در مرحله ۲ تا ۳ برگی نمونه‌برداری صورت گرفت. طول ریشه، طول اندام هوایی، وزن خشک ریشه و اندام‌هوایی اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه و تحلیل داده‌های مورفولوژیک از نرم‌افزار SPSS (16.0) (SPSS, 2007) استفاده شد. برای محاسبه همبستگی‌ها و تجزیه کلاستر به روش Ward برای مقایسه

[1] Yoshida

میانگین با روش حداقل تفاوت معنی‌دار و تجزیه واریانس از نرم‌افزار SAS (v9.1) استفاده گردید (SAS, 1997).

همواره هدف از تهیه ارقام متحمل به سرما، معرفی ارقامی بوده که به‌طور نسبی در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها تنش را بهتر تحمل کرده و در شرایط یکسان افت عملکرد کمتری داشته باشند. شاخص‌های متفاوتی برای ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌ها در شرایط محیطی مختلف و تعیین تحمل وحساسیت آن‌ها ارایه شده است. فرناندز و کریستین (۱۹۹۲) جهت تعیین میزان حساسیت ژنوتیپ‌ها به تنش، به دلیل تفاوت شدت تنش در سال‌های مختلف از میانگین هندسی ژنوتیپ‌ها (GMP) [1] در دو محیط استفاده کردند. شدت تنش (SI) [2] و شاخص حساسیت به تنش (SSI) به شرح زیر محاسبه شد:

$$SI = 1 - \frac{\overline{Y_S}}{\overline{Y_P}}$$

در این فرمول‌ها، Ys، Yp به ترتیب عملکرد هر ژنوتیپ تحت شرایط تنش و بدون تنش را نشان می‌دهند. شاخص تحمل (TOL) و هم‌چنین متوسط محصول‌دهی (MP) یک ژنوتیپ در هر دو شرایط تنش و غیر تنش براساس روابط زیر محاسبه شدند:

$$MP = \frac{Yp + Ys}{2} \qquad TOL = Yp - Ys$$

شاخص GMP و شاخص تحمل به تنش(STI) به شرح زیرمحاسبه شدند (دهقانی و همکاران، ۱۳۸۸).

$$STI = \frac{Yp \times Ys}{(\overline{Yp})^2} \qquad GMP = \sqrt{Yp \times Ys}$$

مقدار بالاتر شاخص STI، برای یک ژنوتیپ، نمایانگر تحمل به تنش بالاتر و عملکرد بالقوه بیشتر آن ژنوتیپ می‌باشد. شاخص GMP حساسیت کمتری به مقادیر بسیار متفاوت Y_S و Y_P دارد، در صورتی که شاخص MP، زمانی که اختلاف نسبی زیادی بین Y_S و Y_P وجود داشته باشد، میل زیادی به طرف Y_P نشان خواهد داد (Katoozy *et al.*, 2000).

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه طبق جدول ۳ و ٤ نشان داد که در شرایط تنش سرما برای طول اندام هوایی (ساقه و برگ)، طول ریشه، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه بین ژنوتیپ‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد که دلالت بر تنوع زیاد میان صفات مورد بررسی می‌باشد.

مقایسات میانگین صفات مورد بررسی در شرایط نرمال (شاهد) و تنش (سرما) نشان داد که در هر دو شرایط که ژنوتیپ‌های قصرالدشتی، IR50، IR60080-64A و IR82590-B-B-90-4 دارای بیشترین مقدار میانگین صفات و حسنی، حسن‌سرایی، Usen و IR66424-1-2-1-5 دارای کمترین مقدار میانگین صفات بودند (جدول ۵ و٦). ژنوتیپ‌هایی که در آن‌ها میزان وزن ریشه و ساقه تحت تاثیر سرما کاهش بیشتری پیدا کرد، مقاومت کمتری به سرما داشتند و برعکس ژنوتیپ‌هایی که میزان وزن ریشه و ساقه آن‌ها تحت تاثیر سرما کاهش کمتری پیدا کردند مقاومت بیشتری به سرما داشتند. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ‌های دشت، IR60080-64A، IR50 و IR82590-B-B-90-4 بیشترین و ژنوتیپ‌های حسنی، حسن‌سرایی، طارم منطقه کمترین میزان تولید ماده خشک اندام هوایی و ریشه را در شرایط تنش دمای پایین داشتند. میرتبار و همکاران (Mirtabar *et al.*, 2009) در آزمایشی به بررسی اثرات تنش سرما بر خصوصیات جوانه‌زنی برنج و شناسایی ارقام مقاوم پرداختند و نشان دادند که اعمال تنش سرما موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه چه، طول ساقه‌چه و درصد بذرهای خسارت‌دیده می‌شود. حسیبی و همکاران (Hasibi *et al.*, 2007) به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش سرما، ۷۷ ژنوتیپ برنج به روش آب‌کشت در فیتوترون را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها عنوان کردند که در شرایط تنش سرما، وزن خشک ریشه نسبت به وزن خشک اندام هوایی، شاخص بهتری برای نشان دادن برتری ژنوتیپ بوده و بیان‌کننده تحمل بیشتر گیاهچه برنج در تنش سرما بوده است.

تجزیه خوشه‌ای براساس صفات مهم زراعی در تنش سرما و شرایط نرمال انجام شد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۲ ژنوتیپ براساس صفات زراعی در شکل ۱ و ۲ و جداول ۷ و ۸ آمده است به منظور تعیین قرابت ژنوتیپ‌های مورد بررسی و گروه‌بندی آن‌ها براساس صفات مهم زراعی، در سه سطح شرایط نرمال (شاهد)، شرایط تنش (سرما) و تاثیر ژنوتیپ× سرما تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها صورت گرفت.

در هر سه شرایط، ژنوتیپ‌های دشت، بوجار، قصرالدشتی، IR60080-64A و IR55423-01 در یک گروه و ژنوتیپ‌های

[1] Geometric Mean Productivity
[2] Stress Intensity

حسنی و حسن‌سرایی در گروه دیگر قرار داشتند. تجزیه خوشه‌ای براساس میانگین عملکرد صفات مورد مطالعه به خوبی توانست تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی را نشان دهد. کاتو و همکارن (Kato *et al*., 1928) برای اولین بار ارقام برنج را براساس بعضی از خصوصیات ظاهری طبقه‌بندی کردند. آن‌ها بیش از ۹۰ واریته بومی و غیربومی را مورد بررسی قرار دادند و آن‌ها را به دو گروه عمده ایندیکا و ژاپونیکا تقسیم کردند. ارزیابی پراکندگی جغرافیایی دو زیرگونه نشان داد که واریته‌های برنج بومی در ژاپن، شبه جزیره کره و چین شمالی همه متعلق به گروه ژاپونیکا هستند و از طرف دیگر واریته‌های بومی محلی برنج هندوستان، چین جنوبی و تایوان متعلق به گروه ایندیکا بودند. آقازاده و همکاران (Aghazadeh *et al*., 2007) تنوع ژنتیکی ٥٦ ژنوتیپ برنج را با استفاده از ۱۵ صفت زراعی مورد بررسی قرار دادند. تجزیه خوشه‌ای، ارقام را به چهار دسته گروه‌بندی کرد و نشان داد که بین ارقام تنوع مطلوبی وجود دارد.

یکی از روش‌های بررسی واکنش ارقام به تنش‌های غیر زیستی مانند سرما، ارزیابی عملکرد ارقام از نظر شاخص‌های تحمل و حساسیت می‌باشد. شاخص‌های شدت تنش (SI)، شاخص تحمل به تنش (SSI)، شاخص‌های تحمل (TOL)، شاخص بهره‌وری متوسط (MP)، شاخص تحمل به تنش (STI) و میانگین هندسی محصول‌دهی (GMP) در صفت طول ریشه، طول ساقه، وزن ریشه و وزن ساقه محاسبه گردید.

در تنش سرما، شاخص‌های MP، بهتر از شاخص‌های تحمل (TOL) و (SSI) تمایز ایجاد کرد و دارای همبستگی معنی‌دار و بالاتر از ۰/۵ با صفات بود. همبستگی بین میانگین ژنوتیپ‌ها در سرما با شاخص‌های STI و TOL برای همه صفت‌ها غیرمعنی‌دار و کمتر از ۰/۵ بود (جدول ۹).

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به روش تجزیه خوشه‌ای و بر اساس شاخص‌های مختلف تحمل به تنش در صفت طول ریشه (شکل۳)، طول ساقه (شکل٤)، وزن ریشه (شکل ٥) و وزن ساقه (شکل ٦) به طور جداگانه انجام شد. برای صفت طول ریشه، ژنوتیپ‌ها مورد بررسی به دو گروه تقسیم شدند.

ژنوتیپ‌های متحمل که شامل IR60080-64A، IR50، IR82590-B-B-90-4، قصرالدشتی و دشت بودند در یک گروه و ژنوتیپ‌های حساس حسنی، طارم منطقه، حسن‌سرایی و IR66424-1-2-1-5 در گروه دیگر قرار گرفتند. در صفت طول ساقه، ژنوتیپ‌های مورد بررسی به سه گروه تقسیم شدند. از ژنوتیپ‌های متحمل، ژنوتیپ IR60080-64A، IR50، قصرالدشتی و دشت در یک گروه و از ژنوتیپ‌های حساس، ژنوتیپ‌های حسنی، حسن‌سرایی و IR66424-1-2-1-5 در گروه دیگر قرار گرفتند. در صفت وزن خشک ریشه، ژنوتیپ‌های مورد بررسی به سه گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های حسنی، طارم منطقه و IR66424-1-2-1-5 در یک گروه و ژنوتیپ‌های حساس حسن‌سرایی و IR83747-B-B-81-1 همراه با ژنوتیپ‌های متحمل مانند قصرالدشتی، دشت و IR50 در گروه دیگر قرار گرفتند. در صفت وزن خشک ساقه ژنوتیپ‌های مورد بررسی به سه گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های متحمل IR60080-64A، IR50 و IR82590-B-B-90-4 همراه با ژنوتیپ‌های حساس طارم منطقه، حسن سرایی و IR83747-B-B-81-1 در یک گروه و ژنوتیپ متحمل قصرالدشتی ودشت در گروه دیگر قرار گرفتند. ژنوتیپ حساس IR66424-1-2-1-5 به تنهایی یک گروه را تشکیل داد.

در بررسی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها برای صفت‌های مورد بررسی براساس شاخص‌های مختلف، مشاهده شد که دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها برای صفت طول ریشه با دندروگرام حاصل از گروه‌بندی زنوتیپ‌ها برای صفت وزن ریشه مطابقت بیشتری داشت. دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها برای صفت طول ساقه نیز با گروه‌بندی براساس وزن خشک ساقه تطابق داشت.

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ‌های قصرالدشتی، IR50، IR60080-64A و IR82590-B-B-90-4 دارای بیشترین مقدار میانگین صفات مورد بررسی و حسنی، حسن‌سرایی، Usen و IR66424-1-2-1-5 دارای کمترین مقدار صفات بودند. بر اساس شاخص‌های تحمل و حساسیت، ژنوتیپ‌های IR50، IR60080-64A، قصرالدشتی مقاوم به سرما و ژنوتیپ‌های حسنی و حسن سرایی، IR66424-1-2-1-5 و IR83747-B-B-81-1 حساس به سرما شناخته شدند. ضرایب همبستگی بین میانگین صفات مختلف گیاهچه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تنش سرما با شاخص‌های STI، GMP، MP، SSI و TOL نشان داد که سه شاخص تحمل به تنش (STI)، میانگین هندسی محصول‌دهی (GMP) و شاخص بهره‌وری متوسط (MP) بهتر از شاخص‌های تحمل (TOL) و

(SSI) تمایز ایجاد کردند و دارای همبستگی معنی‌دار و بالاتر از ۰/۵ با صفات در تنش سرما بودند. همبستگی بین میانگین ژنوتیپ‌ها در سرما با شاخص‌های STI و TOL برای همه صفت‌ها غیرمعنی‌دار و کمتر از ۰/۵ بود. تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مهم زراعی درمجموع شرایط مورد بررسی نشان داد که در هر سه شرایط مورد بررسی ژنوتیپ‌های دشت، بوجار، قصرالدشتی، IR60080-64A و IR55423-01 در یک گروه و ژنوتیپ‌های حسنی و حسن‌سرایی در گروه دیگر قرار داشتند.

جدول ۱- نام و منشأ ۲۲ ژنوتیپ برنج در مرحله گیاهچه

Table 1. Name and origin of the studied 22 rice genotypes at seedling stage

number	genotype	origin	number	genotype	origin
1	IR82590-B-B-90-4	IRRI	12	ND125	IRRI
2	Hasani	Iran	13	Hasansaraei	Iran
3	Usen	IRRI	14	Ghasraldashti	Iran
4	IR60080-64A	IRRI	15	Anbarbuilam	Iran
5	IR55423-01	IRRI	16	SAFR117	IRRI
6	Bojar	Iran	17	Domsorkh	Iran
7	IR83747-B-B-81-1	IRRI	18	Dylamani	Iran
8	Tarommantaghe	Iran	19	Line30	Iran
9	IR50	IRRI	20	IR77298-14-1-2	IRRI
10	ICMP41	IRRI	21	IR66424-1-2-1-5	IRRI
11	IR83749-B-B-65-1	IRRI	22	Dasht	Iran

جدول ۲- ترکیبات غذایی یوشیدا

Table 2. Contents of Yoshida nutrient solution

element		material	density ($g.l^{-1}$)
	N	NH_4NO_3	365.5
	P	NaH_2PO_4	142.4
macro	K	K_2SO_4	285.6
	Ca	$Cacl_2.H_2O$	469.4
	Mg	$Mgso_4.VH_2O$	1296
	Mn	$Mncl_3.4H_2O$	6
	Mo	$(NH_4)_6MO_7O_{24}.4H_2O$	0.296
	Zn	$ZnSo_4.VH_2O$	0.14
micro	B	H_3BO_3	3.736
	Cu	$CuSo_4.5H_2O$	0.124
	Fe	$Fecl_3.6H_2O$	30.8
	Acid Citric	$C_6H_8O_7.H_2O$	47.600

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های برنج در شرایط بدون تنش

Table 3 - Analysis of variance for the studied traits in rice genotypes at normal condition

		mean squares			
S.O.V.	**D.F.**	**shoot weight**	**root weight**	**shoot length**	**root length**
genotype	21	0.0001*	0.0006**	6.25**	12.27**
Error	44	0.00004	0.00006	1.11	1.28
C.V. (%)		16.86	14.47	11.79	6.98

*and**: Significant at 1% and 5% of probability levels, respectively

جدول ٤- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش

Table 4. Analysis of variance for the studied traits in rice genotypes at stress condition

	Mean-squares				
	degree of freedom	**shoot weight**	**root weight**	**shoot length**	**root length**
genotype	21	0.001*	0.002**	16.35**	25.14**
Error	44	0.00001	0.00003	0.38	1.25
C.V.		4.197	6.38	5.307	5.63

*and**: Significant at 1% and 5% of probability levels, respectively

جدول ٥- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های برنج در شرایط بدون تنش

Table 5. Means comparison for the studied traits of rice genotypes in normal condition

	shoot weight (g)	**root weight (g)**	**shoot length (cm)**	**root length (cm)**
IR82590-B-B-90-4	0.097^{b}	0.092^{gh}	16.33^{a}	22.66^{bcd}
Hasani	0.041^{h}	0.042^{k}	9^{h}	17.33^{ji}
Usen	0.054^{g}	0.094^{g}	8.66^{h}	18.33^{hij}
IR60080-64A	0.083^{d}	0.123^{de}	11.3^{gf}	22.66^{bcd}
IR55423-01	0.073^{e}	0.097^{g}	11.66^{egf}	23^{bc}
Bojar	0.064^{f}	0.108^{f}	11^{g}	24^{b}
IR83747-B-B-81-1	0.098^{b}	0.113^{f}	16.66^{a}	21d^{ef}
Tarommantaghe	0.072^{e}	0.068^{j}	11.66^{egf}	19.33^{fgh}
IR50	0.098^{b}	0.133^{bc}	14.66^{b}	20.33^{gef}
ICMP41	0.092^{c}	0.098^{g}	10.66^{g}	17.33^{ji}
IR83749-B-B-65-1	0.093^{bc}	0.097^{g}	12.66^{cde}	21.66^{cde}
ND125	0.072^{e}	0.083^{hi}	13.66^{bc}	18.33^{hij}
Hasansaraei	0.053^{g}	0.074ji	8^{h}	17.66^{hij}
Ghasraldashti	0.072^{e}	0.191^{a}	12.66^{cde}	27^{a}
Anbarbuilam	0.075^{e}	0.096^{g}	11.66^{efg}	15.33^{k}
SAFR117	0.083^{d}	0.071^{j}	11.33^{gf}	17.33^{ji}
Domsorkh	0.093^{bc}	0.084^{h}	9^{h}	17.33^{ji}
Dylamani	0.097^{bc}	0.128^{cd}	11.33^{gf}	18.3^{hij}
Line30	0.108^{a}	0.117^{ef}	12.33^{def}	20.66^{efg}
IR77298-14-1-2	0.098^{b}	0.083^{hi}	13.33^{cd}	16.66^{jk}
IR66424-1-2-1-5	0.053^{g}	0.11^{f}	8.33^{h}	19^{hig}
Dasht	0.074^{e}	0.141^{b}	11.66^{efg}	22.66^{bcd}

In each column, means with similar letter (s) are not significantly different at 0.05 of probability level

جدول ٦- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش

Table 6. Means comparison for the studied traits in rice genotypes at stress condition

	shoot weight (g)	root weight (g)	shoot length (cm)	root length (cm)
IR82590-B-B-90-4	0.097 ^{b}	0.092^{gh}	16.33^{a}	22.66^{bcd}
Hasani	0.041 ^{h}	0.042^{k}	9^{h}	17.33^{ji}
Usen	0.054 ^{g}	0.094^{g}	8.66^{h}	18.33^{hij}
IR60080-64A	0.083 ^{d}	0.123^{de}	11.33^{gf}	22.66^{bcd}
IR55423-01	0.073^{e}	0.097^{g}	11.66^{egf}	23^{bc}
Bojar	0.064^{f}	0.108^{f}	11^{g}	24^{b}
IR83747-B-B-81-1	0.098^{b}	0.113^{f}	16.66^{a}	21^{def}
Tarommantaghe	0.072^{e}	0.068^{j}	11.66^{egf}	19.33^{fgh}
IR50	0.098^{b}	0.133^{bc}	14.66^{b}	20.33^{gef}
ICMP41	0.092^{c}	0.098^{g}	10.66^{g}	17.33^{ji}
IR83749-B-B-65-1	0.093^{bc}	0.097^{g}	12.66^{cde}	21.66^{cde}
ND125	0.072^{e}	0.083^{hi}	13.66^{bc}	18.33^{hij}
Hasansaraei	0.053^{g}	0.074^{ji}	8^{h}	17.66^{hij}
Ghasraldashti	0.072^{e}	0.191^{a}	12.66^{cde}	27^{a}
Anbarbuilam	0.075^{e}	0.096^{g}	11.66^{efg}	15.33^{k}
SAFR117	0.083^{d}	0.071^{j}	11.33^{gf}	17.33^{ji}
Domsorkh	0.093^{bc}	0.084^{h}	9^{h}	17.33^{ji}
Dylamani	0.097^{bc}	0.128^{cd}	11.33^{gf}	18.3^{hij}
Line30	0.108^{a}	0.117^{ef}	12.33^{def}	20.66^{efg}
IR77298-14-1-2	0.098^{b}	0.083^{hi}	13.33^{cd}	16.66^{jk}
IR66424-1-2-1-5	0.053^{g}	0.11^{f}	8.33^{h}	19^{hig}
Dasht	0.074^{e}	0.141^{b}	11.66^{efg}	22.66^{bcd}

In each column, means with similar letter (s) are not significantly different at 0.05 of probability level

جدول ۷- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج در شرایط بدون تنش بر اساس تجزیه کلاستر صفات زراعی

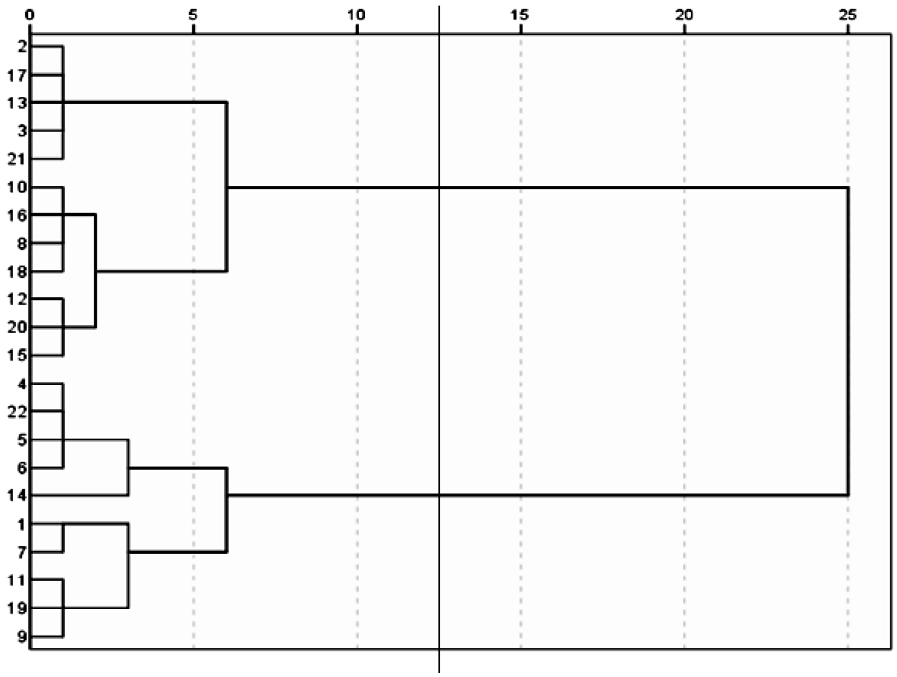
Table 7. Present rice genotypes in each group in normal condition based on cluster analysis for agronomic traits

Group 1	Group2
Hasani، Domsorkh، Hasansaraei ،	Dasht ، Bojar، Ghasraldashti، Line30
Tarommantaghe ، Dylamani ، Anbarbuilam	IR60080-64A ،IR55423-01
Usen ، IR66424-1-2-1-5، SAFR117 ، ICMP41	IR82590-B-B-90-4، IR83747-B-B-81-1
،ND125، IR77298-14-1-2	IR83749-B-B-65-1، IR50

جدول ۸- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج در شرایط تنش بر اساس تجزیه کلاستر صفات زراعی

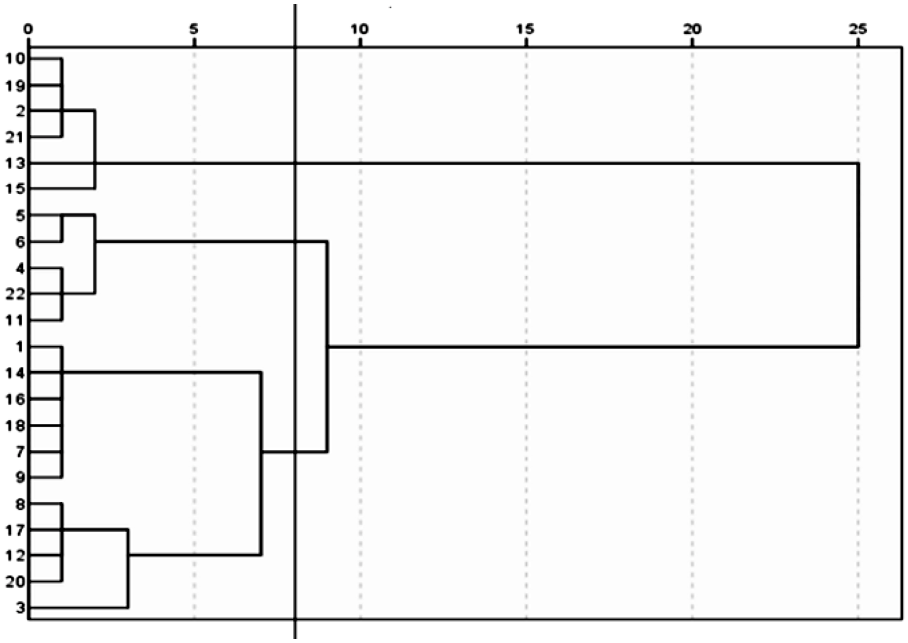
Table 8. Present genotypes in each group in stress condition based on cluster analysis for agronomic traits

Group 1	Group 2	Group3
Line30 ،Hasani، Hasansaraei ،	Dasht ، Bojar، IR60080-64A ،	Ghasraldashti، Dylamani،
Anbarbuilam، ICMP41 ، IR66424-1-	IR55423-01	Tarommantaghe،، Domsorkh، IR82590-
2-1-5		B-B-90-4، SAFR117 ، IR83747-B-B-81-1
		IR50، ND125،
		IR77298-14-1-2، Usen



شکل۱- دندروگرام تجزیه کلاستر ۲۲ ژنوتیپ برنج بر اساس صفات زراعی در شرایط بدون تنش

Figure 1. Resulting dandrogram of cluster analysis for 22 rice genotypes based on the studied agronomic traits in normal condition



شکل۲- دندروگرام تجزیه کلاستر ۲۲ ژنوتیپ برنج بر اساس صفات زراعی در شرایط تنش

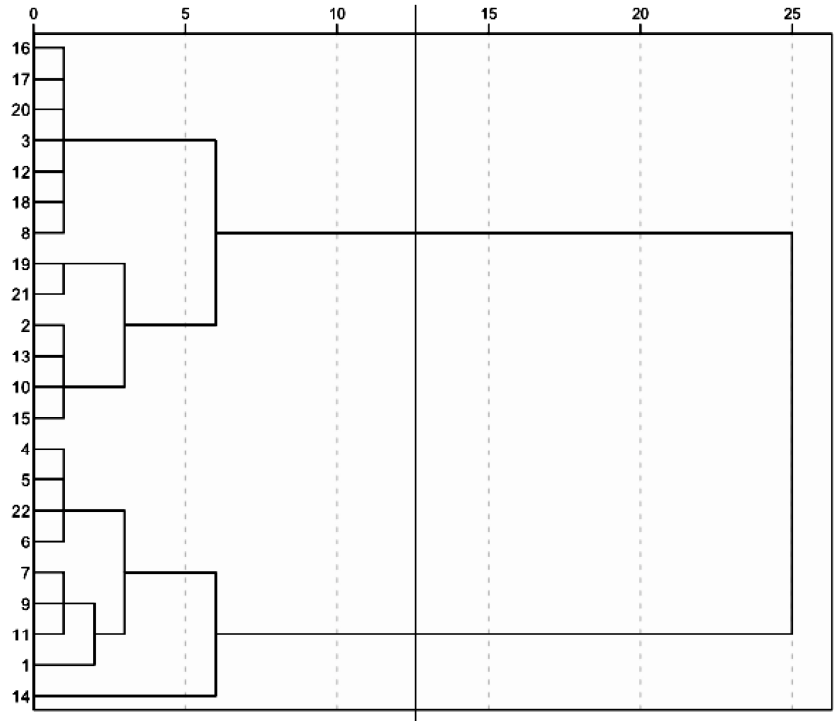
Figure 2. Resulting dandrogram of cluster analysis for 22 rice genotypes based on the studied agronomic traits in stress condition

جدول ۹- همبستگی بین صفات گیاهچه و شاخص‌های تنش در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه

Table 9. Correlation coefficients between different seedlings traits and stress indices in the studied rice genotypes

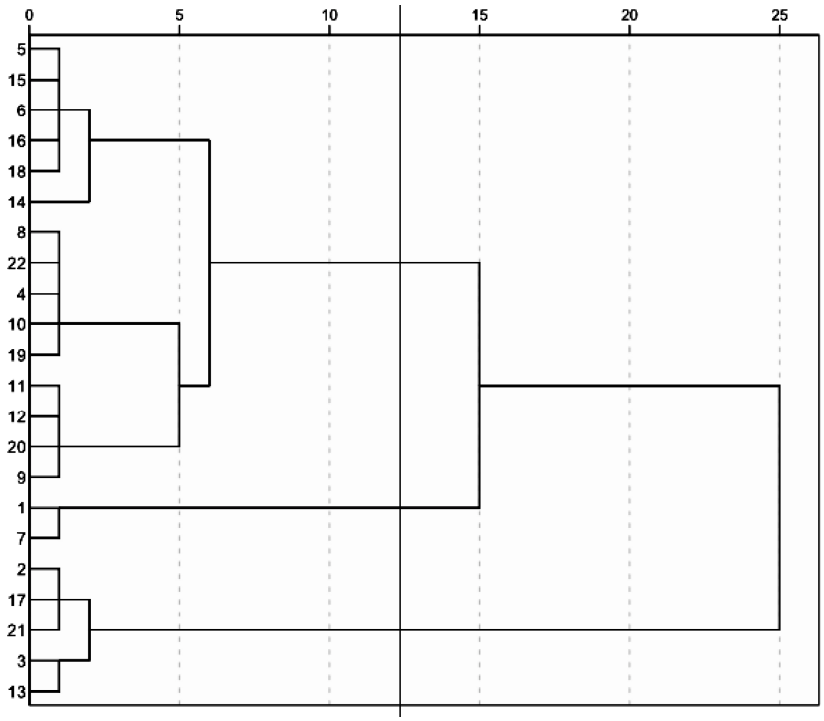
		Index				
traits	**Level of stress**	**STI**	**GMP**	**MP**	**SSI**	**TOL**
Root length	normal	0.58**	0.915**	0.938**	0.533*	0.703**
	stress	0.503*	0.895**	0.866**	-0.296	-0.097
Shoot length	normal	0.721**	0.943**	0.966**	0.417	0.8**
	stress	0.825**	0.88**	0.912**	-0.094	0.241
Root weight	normal	0.893**	0.877**	0.946**	0.459*	0.865**
	stress	0.852**	0.883**	0.761**	-0.418	0.059
Shoot weight	normal	0.888**	0.907**	0.964**	0.238	0.922**
	stress	0.859**	0.857**	0.708**	-0.111	0.198

*and**: Significant at 1% and 5% of probability levels, respectively.



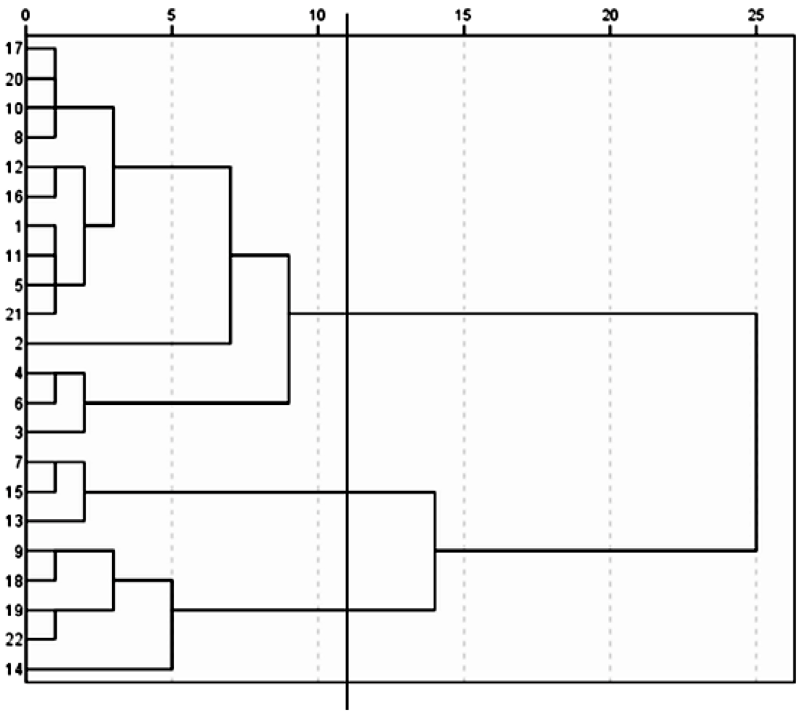
شکل۳- تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های برنج بر اساس شاخص‌های تحمل تنش از نظر طول ریشه به روش WARD

Figure 3. Cluster analysis for the studied genotypes based on stress tolerance indices in root length with WARD method



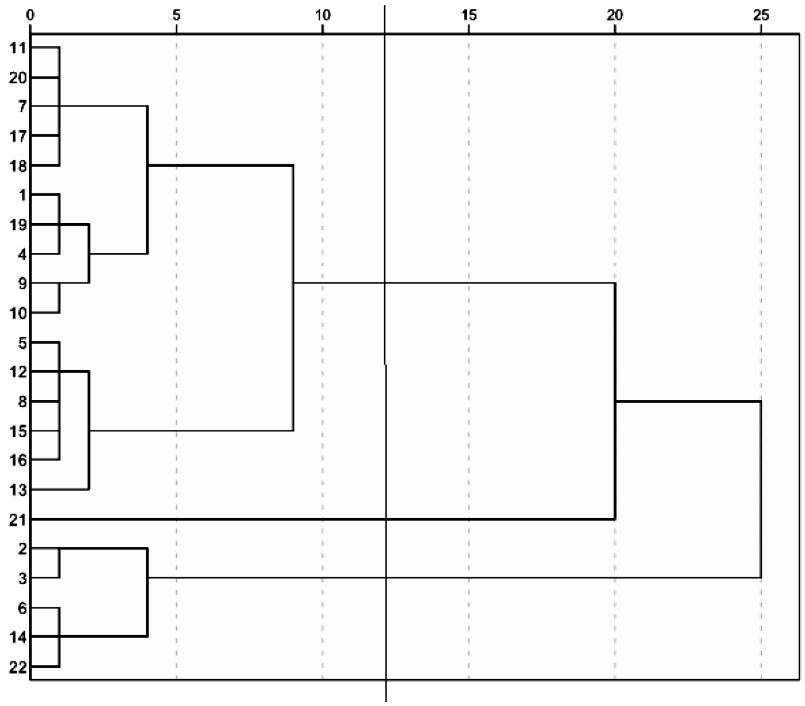
شکل ٤- تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی بر اساس شاخص‌های تحمل خشکی از نظر طول ساقه به روش WARD

Figure 4. Cluster analysis for the studied rice genotypes based on stress tolerance indices in stem length with WARD method



شکل ٥- تجزیه کلاستر بر اساس شاخص‌های تحمل خشکی از نظر وزن ریشه به روش WARD

Figure 5. Cluster analysis for the studied rice genotypes based on stress tolerance indices in root weight with WARD method



شکل ٦- تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی از نظر وزن ساقه به روش WARD

Figure 6. Cluster analysis for the studied rice genotypes based on stress tolerance indices in stem weight with WARD method

References

Aghazadeh R, Nematzadeh Gh, Babaeyan Jolodar N (2007) Assessment of genetic diversity of rice genotypes using quantitative traits. Journal of Modern Agriculture 9: 2-5. [In Persian with English Abstract].

Babaeian Jolodar N, Nematzadeh Gh, Karbala'ei M, Taeeb M (1999) Variation of agronomic traits in rice landraces in Mazandaran. Quarterly - Research Journal of Shahed University 26: 15-26. [In Persian with English Abstract].

Bodapati N, Gunawardena TH, Fukai PSH (2005) Increasing cold tolerance in rice. University of Queensland. School of Land and Food Sciences. RIRDC. Australia. 20 pp.

Ghorbany A, Zarin kamar F, Fallah A (2011) Effects of cold stress on anatomical traits and morphology in both resistant and susceptible rice varieties at germination stage. Journal of Cells and Tissues 5: 235-244.

Gregario GB, Sendhira D (1993) Genetic analysis of salinity tolerance in rice. Theoretical and Applied Genetic 86: 333-338.

Hasibi P, Moradi F, Nabipour M (2007) Screening rice genotypes for resistance to low temperature using chrophyll florescence. Iranian Agronomic Science Journal 33:14-31. [In Persian with English Abstract].

Kato A (1928) The affinity of rice varieties as shown by the fertility of hybrid plants. Bulletin Science, Faculty of Agriculture, Kyushu University 3: 132–147.

Katoozy M, Rahymzadeh-Khoei F, Sabori H (2000) Evaluation of rice cultivars at different irrigation treatments based on tolerance and sensitivity indices. Journal of Crop Production 3: 33-47.

Kazemi Arbat H (1995) Cereal Agronomy. First Edition. Tehran University Press. 254 pp. [In Persian with English Abstract].

Myrtabar M, Pyrdashty H, Karbalaee MT, Moradi F (2009) Effect of temperature on different rice varieties at germination stage. Journal Breeding of Crops 1: 66-81.

Radfar H (2004) The evaluation of cold stress on germination and seedling stage of rice in Mazandaran province, Iran. M.Sc. Thesis, Islamic Azad University, Varamin Branch, 182 pp. [In Persian with English Abstract].

SAS Inistitute (1997) SAS version 9.1, SAS Inistitute. Cary, NC., USA.

Sharify P (2012) Evaluation of Shoot growth of cold tolerant rice at germination stage. Journal of Crop Improvement 9: 108-121.

Sinha PK, Chouhan VS, Prasai K, Chautan JS (1991) Genetic divergence in indigenous upland rice varieties. Indian Journal of Genetics 51: 47-50.

SPSS (2007) 233 south Wacker Drive. 16.0 Brief guide. 11th Floor, Chicago, IL60606-6412. Patent No. 7: 023-453.

Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez, K (1976) Labratory manual for physiological studies of rice. IRRI, Los Banos, philipines.

Vergara BS, Visperas RM (1971) Effect of temperature on the physiology and morphology of rice Plant. International Rice Research Institute, Philippines 2: 66-70.

Fernandez GCJ (1992) Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo CG (Eds.), Adaptation of food crops to temperature and water-stress. AVRDC, Shanhua, Taiwan. pp. 257-270.