مقاله پژوهشی

نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال شانزدهم، شماره ۶۱، بهار ۱۴۰۰ / صفحات: ۱۶-۱

Doi: 10.30495/iper.2021.679515 *Dor:20.1001.1.76712423.1400.16.61.1.9*

بررسی اثر محیط غرقاب و خشک بر ظهور نواحی ژنی کنترل کننده صفات گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa* L.) با استفاده از نشانگرهای SSR

بهاره قاسمی مرزبالی[۱]، حسین صبوری[۱*]، حسین حسینی‌مقدم [۱]، عباس بیابانی[۱]، محمدجواد شیخ‌زاده [۲]

[۱]گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

[۲]گروه کامپیوتر، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۲٤ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۳۰

چکیده

شناسایی ژن‌های مرتبط با تحمل به تنش‌ها و مکانیسم‌های تحمل به آن‌ها یک عامل مهم برای ایجاد مقاومت در گیاهان است. به‌همین منظور؛ آزمایشی با استفاده از ۹۹ ژنوتیپ برنج در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط غرقاب و تنش خشکی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. در شرایط غرقاب در طول دوره رشد گیاه آبیاری انجام شد. برای اعمال تنش خشکی، آبیاری از مرحله سه برگی قطع شد. با توجه به منحنی رطوبت، میزان تنش ۲ درصد رطوبت وزنی معادل ۰/۵۵- مگا پاسکل تخمین زده شد. صفات ارزیابی‌شده در هر دو شرایط کشت تفاوت معنی‌داری با هم داشتند. تجزیه ارتباط اطلاعات به‌دست آمده از آزمایش‌های مولکولی و بررسی‌های فنوتیپی در شرایط غرقاب نشان‌دهنده این موضوع بود که از میان آلل‌ها، آلل RM129A با وزن تر ساقه و طول ریشه و آلل RM129G با وزن‌تر ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ و آلل RM129B با وزن خشک ریشه و طول بزرگ‌ترین برگ و آلل RM1029I با وزن خشک ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ و در شرایط تنش خشکی آلل RM1029G با وزن خشک ساقه، حجم ریشه و تعداد ریشه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. پرایمر RM1029 یکی از پرایمرهای مهم در مرحله گیاهچه شناسایی شد. از نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان در جهت افزایش تحمل به خشکی ارقام برنج استفاده نمود.

واژه کلیدی: برنج، تجزیه ارتباط، تنش خشکی، تنوع ژنتیکی، گیاهچه.

مقدمه

برنج، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی دنیا، در بخش‌های وسیعی از سراسر جهان کشت می‌شود و غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان است (Park et al., 2014). واژه تنش به هر عاملی که روی گیاه تأثیر منفی گذاشته و از بیان کامل پتانسیل ژنتیکی یک یا چند صفت جلوگیری می‌کند، اطلاق می‌شود. خشکی عمده خطرات جدی برای تولید موفق محصولات زراعی به‌خصوص برنج در جهان است که می‌تواند در هر زمان طی فصل رشد رخ دهد. برنج سازگاری نسبتاً کمی به شرایط محدودیت آبی دارد و به‌شدت به کمبود آب حساس است (Lafitte et al., 2004). از این‌رو یکی از چالش‌های اصلی در کشاورزی تولید غذای بیش‌تر با آب کم‌تر می‌باشد (Tuyen and Prasad, 2008). تنش خشکی تا حدودی در ۵۰ درصد از اراضی تولید برنج جهان

*نویسنده مسئول: hos.sabouri@gmail.com

رخ می‌دهد (Ndjiondjop et al., 2010). مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در انتخاب گیاهان مقاوم در مناطق تحت شوری و خشکی همواره مد نظر بوده است (Karamanos and Papatheohari, 1999). بنابراین انتخاب گیاهان مقاوم به تنش‌های محیطی در مرحله جوانه‌زنی بذر اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا ژنوتیپ‌هایی که توانایی جوانه‌زنی بیش‌تری دارند، در مرحله گیاهچه‌ای، سیستم ریشه‌ای قوی‌تری دارند و به‌علت استقرار سریع‌تر پوشش گیاهی برای تولید مواد فتوسنتزی، از عملکرد بهتری نیز برخوردارند (Anbumalarmathi and Mehta, 2013). گیاهان برای سازگار شدن با شرایط کم‌آبی، مکانیسم‌های گوناگونی را توسعه داده‌اند. جنبه‌های ژنتیک مولکولی، امکان پاسخ مناسب و سازگاری با تنش خشکی را به آن‌ها داده است. برای استفاده مناسب از این سرمایه عظیم، اطلاع از ماهیت و میزان تنوع موجود در ژرم‌پلاسم، از اهمیت زیادی در برنامه‌های به‌نژادی برخوردار است. والدینی که از لحاظ ژنتیکی متفاوت هستند، هیبریدهای با هتروزیس بیش‌تر تولید می‌کنند و احتمال وجود تفرق یافته برتر را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر تعیین مشخصات و گروه‌بندی ژرم‌پلاسم به اصلاح‌گران امکان می‌دهد تا از دوباره‌کاری در نمونه‌گیری از یک جمعیت خودداری نمایند (Soroush et al., 2005). موفقیت هر به‌نژادگر به تعیین تنوع ژنتیکی و استفاده از آن در برنامه‌های اصلاحی بستگی دارد. لذا ضروری است که تنوع موجود در جمعیت گیاهی مورد مطالعه، به دقت بررسی و از آن استفاده شود (Aghazadeh et al., 2004).

با توجه به اهمیت برنج، شناخت ارقام متحمل به تنش خشکی ضروری می‌رسد. هدف از این پژوهش، بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج از لحاظ نشانگرهای ریزماهواره و تجزیه ارتباط بین آلل‌های نشانگرهای مورد استفاده و صفات اندازه‌گیری شده تحت تنش خشکی به‌منظور شناسایی نشانگرهای ریزماهواره آگاهی بخش بود.

مواد و روش‌ها

ارزیابی‌های فنوتیپی: به‌منظور بررسی واکنش ژنوتیپ‌های برنج به تنش خشکی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۷ بررسی شدند. این آزمایش با ۹۹ ژنوتیپ برنج دریافت شده از مؤسسه بین المللی تحقیقات برنج در قالب تفاهم مشترک دانشگاه گنبد کاووس و آن مؤسسه انجام شد. برای ارزیابی‌های فنوتیپی از سینی‌های پلاستیکی استفاده شد. در هر سینی ۷۲ سلول (خانه) برای کشت وجود داشت. ابتدا بذرهای سالم و کامل از هر ژنوتیپ انتخاب گردید و پس از ضدعفونی با محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم و شست‌شو با آب مقطر، به تعداد ۵ عدد بذر در هر خانه سینی‌های کشت در هر تکرار قرار داده شد و تا مرحله سه برگی تکرارهای غرقاب و تنش تحت شرایط یکسان و به صورت غرقاب آبیاری شدند. برای اعمال تنش خشکی، آبیاری از مرحله سه برگی قطع شد. با توجه به منحنی رطوبت خاک متناسب با مزرعه تحقیقاتی که خاک از آن جمع آوری شده بود، با فاصله ۳ روز اقدام به نمونه برداری شد و رطوبت خاک به‌ترتیب ۱۵، ۱۲، ۹ و ٤ و ۲ درصد رطوبت وزنی معادل ۰/۰۲۵-، ۰/٦-، ۰/۱۳-، ۰/۳٦- و ۰/۵۵- مگا پاسکل تخمین زده شد.

جدول ۱: ژنوتیپ‌های مورد بررسی (منشاء تمام لاین‌ها IRRI است).

شماره	ژنوتیپ	شماره	ژنوتیپ	شماره	ژنوتیپ
۱	IRRI 133	۳۹	IR13F589	۷۷	IR 09N127
۲	IR 09L324	٤٠	IR13F228	۷۸	IR14L260
۳	IR 11A506	٤١	IRRI 132	۷۹	IR 09L204
٤	IRRI 153	٤٢	IR14L160	۸۰	IR06A145
٥	BP 11820-5F-KN-10-2	٤٣	HHZ 10-DT5-LI1-LI1	۸۱	IR 10A227
٦	HHZ 2-SUB2-DT1-DT1	٤٤	IRBLSH-S	۸۲	IRBLK-KU
۷	IR14L248	٤٥	IR12L159	۸۳	HHZ 4-SAL5-LI1-LI1
۸	IR14L110	٤٦	B11598C-TB-2-1-B-7	۸٤	IR 05A272
۹	IR13L400	٤٧	IR13L382	۸٥	IRRI 103
۱۰	IRBLKH-K3	٤٨	IR09N516	۸٦	IRRI 146
۱۱	IR 10A199	٤٩	HHZ 4-SAL5-Y2-Y1	۸۷	IRRI 154
۱۲	HHZ 4-SAL12-LI1-LI1	٥٠	IR14L262	۸۸	IRBLZT-IR56
۱۳	HHZ 22-Y3-DT1-Y1	٥١	IR14L235	۸۹	HHZ 10-DT8-DT1-DT1
۱٤	IR13L406	٥٢	IR13L137	۹۰	HHZ 14-SAL19-Y1
۱٥	HHZ 1-DT7-LI2-LI1	٥٣	CT 18614-4-1-2-3-2	۹۱	HHZ 15-DT7-SAL2
۱٦	IR 10A237	٥٤	IR 64	۹۲	IR 04A216
۱۷	IR 11A581	٥٥	IR12L356	۹۳	IRBLZ5-CA[CO]
۱۸	IR 10A314	٥٦	HHZ 15-SAL13-Y1	۹٤	HHZ 16-SAL13-LI1-LI1
۱۹	HHZ 4-DT3-Y1-Y1	٥۷	HHZ 26-SAL12-Y1-Y1	۹٥	IR 09L324
۲۰	IR 11A501	٥۸	IR12L369	۹٦	IRBLSH-IS
۲۱	IR 10F221	٥۹	HHZ 3-SAL6-Y1-Y1	۹۷	HHZ 1-DT4-LI1-LI1
۲۲	HHZ 21-SAL13-Y1-Y1	٦٠	HHZ 1-DT3-Y1-Y1	۹۸	IRBLKS-CO
۲۳	IR 09N251	٦١	HHZ 4-DT6-LI2-LI1	۹۹	IR08L216
۲٤	HHZ 23-DT16-DT1-DT1	٦٢	IR14L121	۱۰۰	IRBLTA2-IR64
۲٥	IRRI 104	٦٣	IRBLT-K59	۱۰۱	IRBLTA-ME
۲٦	IR14L101	٦٤	IR 11N121	۱۰۲	IRBLKM-TS
۲۷	IR12L353	٦٥	HHZ 6-DT1-LI1-LI1		
۲۸	HHZ 3-SAL4-Y1-Y1	٦٦	IR 11C123		
۲۹	SAKHA 105	٦۷	IR08L217		
۳۰	HHZ 21-Y4-Y2-Y1	٦۸	IR10A121		
۳۱	IR 11A410	٦۹	IR14L256		
۳۲	IR14L240	۷۰	IR12L357		
۳۳	IR14L247	۷۱	HHZ 18-Y3-Y1-Y1		
۳٤	HHZ 15-SAL13-Y3	۷۲	HHZ 24-DT11-LI1-LI1		
۳٥	IR10L139	۷۳	IR14L238		
۳٦	B 40	۷٤	IR 11N137		
۳۷	IR13L397	۷٥	HHZ 3-SAL13-Y2-DT1		
۳۸	IR12L201	۷٦	IR13L268		

ارزیابی ژنوتیپی: برای استخراج DNA، برگ‌های جوان عاری از هر گونه آلودگی از هر ژنوتیپ را به‌وسیله نیتروژن مایع طبق روش CTAB Saghi Maroof و همکاران (۱۹۹۷) استخراج و به تیوپ‌های ۱/۵ منتقل شدند. برای اطمینان کار تمام وسایل لازم در این پژوهش با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. برای تعیین کیفیت DNA استخراجی با استفاده از الکتروفورز افقی (ژل آگارز ۸ درصد) که روش سریع و ساده برای تعیین کیفیت DNA می‌باشد، استفاده شد. مواد مورد استفاده و میزان مقدار مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز SSR، برنامه حرارتی تاچ داون برای تکثیر نشانگرها در (جدول ۲ و ۳) آمده است از نشانگرهای ریز ماهواره که به‌عنوان نشانگرهای پیوسته به تنش خشکی بر پایه مقالات معتبر گزارش شده بودند، تکثیر شد. پس از انجام واکنش PCR الکتروفورز DNA تکثیری روی ژل اکریل آمید ٦ درصد انجام گرفت. جهت نمایان‌سازی باندها با روش موسوم به روش سریع رنگ‌آمیزی با نیترات نقره An و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد.

جدول ۲: مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز SSR

اجزای واکنش	مقدار مواد (میکرولیتر)	غلظت مواد
بافر pcr10X	۱	1X
$MgCl_2$	۰/٤٨	۵۰ میلی‌مولار
dNTP	۰/٦	۱۰ میلی‌مولار
آنزیم Taq DNA پلی‌مراز	۰/۱۲	
آغازگر	۱/۵ میکرولیتر	٦۰ نانوگرم
DNA رقیق شده	۲/۵ میکرولیتر	۰/۵-۰/۷۵ نانوگرم
H_2O	۳/۸ میکرولیتر	
حجم نهایی	۱۰ میکرولیتر	

جدول ۳: برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های SSR

مرحله واکنش	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه) و (ثانیه)	تعداد چرخه
واسرشته سازی اولیه DNA	۹۵	٤۵"	۱
واسرشته سازی DNA	۹۵	٤۵"	۱۰
اتصال آغازگرها	-	٤۵"	
سنتز	۷۲	٤۵"	
واسرشته سازی DNA	۹۵	٤۵"	۲۵
اتصال آغازگرها	-	٤۵"	
سنتز	۷۲	٤۵"	
تکثیر نهایی	۷۲	۵'	۱

جهت تجزیه داده‌های فنوتیپی (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین) از نرم‌افزار SAS 9.2 استفاده شد. رابطه بین هر کدام از صفت‌های ثبت شده با اطلاعات حاصل از نشاگرهای SSR با استفاده از روابط رگرسیون و به کمک نرم‌افزار SPSS 22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته شد.

جدول ٤: اطلاعات نشانگرهای SSR مورد مطالعه

نشانگر	کروموزوم	آغازگرهمسو	آغازگر معکوس	منبع
RM530	2	GCACTGACCACGACTGTTTG	ACCGTAACCCGGATCTATCC	(Vikram *et al* 2011) (Donde *et al*., 2019)
RM127	4	GTGGGATAGCTGCGTCGCGTCG	AGGCCAGGGTGTTGGCATGC TG	(Lanceras *et al*., 2004)
RM129	1	TCTCTCCGGAGCCAAGGCGAGG	CGAGCCACGACGCGATGTAC CC	(Prasad *et al*., 2016)
RM216	10	GCATGGCCGATGGTAAAG	TGTATAAAACCACACGGCCA	(Dixit *et al.*, 2014), (Vikram *et al*.,2011)
RM231	3	CCAGATTATTTCCTGAGGTC	CACTTGCATAGTTCTGCATTG	(Diwan *et al*., 2013), (Tabkhkar *et al*., 2018) (sabouri *et al*., 2019)
RM236	2	GCGCTGGTGGAAAATGAG	GGCATCCCTCTTTGATTCCTC	(Sandhu and Kumar, 2017); (kumar *et al*., 2014)
RM22	3	GGTTTGGGAGCCCATAATCT	CTGGGCTTCTTTCACTCGTC	(Donde *et al*., 2019), (Vikram *et al* 2011)
RM60	3	AGTCCCATGTTCCACTTCCG	ATGGCTACTGCCTGTACTAC	(Donde *et al*., 2019), (Vikram *et al* 2011)
RM12091	1	CTGCAAATGCACAGGAATCAGG	TCCTCTCGCCTTTCTTTCTCT CC	(Vikram *et al*., 2011)
RM263	2	CCCAGGCTAGCTCATGAACC	GCTACGTTTGAGCTACCACG	(Vikram *et al*., 2011)
RM520	3	AGGAGCAAGAAAAGTTCCCC	GCCAATGTGTGACGCAATAG	(Venuprasad *et al*,. 2009)
RM511	12	CTTCGATCCGGTGACGAC	AACGAAAGCGAAGCTGTCTC	(Bernier *et al*., 2007)
RM157	3	CCTCCTCCTCACGAATCCCGCC	GGGCTTCTTCTCCGCCGGCTT C	(Prasad *et al*., 2016);(Hussain *et al*., 2011)
RM1029	1	GATTTCCTGCGAATGAGAGAAGG	GACTTCAGGGACAAGCAGTT CC	(Kumar et al., 2017)
RM304	10	TCAAACCGGCACATATAAGAC	GATAGGGAGCTGAAGGAGA TG	(Swamy et al., 2017); (Kumar et al., 2017)

نتایج

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه وجود دارد. تجزیه واریانس اثر متقابل ژنوتیپ و شرایط کشت صورت گرفت که این اثر متقابل برای صفات طول ریشه، طول ساقه، طول بزرگ‌ترین برگ، عرض بزرگ‌ترین برگ، تعداد ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، حجم ریشه، وزن خشک ریشه و وزن ساقه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۵) و نشان‌دهنده رفتار متفاوت ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف شرایط کشت از نظر صفات مورد مطالعه بود. نظر به معنی‌دار شدن اثر متقابل رقم و شرایط کشت، آزمایش فاکتوریل به دو تجزیه جداگانه غرقاب و تنش برش‌دهی شد. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط غرقاب در مرحله گیاهچه در تمامی صفات در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند. کم‌ترین ضریب تغییرات در شرایط غرقاب صفت تعداد ریشه می‌باشد با مقدار ۱۳/۸۶۷ و بیش‌ترین

ظریب تغییرات برای صفت وزن تر ساقه به مقدار ۳۹/٤۸۰ می‌باشد (جدول ٦).

تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط تنش خشکی در مرحله گیاهچه در تمامی صفات در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند و کم‌ترین ضریب تغییرات در شرایط تنش خشکی برای صفت تعداد ریشه با مقدار ۸/۸۸٦ و بیش‌ترین ضریب تغییرات برای صفت حجم کل ریشه با مقدار ۲٦/٥۱۳ می‌باشد (جدول ۷).

مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها در شرایط غرقاب نشان داد که در صفت طول ساقه ژنوتیپ ۲٦ با مقدار ۹/۷٥ بیش‌ترین، در صفت طول ریشه ژنوتیپ ۷ با مقدار ۱۰/۸۲، در صفت طول بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ ٤ با مقدار ۲۹/٥۰، در صفت عرض بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ ٤۳ با مقدار ۹/٤۱٦، در صفت تعداد ریشه ژنوتیپ ۱٦ با مقدار ۷/۷٥۰ و برای صفات وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، حجم ریشه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه به ترتیب ژنوتیپ‌های ٦٥، ۲۷، ۹، ٤ می‌باشند (جدول ۸). مقایسه میانگین برای شرایط تنش نشان داد که طول ساقه، طول ریشه ، طول بزرگ‌ترین برگ، عرض بزرگ‌ترین برگ، تعداد ریشه، وزن ترساقه، وزن تر ریشه، حجم ریشه، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه به ترتیب شامل ژنوتیپ‌های ٤٦، ٤۷، ۱۰۱، ۹٥، ۹۳، ۸۳، ۱۰۱، ٥، ۱۰۱، ٥ بیش‌ترین مقدار می‌باشند. در تنش خشکی ژنوتیپ ٥ در صفات طول ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ و ژنوتیپ ۱۰۱ در صفات طول ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ و حجم کل ریشه دارای بالاترین مقدار هستند و این نشان‌دهنده تحمل بالای این دو ژنوتیپ به تنش خشکی می‌باشد (جدول ۹). مقایسه میانگین مرحله گیاهچه در شرایط غرقاب و تنش خشکی نشان داد که در صفت طول ساقه ژنوتیپ ۱٦، طول ریشه ژنوتیپ ۹، طول بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ‌های ۳٥، ۲۷، ۲٦، در صفت عرض بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ ۱۰۱، در صفت تعداد ریشه ژنوتیپ‌های ۷، ۲٥، در صفت وزن تر ساقه ژنوتیپ‌های ۲۷، ۷۲، ۳٥، ٦۹، در صفت وزن تر ریشه ژنوتیپ‌های ٥٥، ۲۷، ۷۲ ، در صفت حجم ریشه ژنوتیپ‌های ۷۲، ۱٦، ۱۲، در صفت وزن خشک ساقه ژنوتیپ‌های ۹٤، ۲۷، ۸۱، ۳٥ و در صفت وزن خشک ریشه ژنوتیپ‌های ۳۹، ۹٤ مشترکاً در شرایط تنش و غرقاب جز ده درصد برتر می‌باشند.

جداول ٥: تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل

		میانگین مربعات			
منابع تغییر	درجه ازادی	طول ساقه	طول ریشه	طول بزرگ‌ترین برگ	عرض بزرگ‌ترین برگ	تعداد ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۳/٦۳۹**	٤/٦۳۲**	۲٦۰۱/۱۳۲**	۱۲۸/۷٥۷**	۱۷٦/۱۱۱**
تنش	۱	۱۲۲٤/۲٤۰**	۱۲٦۱/۳۹٦**	٦۱۳٦/۲۱۱**	۱۸٥/۲٦۹**	۱۰۸/۳٥٤**
ژنوتیپ × تنش	۹۸	۲/۸۳۹**	۳/٦٥۱**	۱۷۷٥/٥۲٦**	۱۱٤/۰۹٥**	۱۰۸/۲۱٤**
خطا	۳۹٦	۰/۳۳٤	۰/۷۰۳	۲/٦٦۳	۰/۳٤۹	۰/۳۰۲۸۷۲٦٦
ضریب تغییرات		۱٦/۹۹۰	۲۲/۳۳٦	۲۲/٦٥۱	۲٤/٥۳۷	۱۲/۱٤۰

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

ادامه جدول ۵:

منابع تغییر	درجه ازادی	وزن‌تر ساقه	وزن‌تر ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۰/۰۱۶**	۱/۸۲۶**	۳۶/۶۵۴**	۰/۰۲۰**	۰/۰۲۶**
تنش	۱	۰/۹۵۵**	۰/۶۶۲**	۴۷/۲۱۹**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
ژنوتیپ × تنش	۹۸	۰/۰۱۷**	۱/۸۰۳**	۳۲/۴۴۵**	۰/۰۱۴**	۰/۰۱۹**
خطا	۳۹۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۴۴/۶۵۱	۱۸/۲۹۹	۲۵/۱۱۵	۲۲/۴۵۶	۲۴/۱۴۳

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۶: تجزیه واریانس در شرایط غرقاب

		میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	طول ریشه	طول بزرگ‌ترین برگ	عرض بزرگ‌ترین برگ	تعداد ریشه	وزن‌تر ساقه	وزن‌تر ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۵/۷۸۰**	۷/۴۲۳**	۴۱/۳۱۵**	۱/۹۷۲**	۲/۲۷۱**	۰/۰۳۰**	۰/۰۳۶**	۰/۶۹۷**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
خطا	۱۹۸	۰/۵۴۲	۱/۲۰۴	۱/۹۸۴	۰/۶۱۲	۰/۴۷۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۱۵/۲۱۸	۲۱/۰۵۸	۲۱/۴۲۶	۲۶/۳۸۴	۱۳/۸۶۷	۳۹/۴۸۰	۱۵/۳۱۹	۱۹/۵۰۶	۲۴/۰۶۴	۲۴/۹۴۲

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۷: تجزیه واریانس در شرایط تنش خشکی

		میانگین مربعات							
منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	طول ریشه	طول بزرگ‌ترین برگ	عرض بزرگ‌ترین برگ	تعداد ریشه	وزن‌تر ساقه	وزن‌تر ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۰/۶۹۷**	۰/۸۵۹**	۳/۳۴۴**	۰/۰۸۵**	۰/۶۲۹**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
خطا	۱۹۸	۰/۱۲۶	۰/۲۰۱	۰/۳۴۳	۰/۵۰۵	۰/۱۳۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۱۸/۰۶۶	۱۹/۵۶۵	۱۴/۶۷۹	۱۵/۸۲۳	۸/۸۶۷	۱۷/۵۹۱	۱۹/۹۷۵	۲۶/۵۱۳	۲۰/۴۶۹	۲۲/۹۲۰

**معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

تجزیه ارتباط: تجزیه ارتباط اطلاعات به‌دست آمده از آزمایش‌های مولکولی و اطلاعات به دست آمده از بررسی‌های فنوتیپی در شرایط غرقاب نشان‌دهنده این موضوع بود که صفت تعداد ریشه با ۱۰ آلل RM127A، RM231G، RM157BB، RM263E، RM60E، RM129E، RM1029D، RM1029C، RM520A و RM129H در ارتباط بوده و این صفت بیش‌ترین ارتباط با آلل‌ها را در بین تمام صفت‌های فنوتیپی که اندازه‌گیری شده‌اند از خود نشان می‌دهد. بعد از تعداد ریشه، دو صفت طول بزرگ‌ترین برگ و طول ریشه با در ارتباط بودن با ۶ آلل بیش‌ترین ارتباط را با آلل‌ها دارند (جدول ۱۰). صفات وزن تر ساقه و حجم ریشه با ۴ آلل و صفت وزن تر ریشه با ۳ آلل و صفات وزن خشک ریشه و طول ساقه با ۲ آلل و صفات عرض بزرگ‌ترین برگ و وزن خشک ساقه با ۱ آلل در ارتباط بود. از میان آلل‌ها، آلل RM129A با مرتبط بودن با صفات وزن تر ساقه و طول ریشه و آلل RM129G با مرتبط بودن با صفات وزن تر ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ و آلل RM129B با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ریشه و طول بزرگ‌ترین برگ و آلل RM1029I با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند.

جدول ۸: مقایسه ده درصد ژنوتیپ برتر در شرایط غرقاب

ژنوتیپ	طول ساقه (سانتی متر)	ژنوتیپ	طول ریشه (سانتی متر)	ژنوتیپ	طول بزرگترین برگ(سانتی متر)	ژنوتیپ	عرض بزرگترین برگ(سانتی متر)	ژنوتیپ	تعداد ریشه	ژنوتیپ	وزن‌تر ساقه (گرم)	ژنوتیپ	وزن‌تر ریشه (گرم)	ژنوتیپ	حجم ریشه (متر مکعب)	ژنوتیپ	وزن خشک ساقه (گرم)	ژنوتیپ	وزن خشک ریشه (گرم)
۲۶	۹/۷۵	۷	۱۰/۸۲	۴	۲۹/۲۵	۴۳	۹/۴۱۶	۱۶	۷/۷۵۰	۴	۰/۸۳۰	۹	۰/۹۲۰	۲۷	۲/۱۰	۶۵	۰/۰۴۴	۶۵	۰/۰۸۶
۲۷	۸/۵	۴۷	۸/۵۰۰	۳۵	۲۲/۶۰	۱۰۱	۴	۳۵	۶/۹۵۸	۸۲	۰/۳۸۰	۳۱	۰/۶۰۰	۱۶	۲/۰۰	۹۴	۰/۰۳۴	۹۴	۰/۰۴۶
۳۵	۸/۲۱۲	۶۰	۸/۲۵	۲۷	۱۸/۵۰۰	۸۲	۳/۷۷۵	۷	۶/۸۰۰	۴۸	۰/۳۱۸	۵۵	۰/۱۹۶	۷	۲/۰۰	۲۷	۰/۰۳۳	۵۷	۰/۰۳۶
۵۰	۶/۷۲۵	۷۶	۸/۰۸۳	۲۶	۱۷/۵۰۰	۹۸	۳/۷۶۶	۲۵	۶/۷۹۱	۵۷	۰/۲۹۳	۷۹	۰/۱۹۶	۷۲	۱/۶۶۶	۸۱	۰/۰۳۲	۹۱	۰/۰۳۳
۴۳	۶/۵۸۳	۹	۷/۵۵۰	۳۴	۱۴/۹۰	۵۵	۳/۷۵۰	۳۸	۶/۶۶۶	۲۷	۰/۲۸۴	۲۷	۰/۱۹۱	۲	۱/۵۰	۲	۰/۰۳۱	۷۱	۰/۰۳۱
۱۶	۶/۴۳۷	۶۸	۷/۲۹۱	۶۹	۱۴/۶۴۲	۱۶	۳/۵۵۰	۴۹	۶/۴۳۳	۷	۰/۲۳۳	۶۷	۰/۱۷۲	۳۴	۱/۲۵	۶۲	۰/۰۳۰	۷	۰/۰۲۸
۷	۶/۳۵۰	۸۴	۷/۱۲۵	۱۶	۱۴/۴۸۸	۵۰	۳/۵۰۰	۱۲	۶/۴۰۰	۷۲	۰/۲۱۰	۵۳	۰/۱۷۱	۱۰	۱/۲۰	۷۱	۰/۰۳۰	۳۹	۰/۰۲۸
۳۴	۶/۳۲۵	۶۱	۷/۰۶۲	۲۵	۱۴/۳۱۳	۵۳	۳/۵۰۰	۱۸	۶/۳۳۳	۷۵	۰/۱۹۰	۷۲	۰/۱۶۲	۱۲	۱/۲۰	۳۵	۰/۰۲۶	۴۷	۰/۰۲۷
۱۲	۶/۲۷۵۰	۴۶	۷/۰۴۱	۹۷	۱۴/۰۲۲	۹۵	۳/۵۰۰	۱	۶/۲۵۰	۳۵	۰/۱۸۵	۵۰	۰/۱۶۲	۱	۱/۱۰۰	۷	۰/۰۲۶	۱۰	۰/۰۲۶
۸	۶/۲۷۵	۶۴	۷	۶۴	۱۳/۶۲۵	۹۶	۳/۵۰۰	۷۸	۶/۱۷۷	۶۹	۰/۱۸۲	۳۴	۰/۱۶۲	۲۱	۱/۱۰۰	۹۱	۰/۰۲۵	۸۳	۰/۰۲۶
HSD	۲/۶۳۳۱		۳/۹۲۴۴		۷/۹۸۴۱		۲/۷۹۹۲		۲/۴۵۹۹		۰/۱۵۲۸		۰/۲		۰/۴		۰/۰۱۲۶		۰/۰۱۴۶

جدول ۹. مقایسه ده درصد ژنوتیپ برتر در شرایط تنش خشکی

۵	۴/۲۵۰	۱۰۱	۵/۰۰۰	۵	۹/۴۰۰۰	۱۰۱	۳/۲۰۰	۸۳	۵/۱۶۶	۹۳	۰/۳۱۰	۹۵	۰/۱۴۲	۱۰۱	۰/۲۴۰	۱	۰/۰۳۶	۳۷	۰/۰۳۵
۱۶	۳/۵۰۰	۵	۳/۲۱۰	۱۰	۷/۶۵۳	۱۰۲	۲/۵۸۳	۴۷	۵/۱۰۰	۶۴	۰/۱۵۳	۲۷	۰/۰۵۳	۷۳	۰/۲۰۰	۳۵	۰/۰۲۹	۹۴	۰/۰۳۰
۴۳	۳/۳۳۰	۷۳	۳/۰۹۱	۴۷	۶/۹۲۰	۷۳	۲/۵۰۰	۲۵	۴/۸۰۰	۶۶	۰/۱۳۱	۵۵	۰/۰۴۳	۳۶	۰/۱۵۰	۴۷	۰/۰۲۹	۴۶	۰/۰۳۰
۳۵	۳/۲۷۰	۲۷	۳/۰۶۰	۳۵	۶/۱۷۰	۸۶	۲/۵۰۰	۸۴	۴/۷۵۰	۶۹	۰/۰۵۵	۷۲	۰/۰۴۱	۱۳	۰/۱۵۰	۹۴	۰/۰۲۷	۶۱	۰/۰۲۵
۵۷	۵۷/۷۵۸	۹	۳/۰۰۰	۱۴	۵/۸۸۳	۶۵	۲/۵۰۰	۶۴	۴/۷۵۰	۷۲	۰/۰۴۷	۳۵	۰/۰۳۷	۱۲	۰/۱۵۰	۳۵	۰/۰۲۹	۳۰	۰/۰۲۵
۱۰۱	۲/۶۸۰	۴۷	۲/۹۸۷	۲۷	۵/۱۵۰	۷۶	۲/۵۰۰	۷	۴/۷۰۰	۷	۰/۰۴۶	۹۲	۰/۰۳۷	۷۲	۰/۱۵۰	۸۱	۰/۰۲۹	۷۲	۰/۰۲۴
۴۷	۲/۵۳۰	۳۹	۲/۹۵۰	۷۲	۵/۷۰۰	۶۶	۲/۵۰۰	۱۴	۴/۶۶۶	۷۴	۰/۰۴۴	۱۳	۰/۰۳۴	۱۶	۰/۱۵۰	۷۲	۰/۰۲۳	۲	۰/۰۲۳
۳۸	۲/۴۵۰	۳۱	۲/۹۵۰	۴۶	۵/۶۷۵	۹۲	۲/۵۰۰	۸	۴/۶۲۵	۹۴	۰/۰۴۴	۱۰۱	۰/۰۳۳	۷۴	۰/۱۵۰	۶۶	۰/۰۲۳	۱۵	۰/۰۲۳
۳۲	۲/۴۱۰	۲۱	۲/۹۳۷	۴	۵/۲۶۲	۸۴	۲/۴۳۷	۶۶	۴/۶۲۵	۳۵	۰/۰۳۷	۴۳	۰/۰۳۳	۳۲	۰/۱۵۰	۱۳	۰/۰۲۳	۳۹	۰/۰۲۲
۹۴	۲/۴۰۵	۲۰	۲/۸۸۳	۲۶	۵/۲۵۰	۱۳	۲/۴۱۶	۴۳	۴/۶۰۰	۳۷	۰/۰۳۶	۳۲	۰/۰۳۱	۷۱	۰/۱۵۰	۲۷	۰/۰۲۲	۴۸	۰/۰۲۲
HSD	۱/۲۷۰۷	۱۰۹			۲/۰۹۵۴		۱/۰۴۶۷		۱/۳۰۲۱		۰/۰۱۷۶		۰/۰۱۵۱		۰/۱۶		۰/۱		۰/۰۱۱۸

تجزیه ارتباط اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های مولکولی و اطلاعات به‌دست آمده از بررسی‌های فنوتیپی در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده این موضوع بود که صفت تعداد ریشه با ۷ آلل RM12091B، RM157BF، RM127D RM231B RM511A، RM1029A و RM1029G در ارتباط بوده و این صفت بیش‌ترین ارتباط با آلل‌ها را در بین تمام صفت‌های فنوتیپی که اندازه‌گیری شده‌اند از خود نشان می‌دهد. بعد از تعداد ریشه، صفت وزن خشک ریشه با در ارتباط بودن با ٦ آلل بیش‌ترین ارتباط را با آلل‌ها دارند (جدول ۱۱). صفات وزن تر ریشه با ۵ آلل و صفت طول ساقه با ٤ آلل و حجم ریشه و طول بزرگ‌ترین برگ و طول ریشه با ۲ آلل و صفت عرض بزرگ‌ترین برگ و وزن تر ساقه با ۱ آلل در ارتباط بود. از میان آلل‌ها، آلل RM1029G با مرتبط بودن با ۳ صفت وزن خشک کل ساقه و حجم کل ریشه و تعداد ریشه و آلل RM216E با مرتبط بودن با ۲ صفت وزن خشک ساقه و حجم ریشه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. پرایمر RM1029 یکی از پرایمرهای مهم در مرحله گیاهچه شناسایی شد، چون در بیش‌تر صفات در شرایط غرقاب و شرایط تنش خشکی دیده شد.

جدول ۱۰: نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات گیاهچه‌ای در شرایط غرقاب

صفت	عرض از مبدأ	آلل	B	خطای استاندارد	F
طول ساقه	٤/۲۰۷	RM530D	۰/۵۱۸**	۰/۱۰٦	۲۳/٦۰**
		RM231D	۱/٤۹۷**	۰/٤۱۳	۱۳/۱۳**
طول ریشه	٤/٦۸۷	RM60D	-۱/۹۲۲**	۰/۱۹۷	۹۵/۱٦**
		RM263A	۲/٦٤٦**	۰/۲٦۲	۱۰۱/۹٦**
		RM304G	-۱/۳۸۳**	۰/۲۰٤	٤۵/۹٤**
		RM231F	-۳/۱۷٦**	۰/۲٦۱	۱٤۷/۳٤**
		RM129A	۲/۵۳٤**	۰/۲۸۵	۷۸/۷۷**
		RM129C	۱/۲۷۱**	۰/۲۰۹	۳٦/۹۰**
طول بزرگ‌ترین برگ	۱۰/۵٤٦	RM263E	٦/٦۳۳**	۰/۹۲٤	۵۱/٤۹**
		RM231F	-۷/۳۱۰**	۰/۸۰۸	۸۱/٦٦**
		RM127B	۲۲/۰٦۲**	۱/٤۱۱	۲٤٤/۲۷**
		RM129B	-۳/۳۵۸**	۰/۵۹۲	۳۲/۱۳**
		RM511C	۲/۲۲٦**	۰/٤۷۹	۲۱/۵٤**
		RM1029I	-۱۵/۹۹٦**	۱/۷۰۲	۸۸/۳۳**
عرض بزرگ‌ترین برگ	۲/۹٤٤	RM129G	-۰/٦۰۲*	۰/۲۳۷	٦/٤۱*
تعداد ریشه	٤/۳۱۱	RM60E	۲/۲۷٤**	۰/۰٤۵۵	۲٤۹۳/۲۹**
		RM263E	۲/٦۷۲**	۰/۰٤۵۹	۳۳۸۸/۹۵**
		RM157B	-۰/۷۰٦**	۰/۰٤۸۸	۲۰۸/۸۵**
		RM231G	-۱/۳۸۱**	۰/۰٦۲	٤۸۲/٤۲**
		RM127A	۱/۰۱۳**	۰/۰۵٤	۳٤٦/٦۰**
		RM129E	-۱/۵۵٤**	۰/۰۳٤۸	۱۹۹۲/۳۰**
		RM129H	۰/۸۷٦**	۰/۰۵۰۳	۳۰۳/۵۱**
		RM520A	-۲/۸٦۷**	۰/۰۸۰	۱۱۸۳/۷۷**
		RM1029C	۱/۵٤۰**	۰/۰۵۳۳	۸۳٤/۲٦**
		RM1029D	۰/۷٤۸**	۰/۰٤۵۱	۲۷٤/۹۷**

ادامه جدول ۱۰: نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات گیاهچه‌ای در شرایط غرقاب

صفات	عرض از مبدأ	آلل	B	خطای استاندارد	F
وزن‌تر ساقه	۰/۰۵۸۵	RM60F	۰/۳۲۲**	۰/۰۵۸۲	۳۰/٦٤**
		RM231G	۰/۱۸۵**	۰/۰۳۹۷	۲۱/۷٦**
		RM127B	۰/۷۰۳**	۰/۰۵۵٤	۱٦۰/۹٤**
		RM129A	۰/۱٤۷**	۰/۰۳۵٤	۱۷/۳۳**
وزن‌تر ریشه	۰/۰٤۰۳	RM231D	۰/۱۵۰۷**	۰/۰۲۲۵	٤٤/۷۰**
		RM129G	۰/۱٤۰۷**	۰/۰۳۳۵	۱۷/٦۰**
		RM511F	-۰/۱۱۸**	۰/۰۲۷۹	۱۸/۰۸**
حجم ریشه	۰/۱۹۰٦	RM12091C	۰/۷۱۷**	۰/۰۹۵۱	۵٦/۹۵**
		RM530E	۰/۳۱۲**	۰/۰۷۱۳	۱۹/۱۷**
		RM216E	۰/٤۰٤**	۰/۰۸۳٤	۲۳/٤٦**
		RM231D	۰/٤۱٤**	۰/۰۷۸۲	۲۸/۰٦**
وزن خشک ساقه	۰/۰۱۳۱	RM1029I	۰/۰۱۷٤**	۰/۰۰٦٤	۷/۲٤**
وزن خشک ریشه	۰/۰۱۱۹	RM231G	۰/۰۱۱۵**	۰/۰۰٤۱٤	۷/۷۳**
		RM129B	۰/۰۰٦۲۹**	۰/۰۰۲۲۷	۷/٦۸**

جدول ۱۱: نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات گیاهچه‌ای در شرایط تنش خشکی

صفت	عرض از مبدأ	آلل	B	خطای استاندارد	F
طول ساقه	۱/۷۷۰	RM263E	۰/۹۰۹**	۰/۱۳۸	٤۳/۰٦**
		RM129E	-۱/۰۹۲**	۰/۱۱۳	۹۲/۱۸**
		RM511F	۰/٦۵۵**	۰/۰۹۱۸	۵۰/۹٤**
		RM1029C	۱/۲۵۰**	۰/۱۲٤	۱۰۰/۰۳۰**
طول ریشه	۲/۱۳۹	RM12091E	۰/٤٤٦**	۰/۱۲۳	۱۳/۰۵**
		RM1029E	۰/٦٦۲*	۰/۲۷۳	۵/۸۵*
طول بزرگ‌ترین برگ	۳/۵۸۵	RM511F	۱/۵۹٦**	۰/۳۵۲	۲۰/٤۷**
		RM1029C	۱/۳۸٤**	۰/٤۲۰	۱۰/۸٤**
عرض بزرگ‌ترین برگ	۱/۸۷۸	RM511E	-۰/٤٤۰**	۰/۱٤۷	۸/۹٤**
تعداد ریشه	٤/۱۷۲	RM12091B	-۰/۱۱۷**	۰/۰۲٦۵	۱۹/۵٦**
		RM157F	-۰/۵٦٤**	۰/۰۸۵٦	٤۳/٤۸**
		RM231B	۰/۵٦۷**	۰/۱۱۲	۲۵/۳۳**
		RM127D	۰/۷٦۸**	۰/۱۰۸	۵۰/٤۹**
		RM511A	-۰/٦۷۷**	۰/۱۲۸	۲۸/۰۱**
		RM1029A	-۱/۳۱۹**	۰/۲۱۷	۳٦/٦۳**
		RM1029G	۱/۰۰۰۱۵**	۰/۱٤۲	٤۹/٤۷**
وزن‌تر ساقه	۰/۰۲۱۸	RM1029A	۰/۰۳۳٦**	۰/۰۰۷۸۷	۱۸/۲۳**
وزن‌تر ریشه	۰/۰۱۸۲	RM12091D	-۰/۰۱۳۹**	۰/۰۰۲۸۷	۲۳/٤۲**
		RM530G	۰/۰۸۹۳**	۰/۰۰۳۵	۲۱٤/٦٤**
		RM127E	۰/۰۳۱۰**	۰/۰۰۵۹	۷٤/۹۸**

		RM236A	−۰/۰۶۳۳**	۰/۰۰٤٦	۱۱۲/۷٦**
		RM236F	−۰/۰۲۱۱۸**	۰/۰۰۳۹	۲۰/۷۱**
حجم ریشه	۰/۰٤۳۰۱	RM216E	۰/۰٤۳۰۳**	۰/۰۱۵۳	۷/۸٤**
		RM1029G	۰/۸۱۹۸**	۰/۰۲۸۳	۸/۳۷**
وزن خشک ساقه	۰/۰۱۳۸	RM216E	۰/۰٤۳۰**	۰/۰۱۵۳	۷/۸٤**
		RM1029G	۰/۰۸۱۹**	۰/۰۲۸۳	۸/۳۷**
وزن خشک ریشه	۲/۳۸۷	RM263F	−٦۱/٤۰۸**	٦/۱۱٤	۹۹/۸۸**
		RM304A	۲۷/۹۷۰**	٤/۰۷۲	٤۷/۱۷**
		RM304D	۳۱/۱۰٤**	٤/۳۲٦	۵۱/٦۸**
		RM157G	۷۸/۰۹٦**	۸/٤٦۳	۸۵/۱٤**
		RM129I	۸۹/۹۷۸**	۷/۹۹٤	۱۲٦/٦۷**
		RM1029D	−۱٤/٤۸۰**	٤/٦۲۸	۸۰/۳۳**

بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه وجود دارد. در پژوهشی Sabouri و Karim koshteh (۲۰۱۵) به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های برنج متحمل به شرایط تنش خشکی، ۱٤ ژنوتیپ برنج در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دو شرایط غرقاب و تنش خشکی در سال زراعی ۹۱-۹۰ مورد آزمایش قرار دادند. تفاوت بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه وجود داشت که بیان‌گر وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها بود. واکنش متفاوت ژنوتیپ‌های برنج بین محیط غرقاب و تنش خشکی توسط تعدادی از محققین مختلف نیز بررسی شد که می‌توان به Lanceras و همکاران (۲۰۰٤) اشاره کرد. در پژوهشی به‌منظور روابط بین صفات زراعی برنج در شرایط غرقاب و تنش خشکی ژنوتیپ‌های برنج (٦ رقم متحمل به تنش خشکی و ۱ رقم بومی) در دو آزمایش جداگانه (غرقاب و خشکی) به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارقام از لحاظ عملکرد و اجزای عملکرد هر رقم در دو محیط معنی‌دار بود (Golsharkhi et al., 2015). ریزماهواره‌ها یا توالی‌های تکراری ساده (SSR) در تشخیص تنوع موجود در گونه‌های گیاهی مهم هم‌چون پنبه، برنج، گندم، ذرت و غیره نقش به‌سزایی داشتند. نشان‌گرها یر ریزماهواره شامل واحدهای یک تا شش تایی تکرار شونده‌اندکه در ژنوم بیش‌تر یوکاریوت‌ها پراکنده‌اند به‌طوری که در هر ۱۰۰۰۰ جفت باز در طول DNA دست‌کم یک ردیف ریزماهواره با دو ردیف منحصر به‌فرد در دو طرف آن دیده می‌شود (Skaria et al., 2011).

Youssef و همکاران (۲۰۱۰) با به کارگیری دو نشانگر مولکولی، شامل چندشکلی قطعات تکثیر شده تصادفی DNA (RAPD) و ریزماهواره‌های SSR پیوسته با مقاومت به خشکی، در بررسی تنوع ٤ رقم حساس و ٦ لاین برنج متحمل به خشکی مشاهده کردند که از ۱٦ آغازگر RAPD مورد آزمایش، تنها ۵ آغازگر چند شکل بودند و میزان چند شکلی ۷۳/۰۲ درصد بود. تجزیه خوشه‌ای تمام ارقام و لاین‌های جدید را در دو گروه جدا کرد و آغازگرهایی که در DNA ژنومی لاین‌های متحمل به خشکی وجود داشتند، در ارقام

حساس غایب بودند که می‌توان آن‌ها را به عنوان نشانگرهای مقاومت به خشکی در نظر گرفت.

تجزیه ارتباط روشی است که با استفاده از آن می‌توان نشانگرهای مولکولی مثبت و معنی‌دار که بخش قابل‌توجهی از تغییرهای فنوتیپی صفت را توجیه می‌نمایند، شناسایی می‌کند (Sabouri et al., 2013). در این روش همانند تمامی روش‌های مولکولی از عدم تعادل پیوستگی بین مکان‌های ژنومی برای شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفت‌های کمی استفاده می‌شود (Raiesi and Sabouri, 2015). در این پژوهش در شرایط غرقاب از میان آلل‌ها، آلل RM129A با مرتبط بودن با صفات وزن تر ساقه و طول ریشه و آلل RM129G با مرتبط بودن با صفات وزن تر ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ و آلل RM129B با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ریشه و طول بزرگ‌ترین برگ و آلل RM1029I با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. در شرایط تنش خشکی در این آزمایش از میان آلل‌ها، آلل RM1029G با مرتبط بودن با ۳ صفت وزن خشک کل ساقه و حجم کل ریشه و تعداد ریشه و آلل RM216E با مرتبط بودن با ۲ صفت وزن خشک ساقه و حجم ریشه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. تجزیه ارتباط ۱۲۸ ژنوتیپ برنج و ۱۱ صفت زراعی در طول دو سال مورد بررسی قرار گرفت. جمعیت با استفاده از ۱۲۵ نشانگر ریزماهواره که سراسر ژنوم را پوشش می‌دادند، انجام شد. در کل ۱۶ نشانگر ارتباط معنی‌داری با صفت مختلف نشان دادند که محققین بیان داشتند که استفاده از تجزیه ارتباط برای بررسی ژنوتیپ‌های مختلف برنج در روند برنامه‌های اصلاحی مفید و کارآمد است (Zhou et al., 2012). در پژوهشی تجزیه ارتباط برای صفات ریشه برنج را در شرایط تنش خشکی روی ۱۹۲ لاین به‌دست آمده از تلاقی ارقام عنبربو و سپیدرود با استفاده از نشانگرهای AFLP مطالعه کردند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که نشانگر E110-M140-9 برای صفت طول کل ریشه‌ها، نشانگر E060-M160-11 برای وزن خشک ریشه‌ها و نشانگر E110-M160-8 برای تعداد ریشه‌ها (به ترتیب با توجیه ٤٦/٢، ٣٤/٥ و ٢٧/٩ درصد از تنوع فنوتیپی) به‌عنوان نشانگرهای مهم شناسایی شدند (Mohammad Allagh et al., 2014).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کلیه صفات بررسی شده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دارای تفاوت معنی‌داری بودند و نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بعضی از ژنوتیپ‌ها هم در شرایط تنش و هم در شرایط غرقاب بهترین رشد را نشان دادند که می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. نتایج تجزیه ارتباط در شرایط غرقاب و هم در شرایط تنش خشکی در مرحله گیاهچه پرایمر RM1029 به‌عنوان پرایمر مهم شناسایی نمود، لذا از این پرایمر می‌توان در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

References

Aghazadeh, R., Gharayazi, B., Nematzadeh, B.C. and Babaeian, N. (2004). Classification of Iranian rice germplasm by RAPD markers. Journal of Agricultural Science. 3: 757-767.

An, Z.W., Xie, L.L, Cheng H., Zhou, Y., Zhang, Q. and He, X.G. (2009). A silver staining procedure for nucleic

acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. Analytical Biochemistry. 391 (1): 77-9.

Anbumalarmathi, J. and Mehta, P. (2013). Effect of Salt Stress on germination of indica rice varieties. Electronical Journal of Biotechnology Seince. 6(1): 1-6.

Bernier, J., Kumar, A., Ramaiah, V., Spaner, D. and 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.

Diwan, J.M., Channbyregowda, V., Shenoy, P. and Salimath, B., Hat, R. (2013). Molecular mapping of early vigor related QTLs in rice. Research Journal of Biological. 1: 24-30.

Dixit, S., Singh, A. and Kumar, A. (2014). Rice breeding for high grain yield under drought: a strategic solution to a complex problem International Journal of Agronomy. 14:1–15.

Donde, R., Kumar, J., Gouda, G., KumarGupta, M., Mukherjee, M., YasinBaksh, Sk., Mahadani, P., KumarSahoo, K., Behera, L. and KumarDash, S. (2019). Assessment of Genetic Diversity of Drought Tolerant and Susceptible Rice Genotypes Using Microsatellite Markers. Rice Science. 26(4): 239-247.

Hussain, Z., Othman, A.M., and Othman, A.S. (2011). Association of Commercial Rice Varieties with Weedy Rice Accessions (*Oryza sativa*) in Pulau Pinang's Rice Granary Area. Tropical Life Sciences Research. 22(2): 1–11.

Karamanos, A.J. and Papatheohari, A.Y. (1999). Assessment of drought resistanceof crop genotypes by means of thewater potential index. Crop Science. 39: 1792-1797.

Khodabandeh, N. Cereals. (1995). Tehran University Press.

Kumar, A., Basu, S., Ramegowda, V. and Pereira, A. (2017). University of Arkansas, USA. Mechanisms of drought tolerance in rice. University of Arkansas, USA, pp: 131-163.

Kumar, A., Dixit, S., Ram, T., Yadaw, R.B., Mishra, K.K. and Mandal, N.P. (2014). Breeding highyielding drought-tolerant rice: genetic variations and conventional and molecular approaches. Journal of Experimental Botany. 65 (21): 6265–78.

Lafitte, H R., Ismail, A. and Bennet, J. (2004). Abiotic stress tolerance in rice for Asia: progress and the future, in New directions for a diverse planet: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, Brisbane. Australia.

Lanceras, J.C., Pantuwan, G., Jongdee, B. and Toojinda, T. (2004). Quantitative trait loci associated with drought tolerance at reproductive stage in rice. Plant Physiology. 135: 384–99.

Mohammad Alagh, Sh., Sabouri, H. and Dadars, A.R. (2014). Relationship analysis for rice root characteristics in drought stress conditions, 16th national conference of rice, Sari, Genetics and biotechnology and agriculture research center of Tabarestan, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari.

Mohammad Allagh, Sh., Sabouri, H. (2014). Relationship analysis for rice root characteristics in drought stress conditions. Proceedings of the Sixteenth National Conference on Rice. Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Genetics and Agricultural Technology Biotechnology Research Center, Tabarestan.

Ndjiondjop, M.N., Cisse, F., Futakuchi, K., Lorieux, M., Manneh, B., Bocco, R. and Fatondji, B. (2010). Effect of drought on rice (*Oryza* spp.) genotypes according to their drought tolerance level. Innovation and Partnerships to Realize Africa's Rice Potential, Second Africa Rice Congress, Bamako, Mali, 22-26.

Park, G.H., Kim, J.H. and Kim, K.M. (2014). QTL analysis of yield components in rice using a cheongcheong / nagdong doubled

haploid genetic map. American Journal of Plant Sciences. 5: 1174-1180.

Raiesi, T., and Sabouri, A. (2015). Validation and association analysis of microsatellite markers related to drought and salinity tolerance in aerobic and Iranian rice under osmotic stress. Crop Biotechnology. 10: 57-72.

Sabouri, A., Dadras, A.R., Khoshchehreh, H., Vatanparast, A., and Aflatouni, H. (2019). Investigation of rice recombinant inbred lines based on drought tolerance usingtolerance indices and SSR markers. Iranian Journal Field Crop Science. 4: 13-24.

Sabouri, A., Sabouri, H., and 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.

Sabouri, H., Gilaki, J., Jafarzadeh, M.R. and Sabouri, A. (2011). Investigation of adaptation of ricevarieties tolerant to drought stress in the Gonbad. Proceedings of the First National Congress on Science and Technology of Agriculture. September 10-12, Zanjan University, Zanjan, Iran. pp: 290-293.

Saghi Maroof, M.A., Biyaoshev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. and Allard, R.W. (1994). Extra ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barly species diversity, chromosomal location, and population dynamics. Processing of the academy of sciences, USA, 91: 4566-5570. Science. 6 (12): 355- 363

Sandhu, N. and Kumar, A. (2017). Bridging the Rice Yield Gaps under Drought: QTLs, Genes, and Their Use in Breeding Programs. Agronomy. 7-27.

Skaria, R., Sen, S. and 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.

Soroush, R., Mesbah, H., Hossein-Zadeh, H. and Bozorgypoor, A. (2005). Study of Phenotypic and genetic variation for quantitative and qualitative trait in rice. Seed and Plant. 20: 167-182.

Swamy, B.P.M., Shamsudin, N.A.A., Rahman, S.N.A., Mauleon, R., Ratnam, W., Teressa Sta, M., Kumar, C. and Kumar, A. (2017). Association Mapping of Yield and Yieldrelated Traits Under Reproductive Stage Drought Stress in Rice (*Oryza sativa* L.). Rice. 10:21.

Tabkhkar, N., Rabiei, B., Samizadeh Lahiji, H. and Hosseini Chaleshtori, M. (2018). Genetic Variation and Association Analysis of the SSR Markers Linked to the Major Drought-Yield QTLs of Rice. Biochemical Genetics. 56(4): 356-374.

Tuyen, D.D. and Prasad, D.T. (2008). Evaluating difference of yield treat among rice genotypes (*Oryza sativa* L.) under low moisture condition using candidate gene markers. Omonrice. 16: 24-33.

Venuprasad, R., Dalid, CO., Del Valle, M., Zhao, D., Espiritu, M., Sta Cruz, M.T., Amante, M., Kumar, A. and 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.

Vikram, P., Swamy, M. B.P., Dixit, S.H., Ahmed, H.U., Cruz1, M.T.S., Kumar Singh, A. and Kumar, A. (2011). qDTY1.1, 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):1-15.

Youssef, M.A., Mansour, A. and Solliman, S. (2010). Molecular markers for new promising drought tolerant lines of rice under drought stress via RAPD-PCR and ISSR markers. Journal of American Science. 6(12): 355-363.

Zhou, J., You, A., Ma, Z., Zhu, L. and He, G. (2012). Association analysis of important agronomic traits in japonica

rice germplasm. African Journal of Biotechnology. 11(12): 2957-2970.

Golsharkhi, M., Biabani, A., Sabouri, H., Mohammad Esmaili, M. (2015). Studying the relationship between agronomic Traits of rice under flooding and drought stress. Environmental Stresses in Agricultural Sciences. 2(8):204-191.

Journal of Plant Environmental Physiology, Serial 61, 16th year, Number 1, Spring 2021

Evaluation of the effects of flooding and drought environment on the emergence of gene regions controlling rice (*Oryza sativa* L.) seedling traits using SSR markers

Ghasemi, B.[1], Sabouri, H.[1*], Hosseini Moghadam, H.[1], Baybani, A.[1], Sheikhzadeh, M.J.[2]

[1]Department of Plant Production, College of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

[2]College of Basic Sciences and Technology Engineering, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

Received date: 2019/06/14 Accepted date: 2019/08/21

Abstract

Identification of genes related to stresses tolerance and mechanisms of tolerance is an important factor for developing tolerant plants. For this purpose, an experiment was conducted based on completely random design with three replications with 99 rice genotypes under flooding and drought stress at Gonbad Kavous University in 2018. To apply drought stress, irrigation was stopped at the three-leaf stage. According to the humidity curve, the stress level of 2% by weight moisture was estimated to be -0.55 MPa. Significant differences were detected between traits in both conditions. The result of association analysis of molecular and phenotype studies under flooding condition revealed that among the alleles, the RM129A allele with stem fresh weight and root length, the RM129G allele with root fresh weight and the width of the largest leaf, the RM129B allele with root dry weight and the length of the largest leaf, the RM1029I allele with stem dry weight and the length of the largest leaf, and under the drought condition, the RM1029G allele with stem dry weight, root volume, and the number of roots were maximally associated with the relevant traits under study. RM1029 was recognized as one of the most important primers at the seedling stage. The results of this research can be used to increase drought tolerance in rice varieties.

***Keywords*:** Association analysis, Drought stress, Genetic variation, Rice, Seedling.

[*]Corresponding author; hos.sabouri@gmail.com