بررسی تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج در مقابل تنش سرمایی در مرحله جوانه‌زنی

پیمان شریفی[1]*

[1]دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۰۶

چکیده

هجده ژنوتیپ برنج از نظر مقاومت به سرما در مرحله جوانه‌زنی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار ارزیابی شدند. ژنوتیپ‌های برنج به‌عنوان فاکتور اول و دماهای ۱۳، ۱۷، ۲۱ و ۲۵°C به‌عنوان فاکتور دوم بودند. بذور ژنوتیپ‌ها در چهار دمای فوق قرار داده شدند و نسبت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در گیاهچه‌های حاصله اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس نشان داد که اثر ژنوتیپ، درجه حرارت و اثر متقابل دو فاکتور بر صفات فوق معنی‌دار بود. مقادیر نسبت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه تحت تأثیر هر سه درجه حرارت پایین (۱۳، ۱۷ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد) نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافتند. با عنایت به تجزیه خوشه‌ای تنوع قابل ملاحظه‌ای بین ژنوتیپ‌ها در هر سه شرایط دمای پایین وجود داشت. ژنوتیپ‌های تایچونگ و صدری بیشترین نسبت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه و کمترین میزان کاهش این صفات را داشتند و در دماهای ۱۳ و ۱۷ درجه سانتی‌گراد در یک کلاستر و در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد در دو کلاستر نزدیک به هم قرار داشتند. بنابراین این ژنوتیپ‌ها می‌توانند به‌عنوان والد در تلاقی با ژنوتیپ‌های حساسی مانند دولار، IR36 و حسن‌سرایی به کار گرفته شوند تا از نتاج حاصل از تلاقی آن‌ها برای برنامه‌های اصلاحی مانند ایجاد نسل‌های تفکیک در پروسه‌های انتخاب برای دست‌یابی به ژنوتیپ‌های متحمل به سرما استفاده شود. از آنجا که بیشترین میزان وراثت‌پذیری عمومی (۰/۸۲) مربوط به طول ساقه‌چه بود، با استفاده از آن می‌توان اقدام به انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در نسل‌های اولیه حاصل از تلاقی‌ها نمود.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنتیکی، شاخص تنش، مقاومت به سرما.

*نویسنده مسئول: Peyman.sharifi@gmail.com

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) از گیاهان حساس به سرما می‌باشد که دمای پایین هوا و آب از عواملی هستند که آسیب ناشی از آن‌ها در مناطق گرمسیری و معتدل برای برنج گزارش شده است (Lee, 2001). میزان جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌های برنج در مراحل اولیه رشد و نمو در دماهای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد، کاهش می‌یابد که منجر به افزایش غیریکنواختی مزرعه در اواخر فصل رشد و کاهش عملکرد می‌شود (Lou et al., 2007). معمولاً با اعمال تنش سرمایی، علائم تنش کمبود آب شامل کاهش هدایت آبی ریشه، کاهش شدید پتانسیل آب و آماس برگ، بسته شدن روزنه‌ها و کاهش تعرق اتفاق می‌افتد که سبب کاهش هدایت آبی ریشه و تشدید تنش آبی ناشی از سرمازدگی می‌شود (Joshi et al., 2007).

یکی از کاراترین روش‌ها برای جلوگیری از خسارت سرما، معرفی ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما می‌باشد. برای این منظور از طریق روش‌های مختلف غربال‌گری در آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه می‌توان اقدام به شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما نمود. با توجه به اینکه در مرحله جوانه‌زنی، مقاومت به سرما در دماهای کنترل شده از لحاظ شدت و زمان بررسی می‌شود و سایر فاکتورهای محیطی و غیر محیطی مؤثر در شرایط مزرعه‌ای وجود ندارد، دقت این نوع آزمایشات بالا است (Blum, 1988). در این راستا، Bertin et al. (1996) قرار دادن بذور ژنوتیپ‌های مختلف را در دماهای ۱۰ تا ۲۵°C برای دوره‌های زمانی ۳ تا ۳۵ روزه و اندازه‌گیری صفاتی مانند درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه را به عنوان یکی از راهکارها عنوان نموده‌اند. از آنجا که همبستگی بالایی از نظر مقاومت به سرما در مراحل مختلف رشد در واریته‌های برنج وجود دارد (Bertin et al., 1996; Ye et al., 2009)، امکان ارزیابی ژنوتیپ‌ها در طول مراحل جوانه‌زنی و استفاده از ژنوتیپ‌های مقاوم در مراحل پیشرفته‌تر رشدی وجود دارد. Xu et al. (2008) گزارش کردند که سرمای پایین‌تر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت و درصد جوانه‌زنی را در برنج کاهش می‌دهد. همچنین با مطالعه تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج مشخص شد که دمای پایین‌تر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد سبب کاهش نسبت جوانه‌زنی، رشد کلئوپتیل و رشد ریشه‌چه می‌شود (Sharifi, 2009). Ghorbani et al. (2011) نشان دادند که طول و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه در دو ژنوتیپ نعمت و اوندا تحت تنش دماهای پایین (۱۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد) نسبت به شاهد (۲۵درجه سانتی‌گراد) کاهش پیدا کرد و ژنوتیپ اوندا نسبت به ژنوتیپ نعمت از تحمل بیشتری به سرما برخوردار بود. Radfar (2004) با بررسی بیست ژنوتیپ برنج بومی نشان داد که در مرحله جوانه‌زنی ژنوتیپ‌هایی نظیر گرده محلی، کوهرنگ، سازندگی و زاینده‌رود همانند ژنوتیپ اوندا تحمل بالایی به تنش سرما داشتند.

تجزیه خوشه‌ای یک روش آماری چند متغیره است که با استفاده از آن، ژنوتیپ‌ها بر اساس شباهت صفات گروه‌بندی می‌شوند، به‌طوری‌که افراد واقع در یک گروه نزدیک بهم بوده و افراد واقع در گروه‌های دورتر، تفاوت بیشتری با هم دارند (Romesborg, 1990). در این راستا، Islam et al. (2014) با بررسی ۴۳ ژنوتیپ برنج در مراحل اولیه رشد، اقدام به گروه‌بندی آن‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای و بر اساس صفاتی مانند طول ریشه، استقرار گیاهچه‌ها و طول ساقه‌چه نمودند. همچنین در تحقیقی دیگر، با بررسی میزان کاهش طول کلئوپتیل در ۲۹ ژنوتیپ برنج تحت دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ژنوتیپ‌های برنج گروه‌بندی شدند (Ñanculao et al., 2013). محققین دیگری نیز با استفاده از تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات مورفولوژیک اقدام به

گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج نموده‌اند (Abozzary Gazafrody et al., 2007; Agahi et al., 2012; Behpouri et al., 2007; Mokata and Mehetre, 1998).

هدف از این مطالعه، ارزیابی تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج از نظر صفات مرتبط با جوانه‌زنی بذور در مراحل اولیه رشد و شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به شرایط تنش سرمایی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای می‌باشد. همچنین برآورد اجزای واریانس ژنتیکی و فنوتیپی، وراثت‌پذیری صفات و همبستگی بین صفات نیز در این مطالعه مدنظر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام تحقیق حاضر، تعداد ۱۸ ژنوتیپ برنج ایرانی و خارجی از نظر صفات مرتبط با جوانه‌زنی (نسبت یا درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه) تحت شرایط تنش سرمایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به سرما در آزمایشگاه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت انجام پذیرفت. برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به سرما در مرحله جوانه‌زنی با استفاده از روش Cruz et al. (2006) صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و نسبت جوانه‌زنی در چهار درجه حرارت (۱۳، ۱۷، ۲۱ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری شدند. قبل از شروع آزمایش، بذور با استفاده از اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه شسته شدند و پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار داده شدند و سپس ۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند (Cruz et al., 2006). تعداد ۳۰ بذر از هر ژنوتیپ در پتری‌دیش بر روی کاغذ صافی مرطوب شده با آب مقطر استریل قرار داده شدند. تیمارهای دمایی مختلف با استفاده از ژرمیناتور ایران خودساز (مدل 1KH RH)، ۸۵ لیتری با قابلیت کنترل دما و با تناوب نوری ۱٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی با رطوبت ۷۰ درصد اعمال گردیدند (Cruz and Milach, 2004). داده‌های مربوط به صفات نسبت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه یادداشت‌برداری شدند و برای تجزیه و تحلیل‌های آماری نهایی مورد استفاده قرار گرفتند. برای محاسبه نسبت جوانه‌زنی از رابطه $\frac{n}{N}$ استفاده گردید که در آن n، تعداد بذور جوانه‌زده و N، تعداد کل بذور در هر پتری‌دیش بود (Soltani et al., 2002).

آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. طبقات مختلف ژرمیناتور (با توجه به فاصله آن‌ها از منبع نور و دما) به‌عنوان بلوک در نظر گرفته شد. فاکتورهای آزمایش به‌ترتیب ژنوتیپ‌های برنج در ۱۸ سطح و درجه حرارت در ٤ سطح بودند.

برای محاسبه پارامترهای ژنتیکی با استفاده از امید ریاضی، از روابط زیر استفاده شد:

واریانس ژنتیکی $\sigma_g^2 = \frac{MSg - MSgt}{rt}$ (Roy, 2000)

واریانس اثر متقابل ژنوتیپ در دما $\sigma_{gt}^2 = \frac{MSgt - MSe}{r}$ (Roy, 2000)

واریانس فنوتیپی $\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \sigma_{gt}^2 / t + \sigma_e^2 / rt$ (Milligan et al., 2003)

ضریب تغییرات ژنتیکی $CVg = \frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\overline{X}} * 100$ (Roy, 2000)

ضریب تغییرات فنوتیپی $$CVp = \frac{\sqrt{\sigma_p^2}}{\overline{X}} * 100$$ (Milligan et al., 2003)

وراثت‌پذیری عمومی $$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2}$$ (Roy, 2000)

که در روابط فوق، MSg و MSgt به‌ترتیب میانگین مربعات ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ در درجه حرارت می‌باشد. همچنین r و t به ترتیب نشان‌دهنده تعداد تکرار و سطوح درجه حرارت است. σ_p^2، σ_g^2، σ_{gt}^2 و σ_e^2 به‌ترتیب واریانس فنوتیپی، واریانس ژنوتیپی، واریانس ژنوتیپ در درجه حرارت و واریانس خطای آزمایشی و $\overline{X}$ میانگین می‌باشد.

همچنین درصد کاهش صفات از رابطه زیر محاسبه شد (Reyniers et al., 1982):

Cold Stress Reduction =[(Xcontrol – Xcold)/Xcontrol] × 100

که در آن، Xcontrol مقدار هر کدام از صفات در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و Xcold مقدار هر کدام از صفات در درجات حرارت ۱۳، ۱۷ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد بود. این شاخص برای دماهای۱۳، ۱۷ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌صورت جداگانه محاسبه گردید.

برای ارزیابی مقاومت به تنش سرما در ژنوتیپ‌های فوق و رده‌بندی آن‌ها از نظر مقاومت به سرما علاوه بر صفات فوق، از شاخص تنش (Stress index (SI)) نیز استفاده شد که بر پایه ترکیب مقادیر صفات با فرمول زیر محاسبه گردید (Fischer and Maurer, 1978):

شاخص تنش = $1 - Y_{cold}/Y_{control}$

که در آن، Y_{cold} مجموع مقادیر هر سه صفت در شرایط تنش سرمایی (این عدد از جمع تمام صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش برای هر ژنوتیپ محاسبه می‌گردد) و $Y_{control}$ مجموع مقادیر تمام صفات تحت شرایط عدم تنش می‌باشد (Fischer and Maurer, 1978). این شاخص نیز برای دماهای ۱۳، ۱۷ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد محاسبه گردید.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از برنامه SAS انجام پذیرفت. تجزیه خوشه‌ای برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از نظر درصد کاهش صفات تحت تأثیر سطوح دمای پایین در مقایسه با دمای استاندارد ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر اساس ماتریس تشابه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مورد بررسی و با استفاده از روش حداقل واریانس وارد و بر اساس ضریب توان دوم اقلیدوسی به‌وسیله نرم‌افزار Systat انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس: نتایج تجزیه واریانس حاکی از معنی‌دار بودن اثر درجه حرارت، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ × درجه حرارت برای هر سه صفت مورد مطالعه بود (جدول ۱). از آنجا که مشخص نمودن تأثیر افزایش سطوح دمایی بر روی متغیر وابسته (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و نسبت جوانه‌زنی) در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حایز اهمیت بود، اقدام به بررسی روند تغییرات برای فاکتور دما بر روی سه صفت مورد مطالعه گردید و نتایج نشان داد که برای صفت طول ساقه‌چه فقط رابطه خطی معنی‌دار بود، به عبارت دیگر با افزایش میزان درجه حرارت، طول ساقه‌چه به طور خطی افزایش می‌یافت. درصورتی‌که برای دو صفت نسبت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه علاوه بر رابطه خطی، رابطه درجه ۲ نیز معنی‌دار بود (جدول ۱).

معنی‌دار بودن اثر متقابل ژنوتیپ × درجه حرارت نشان داد که پاسخ ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد مطالعه در مراحل اولیه رشد گیاهچه تحت تأثیر تنش دمای پایین متفاوت بود. تیمار بذور با دمای پایین سبب تأخیر در جوانه‌زنی و کاهش صفات وابسته مانند طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در گیاهچه‌های اولیه شد. نتایج این آزمایش نشان داد که با افزایش دما، میزان جوانه‌زنی و همچنین رشد گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. این نتایج در تطابق با تحقیق Cruz and Milach (2004) می‌باشد. همچنین اثرات منفی درجه حرارت پایین بر صفات مورد مطالعه که در این تحقیق مشاهده شد، در تطابق با نتایج محققان دیگری است که اظهار داشته‌اند، تنش سرمایی در مرحله جوانه‌زنی منجر به استقرار ضعیف گیاهچه‌ها و مرگ و میر آن‌ها می‌شود و درجه حرارت مطلوب برای جوانه‌زنی بذور معمولاً درجه حرارت‌های بالاتر از ۲۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (Lou et al., 2007; Jiang et al., 2008; Sharifi, 2010).

جدول ۱- تجزیه واریانس برای صفات مرتبط با جوانه‌زنی در دماهای مختلف برای تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			امید ریاضی
		طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	نسبت جوانه‌زنی	
تکرار	۲	۰/۷۰۲	۰/۱۷۹	۰/۰۰۲۵	$\sigma_e^2 + gt\sigma_r^2$
ژنوتیپ	۱۷	۳/۱۰۳**	۱٤/۹۷**	۰/۲۲٤۹**	$\sigma_e^2 + r\sigma_{gt}^2 + rt\sigma_g^2$
درجه حرارت	۳	۱۱۸/۸۰**	۵۱/۹۷**	۰/۷۰۰٤**	$\sigma_e^2 + r\sigma_{gt}^2 + rg\sigma_t^2$
خطی	۱	۲۷۱/۷۰**	۱۵۲/٦۳**	۱/۳۳۰۸**	
درجه دوم	۱	۸۳/۱۸**	۰/۳۱	۰/۷۰۸٦**	
ژنوتیپ × درجه حرارت	۵۱	۲/٤۰**	۲/٦۵**	۰/۰۹۸۰**	$\sigma_e^2 + r\sigma_{gt}^2$
خطای آزمایشی	۱٤۲	۰/۳۹۱	۰/٦۹۹	۰/۰۰۵۳	σ_e^2
ضریب تغییرات آزمایش(٪)		۲۸/٦٤	۳۰/۱۵	۹/۸۸	

** نشان‌دهنده معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

شاخص تنش: اثرات سرما، بر تمام صفات، در قالب شاخص تنش (SI) برای هر ژنوتیپ محاسبه شد و از مقادیر آن‌ها برای رتبه‌بندی ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به خشکی استفاده شد. هرچقدر مقادیر این شاخص به ۱ نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده اثر بیشتر تنش بر ژنوتیپ مورد مطالعه می‌باشد، در حالی‌که مقادیر نزدیک به صفر و منفی بیانگر تحمل بیشتر آن ژنوتیپ به تنش خشکی است (Fischer and Maurer, 1978). در دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد، کمترین مقدار شاخص تنش (SI) مربوط به ژنوتیپ عنبربو بود. بنابراین، ژنوتیپ اخیر جزء ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما بودند. در دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد کمترین مقادیر به‌ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های بینام، صدری، علی کاظمی و خزر و بیشترین مقادیر مربوط به ژنوتیپ‌های IR36، طارم و دولار بود. در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد کمترین مقادیر شاخص فوق مربوط به ژنوتیپ‌های بینام، عنبربو، حسنی، نعمت و علی کاظمی و بیشترین مقادیر مربوط به ژنوتیپ‌های حسن‌سرایی، طارم، صالح و بهار ۱ بود (جدول ۲). مقادیر منفی شاخص تنش برای برخی از ژنوتیپ‌ها در دماهای ۱۷ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد مؤید این است که مقادیر برخی از صفات در این دماها تحت تنش سرمایی بیشتر از دمای استاندارد ۲۵ درجه سانتی‌گراد است. معنی‌دار بودن رابطه درجه دوم برای صفات نسبت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه نیز

نتیجه فوق را تأیید می‌کند. در تطابق با نتیجه تحقیق حاضر، Afiukwa et al. (2016) نیز با استفاده از این شاخص اقدام به شناسایی ژنوتیپ‌های از لحاظ حساسیت و تحمل به تنش در برنج نمودند.

تجزیه خوشه‌ای: بر اساس تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها از نظر درصد کاهش صفات مورد مطالعه تحت تأثیر دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد در ۵ گروه طبقه‌بندی شدند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌های IR36 و علی کاظمی بود. از آنجا که ژنوتیپ IR36 کمترین میزان طول ساقه‌چه و نسبت جوانه‌زنی را به خود اختصاص داده بود، این گروه جزء ژنوتیپ‌های حساس به دمای پایین بودند. ژنوتیپ‌های این گروه همچنین بیشترین مقدار کاهش متوسط تمام صفات را داشتند. گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های عنبربو، دولار و دمسیاه بود. گروه سوم ژنوتیپ‌های تایجونگ، کانتو۵۱ و صدری در برمی‌گرفت. در این گروه ژنوتیپ تایجونگ بیشترین مقدار طول ساقه‌چه و جوانه‌زنی را داشت و جزء ژنوتیپ‌های مقاوم به دمای پایین بود. همچنین در این گروه ژنوتیپ‌های تایجونگ و صدری با عنایت به شاخص تنش، جزء ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما بودند. مقدار صفات مورد مطالعه در دو ژنوتیپ دیگر این گروه نیز بیشتر از متوسط سایر گروه‌ها بود. گروه چهارم شامل ژنوتیپ‌های خزر، بینام، حسنی و طارم بودند که کمترین درصد کاهش صفات را دارا بودند. در گروه پنجم ژنوتیپ‌های هاشمی، حسن‌سرایی، نعمت، گرده، صالح و بهار ۱ قرار داشتند (شکل ۱). در بیشتر ژنوتیپ‌های، صفات مورد مطالعه در دمای ۱۳ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای شاهد (۲۵ درجه سانتی‌گراد) کاهش قابل ملاحظه‌ای نشان داد که می‌تواند بیانگر بحرانی بودن دمای مذکور برای جوانه‌زنی باشد.

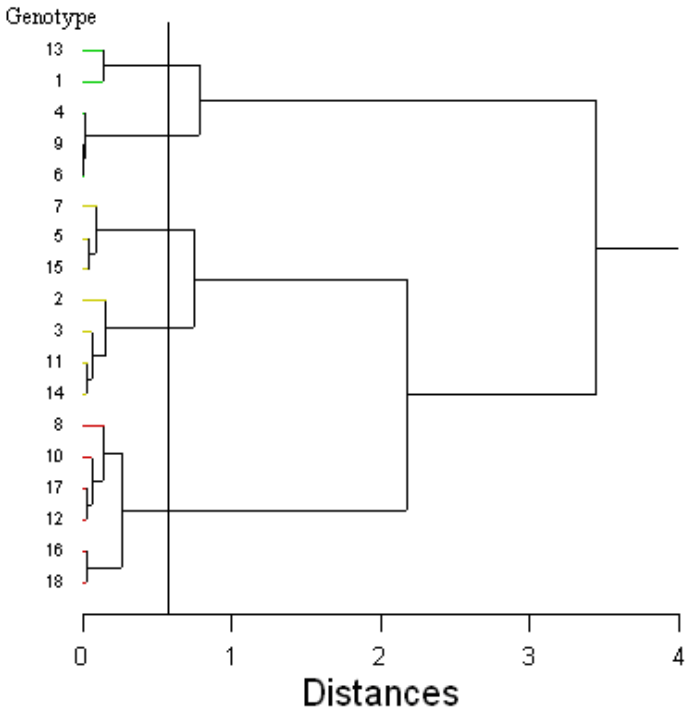
جدول ۲: شاخص تنش تحت دمای ۱۳، ۱۷ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد

ژنوتیپ	دما (سانتی‌گراد)		
	۱۳	۱۷	۲۱
۱ (IR36)	۰/۹۷	۰/٦٤	۰/۱۷
۲ (خزر)	۰/٦۳	۰/۱۰	۰/۱٤
۳ (بینام)	۰/٦۳	−۰/۲۱	−۰/٤۹
٤ (عنبربو)	۰/۲۰	۰/۲۱	−۰/٤۸
۵ (تایجونگ)	۰/٦۰	۰/٤۷	۰/۳۹
٦ (دولار)	۰/۷۷	۰/۵٤	۰/۲۲
۷ (کانتو۵۱)	۰/۷۲	۰/۱۵	۰/۳۲
۸ (هاشمی)	/۹٦	۰/۳۰	۰/۱۱
۹ (دمسیاه)	۰/٦۵	۰/۲۳	۰/۱۱
۱۰ (حسن‌سرایی)	۰/۸۸	۰/۲۷	۰/٤۵
۱۱ (حسنی)	۰/۵۵	۰/۳۲	−۰/٤۰
۱۲ (نعمت)	۰/۸۷	۰/۰۲	−۰/۳۰
۱۳ (علی کاظمی)	۰/۵٤	۰/۰۰	−۰/۸۳
۱٤ (طارم)	۰/۷۲	۰/۵۷	۰/۳۳
۱۵ (صدری)	۰/٦۰	−۰/۰۳	۰/۱٦
۱٦ (گرده)	۰/۸۸	۰/۲٤	۰/۱۵
۱۷ (صالح)	۰/۸٦	۰/۳۰	۰/۲۹
۱۸ (بهار ۱)	۰/۸۸	۰/۳۳	۰/۲۹
میانگین	۰/۷۲	۰/۲۵	۰/۰٤
مینیمم	۰/۲۰	−۰/۲۱	−۰/۸۳
ماکزیمم	۰/۹۷	۰/٦٤	۰/٤۵

جدول ۳: برآورد تعدادی از پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی برای صفات مورد مطالعه در برنج

صفات	واریانس ژنوتیپی	واریانس فنوتیپی	ضریب تغییرات ژنتیکی	ضریب تغییرات فنوتیپی	وراثت‌پذیری عمومی
طول ریشه‌چه (cm)	۰/۰۵۹	۰/۲٦	۱۱/۰۸	۲۳/۲۸	۰/۲۳
طول ساقه‌چه (cm)	۱/۰۲۷	۱/۲۵	۳٦/۵۸	٤۰/۳۲	۰/۸۲
نسبت جوانه‌زنی (نسبت)	۰/۰۱۱	۰/۰۲	۱۳/۹۰	۱۸/۵۰	۰/۵٦

ژنوتیپ‌ها از نظر درصد کاهش صفات مورد مطالعه تحت تأثیر دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد نیز در ۵ گروه طبقه‌بندی شدند، به‌طوری‌که در گروه اول ژنوتیپ‌های دولار، کانتو ۵۱، هاشمی و گرده قرار داشتند. در گروه دوم، ژنوتیپ‌های بینام، عنبربو، علی کاظمی و بهار ۱ قرار داشتند. گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های دمسیاه و حسن‌سرایی بودند. در گروه چهارم ژنوتیپ‌های تایجونگ، صدری، حسنی، طارم و صالح قرار داشتند که با توجه به اینکه متوسط کاهش درصد طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی در آن‌ها کمتر از متوسط تمام ژنوتیپ‌ها بود، جزء ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی بودند. در این گروه همچنین ژنوتیپ‌های تایچونگ و صدری قرار داشتند که به ترتیب بیشترین نسبت جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه را داشتند. همچنین مقدار شاخص تنش نیز در ژنوتیپ صدری پایین بود. در گروه پنجم ژنوتیپ‌های IR36، خزر و نعمت قرار داشتند. در این گروه ژنوتیپ IR36 کمترین نسبت جوانه‌زنی و طول ساقه‌چه را داشت. همچنین ژنوتیپ‌های این گروه در مقایسه با تمام ژنوتیپ‌ها بیشترین میزان کاهش درصد طول ساقه‌چه را تحت تأثیر دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد داشتند. شاخص تنش نیز در ژنوتیپ ژنوتیپ IR36 بالا بود.



شکل ۱: تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس درصد کاهش صفات در ۱۳ درجه سانتی‌گراد

۱، IR36؛ ۲، خزر؛ ۳، بینام؛ ٤، عنبربو؛ ٥، تایجونگ؛ ٦، دولار؛ ۷، کانتو۵۱؛ ۸، هاشمی؛ ۹، دمسیاه؛ ۱۰، حسن‌سرایی؛ ۱۱، حسنی؛ ۱۲، نعمت؛ ۱۳، علی کاظمی؛ ١٤، طارم؛ ١٥، صدری؛ ١٦، گرده؛ ۱۷، صالح؛ ۱۸، بهار ۱.

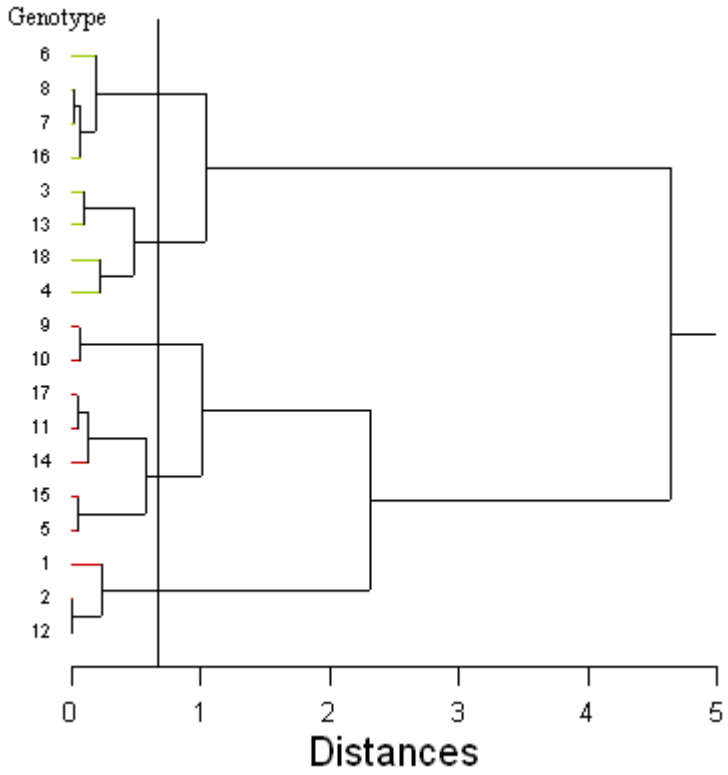
ژنوتیپ‌ها از نظر درصد کاهش صفات مورد مطالعه تحت تأثیر دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد نیز در ۵ گروه طبقه‌بندی شدند. در گروه اول ژنوتیپ‌های بینام، عنبربو و نعمت قرار داشتند که از نظر شاخص تنش، جزء ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی بودند. در گروه دوم ژنوتیپ‌های IR36، تایجونگ، حسنی و علی کاظمی قرار گرفته بودند. در این گروه ژنوتیپ تایچونگ بیشترین مقدار طول ریشه‌چه و نسبت جوانه‌زنی و ژنوتیپ علی کاظمی بیشترین مقدار طول ساقه‌چه را داشتند. گروه سوم شامل دو ژنوتیپ خزر و صدری بود. در گروه چهارم ژنوتیپ‌های دولار، دمسیاه و حسن‌سرایی واقع شده بودند. در این گروه ژنوتیپ دولار کمترین مقادیر طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و نسبت جوانه‌زنی را داشت. همچنین گروه پنجم شامل ژنوتیپ‌های کانتو۵۱، هاشمی، طارم، گرده، صالح و بهار ۱ بودند. در این گروه نیز ژنوتیپ‌های طارم، صالح و بهار ۱ از نظر شاخص تنش، در گروه ژنوتیپ‌های حساس به سرما بودند.

از نظر طول ریشه‌چه گرده، صدری و تایچونگ که در دو دمای ۱۷ و ۲۱ درجه سانتی‌گراد میزان طول ریشه‌چه در آن‌ها بالا بود، جزء ژنوتیپ‌های متحمل بودند و دولار و حسن‌سرایی جزء ژنوتیپ‌های حساس بودند. در تطابق با نتیجه تحقیق حاضر، Radfar (2004) نشان داد که در مرحله جوانه‌زنی ژنوتیپ گرده تحمل بالایی به تنش سرما داشت. از آنجا که Cruz and Milach (2004) نشان دادند که استفاده از صفت طول ساقه‌چه به عنوان یک شاخص معتبر برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به سرما در برنج می‌باشد، از نظر این شاخص می‌توان صدری و تایچونگ را به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به سرما و IR36، دولار و حسن‌سرایی را جزء ژنوتیپ‌های حساس قلمداد نمود. محققین دیگری نیز با استفاده از تجزیه خوشه‌ای اقدام به گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج نمودند (Abozzary Gazafrody et al., 2007; Agahi et al., 2012; Behpouri et al., 2007; Mokata and Mehetre, 1998).

در میان ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، تایچونگ و صدری به‌طور معنی‌داری تحت شرایط دماهای پایین، از لحاظ صفات مورد مطالعه میزان بیشتری از جوانه‌زنی، رشد ریشه‌چه و رشد ساقه‌چه را نشان دادند که می‌تواند بیانگر مقاومت این ژنوتیپ‌ها نسبت به درجه حرارت‌های پایین باشد. در ارتباط با تأثیر منفی درجه حرارت بر صفات مورد مطالعه، Francois (2007) اظهار داشته است که درجات حرارت پایین‌تر پروسه‌های رشد گیاهی را تحت تأثیر خود قرار می‌دهند و سبب زیان رساندن به فرآیندهای فتوسنتز در مراحل گیاهچه‌ای می‌شوند. همچنین اظهار شده است که تنش سرمایی می‌تواند مسبب کاهش رشد باشد و منتج به کاهش غیرمستقیم عملکرد به دلیل کم نمودن کربوهیدرات قابل دسترس برای تولید دانه شود (Ñanculao et al., 2013). دمای پایین در مرحله گیاهچه می‌تواند با توجه به استقرار ضعیف گیاهچه‌ها و در نتیجه کاهش جمعیت گیاهی سبب کاهش عملکرد برنج شود (Lou et al., 2007). در این تحقیق مشاهده شد که بذور سالم و طبیعی در دمای شاهد (۲۵ درجه سانتی‌گراد)، ۳۶ ساعت پس از خیس کردن شروع به جوانه‌زنی کردند و ظرف ۷ روز جوانه‌زنی آن کامل شد، اما در درجات حرارت دیگر آغاز و تکمیل شدن جوانه‌زنی به تأخیر افتاد.

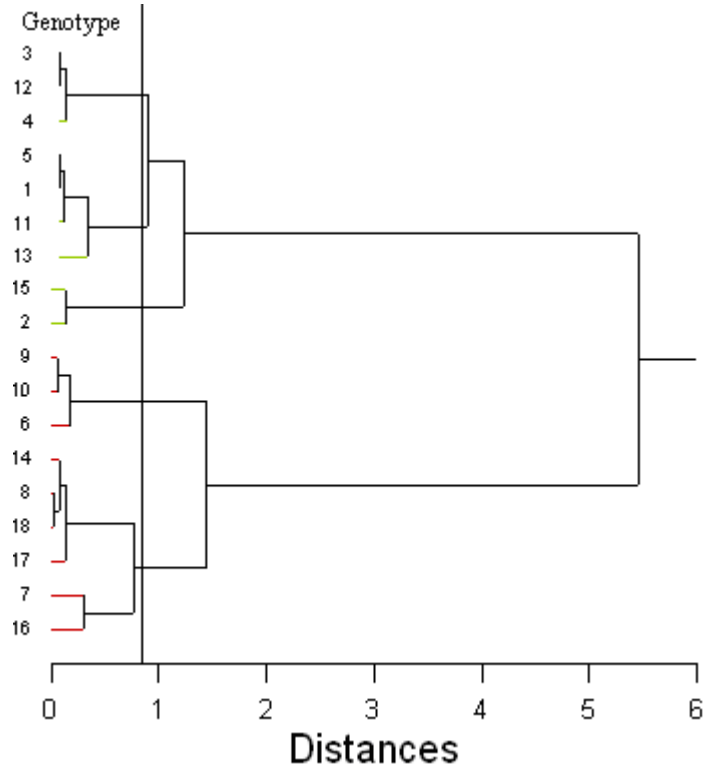
برآورد پارامترهای ژنتیکی: از آنجا که در برنامه‌های اصلاحی، اصلاحگر بایستی از ساختار ژنتیکی صفات مختلف اطلاعات دقیقی داشته باشد تا بهترین روش اصلاحی را انتخاب نماید، تعدادی از پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی نیز برای سه صفت مورد مطالعه برآورد شدند. یکی از این معیارها وراثت‌پذیری عمومی است که نشان‌دهنده سهم تغییرات ژنتیکی از کل تغییرات موجود می‌باشد. این معیار به طور غیرمستقیم سهم عوامل محیطی را نیز در کنترل یک صفت نشان می‌دهد، هرگاه سهم عوامل ژنتیکی بیشتر از عوامل محیطی باشد، نقش انتخاب می‌تواند مفید باشد، اما اگر

سهم عوامل محیطی بیشتر باشد، انتخاب نمی‌تواند به نتایج مناسبی برسد (Dorosti et al., 2004). مقادیر تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی برای دو صفت طول ساقه‌چه و نسبت جوانه‌زنی نزدیک به هم بود، که نشان می‌دهد اثرات ژنتیکی برای این صفات بیشتر از اثرات محیطی می‌باشد، نزدیک بودن واریانس فنوتیپی و ژنوتیپی نیز برای این دو صفت مؤید این مطلب می‌باشد (Rahim Sorush et al., 2004). بررسی وراثت‌پذیری صفات مورد مطالعه نشان داد که بیشترین میزان وراثت‌پذیری عمومی مربوط به صفت طول ساقه‌چه و کمترین میزان آن مربوط به صفت طول ریشه‌چه بود. برای صفت نسبت جوانه‌زنی نیز وراثت‌پذیری عمومی در حد متوسط برآورد شد. اما برای صفت طول ریشه‌چه این دو مقدار از هم تفاوت بیشتری داشتند که نشان‌دهنده دخالت اثر محیط می‌باشد (جدول ۳). تنوع میان ژنوتیپ‌ها از لحاظ واکنش‌های متفاوت به تنش سرمایی با توجه به منشأ متفاوت آن‌ها مورد انتظار می‌باشد. وجود چنین تنوعی برای به‌نژادگران جذاب می‌باشد، چون به آن‌ها اجازه می‌دهد تا از ژنوتیپ‌ها به عنوان والدین تلاقی‌ها استفاده نماید و صفات مطلوب را از ژنوتیپ‌های متحمل به ژنوتیپ‌های سازگار شده بومی انتقال دهند (Kubo et al., 1999).



شکل ۲: تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس درصد کاهش صفات در ۱۷ درجه سانتی‌گراد

۱، IR36؛ ۲، خزر؛ ۳، بینام؛ ٤، عنبربو؛ ٥، تایجونگ؛ ٦، دولار؛ ۷، کانتو۵۱؛ ۸، هاشمی؛ ۹، دمسیاه؛ ۱۰، حسن‌سرایی؛ ۱۱، حسنی؛ ۱۲، نعمت؛ ۱۳، علی کاظمی؛ ١٤، طارم؛ ١٥، صدری؛ ١٦، گرده؛ ۱۷، صالح؛ ۱۸، بهار ۱.



شکل ۳: تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس درصد کاهش صفات در ۲۱ درجه سانتی‌گراد

۱، IR36؛ ۲، خزر؛ ۳، بینام؛ ٤، عنبربو؛ ٥، تایجونگ؛ ٦، دولار؛ ۷، کانتو۵۱؛ ۸، هاشمی؛ ۹، دمسیاه؛ ۱۰، حسن‌سرایی؛ ۱۱، حسنی؛ ۱۲، نعمت؛ ۱۳، علی کاظمی؛ ١٤، طارم؛ ١٥، صدری؛ ١٦، گرده؛ ۱۷، صالح؛ ۱۸، بهار ۱.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که نسبت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در دماهای پایین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و همچنین با عنایت به نتایج تجزیه خوشه‌ای تنوع قابل ملاحظه‌ای بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در هر سه شرایط دمایی وجود داشت. بنابراین می‌توان از این ژنوتیپ‌ها برای ایجاد نسل‌های تفکیک در پروسه‌های انتخاب برای دست‌یابی به ژنوتیپ‌های متحمل به سرما استفاده نمود. در مجموع، از ژنوتیپ‌های تایچونگ و صدری می‌توان به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به سرما برای تلاقی با ژنوتیپ‌های حساسی مانند دولار، IR36 و حسن‌سرایی استفاده نمود و نتاج حاصل از آن‌ها را برای برنامه‌های اصلاحی مانند مکان‌یابی جایگاه‌های ژنی صفات کمی (QTL)، تجزیه واریانس و میانگین نسل‌ها و همچنین ایجاد جوامع تفکیک به کار برد. دو ژنوتیپ متحمل فوق در دماهای ۱۳ و ۱۷ درجه سانتی‌گراد در یک کلاستر و در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد در دو کلاستر نزدیک به هم قرار داشتند. از آنجا که بیشترین میزان وراثت‌پذیری عمومی مربوط به صفت طول ساقه‌چه بود، با استفاده از این شاخص می‌توان اقدام به انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به سرما در نسل‌های اولیه حاصل از تلاقی‌ها نمود.

References

Abozzary Gazafrody, A., Honarnejad, R., Fotokian, M. and Aalami, A. 2007. Correlation study of agronomic traits and path analysis in rice. Journal of Science and Technologyin Agriculture and Nature Resources, 10: 2.99-106. (In Persian).

Afiukwa, C.A., Faluyi, J.O., Atkinson, C.J., Ubi, B.E., Igwe, D.O. and Akinwale, R.O. 2016. Screening of some rice varieties and landraces cultivated in Nigeria for drought tolerance based on

phenotypic traits and their association with SSR polymorphisms. African Journal of Agriculture Research, 11(29): 2599-2615.

Agahi, K., Fotokian, M.H. and Younesi, Z. 2012. Study of genetic diversity and important correlations of agronomic traits in rice genotypes (*Oryza sativa* L.) Iranian Journal of Biology. 25: 1.97-110. (In Persian).

Behpouri, A., Kheradnam, M. and Bijanzadeh, E. 2007. Evaluation of genetic variation in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using some of agronomic and morphological traits. Journal of Agricultural Sciences, 12: 4.799-809. (In Persian).

Bertin, P., Kinte, J.M., and Bouharmont, J. 1996. Evaluation of chilling sensitivity in different rice varieties: Relationship between screening procedures applied during germination and vegetative growth. Euphytica, 89:201–210.

Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environments. Boca Raton: CRC Press, 99–132.

Cruz, R.P. and Milach, S.C.K. 2004. Cold tolerance at the germination stage of rice: Methods of evaluation and characterization of genotypes. Scientia Agricola, 61:1–8.

Cruz, R.P., Milach, S.C.K. and Luiz, C.F. 2006. Inheritance of rice cold tolerance at the germination stage. Genetics and Molecular Biology, 29:314-320.

Dorosti, H., Sadeghian Motahar, Y. and Bihamta, M.R. 2004. Determination of genetic diversity based on agronomic traits in advanced lines and cultivars of rice. Seed and Plant, 20:137-147. (In Persian).

Fischer, R.A. and Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. Australian Journal of Agriculture Research, 29: 897-912.

Francois, O. 2007. Cold acclimation and freezing tolerance in plants. Encyclopedia of Life Sciences, 53:67-78.

Ghorbani, A., Zarinkamar, F. and Fallah, A. 2011. Effect of cold stress on the anatomy and morphology of the tolerant and sensitive cultivars of rice during germination. Journal of Cell and Tissue, 2(3): 235-244. (In Persian).

Islam, M.K., Islam, M.S., Biswas, J.K., Lee, S.Y., Alam, I. and Huh, M.R. 2014. Screening of rice varieties for direct seeding method. Australian Journal of Crop Science, 8(4):536-542.

Jiang, L., Xun, M.M., Wang, J.L. and Wan, J.M. 2008. QTL analysis of cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.) using recombination inbred lines. Cereal Science, 48:173–179.

Joshi, S.C., Chandra, S. and Palni, L.M.S. 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetica, 45(4): 594- 600.

Kubo, T. and Yoshimura, A. 1999. Complementary genes causing F2 sterility in japonica/indica cross of rice. Rice Genetic Newsletter, 16: 68–70.

Lee, M.H. 2001. Low temperature tolerance in rice: the Korean experience. International Rice Research Institute (IRRI). 101: 109-117.

Lou, Q., Chen, L., Sun, Z., Xing, Y., Li, J., Xu, X., Mei H. and Luo, L. 2007. A major QTL associated with cold tolerance at seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica, 158: 87–94.

Milligan, S.B., Balzarini, M. and White, W.H. 2003. Broad-Sense heritabilities, genetic correlations, and selection indices for sugarcane borer resistance and their relation to yield loss. Crop Science, 43: 1729–1735.

Mokata, A.S. and Mehetre, S.S. 1998. Genetic divergence in rice. Advances in Plant Sciences, 11: 2.189-192.

Ñanculao, G.D., Cárcamo, M.P., de los Santos, O.A. and Velásquez, V.B. 2014. Cold tolerance evaluation in Chilean rice genotypes at the germination stage. Ean Journal of Agriculture Research, 73(1): 2-8.

Radfar, H. 2004. The evaluation of cold stress on germination and seedling stage of rice in control condition of Mazandaran area. M. Sc. Thesis. Azad Uni. Varamin Unite.; 182p. (In Persian).

Rahim Sorush, H., Mesbah, M., Hosseinzadeh, A. and Bozorgipor, R. 2004. Genetic and Phenotypic Variability and Cluster Analysis for Quantitative and Qualitative Traits of Rice. Seed and Plant, 20:167-182. (In Persian).

Romesborg, H.C. 1990. Cluster analysis for researches, R.K. Publishing Company, Malabar, Florida, P: 9-25.

Rosielle, A.A. and Hamblin, J. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. Crop Science, 21: 943-946.

Roy, D. 2000. Plant breeding analysis and exploitation of variation. Alpha Science International LTD, pp. 701.

Sharifi, P. 2010. Evaluation on sixty eight rice germplasms in cold tolerance at germination stage. Rice Science, 17(1): 77-81.

Sharifi, P. 2009. Inheritance of Cold Resistance and estimation of genetic parameters in rice at the germination stage. Journal of Crop Production. 2 (3): 37-54. (In Persian).

Soltani, A., Galeshi, S., Zeinali, E. and Latifi, N. 2002. Germination, seed reserve utilization and seedling growth of chickpea as affected by salinity and seed size. Seed Science and Technology, 30: 51-60.

Xu, L.M., Zhou, L., Zeng, Y.W., Wang, F.M., Zhang, H.L., Shen S.Q. and Li, Z.C. 2008. Identification and mapping of quantitative trait loci for cold tolerance at the booting stage in a japonica rice near-isogenic line. Plant Science, 174: 340–347.

Ye, C., Fukai, S., Godwin, I., Reinker, R., Snell, P., Schiller, J. and Basnayake, J. 2009. Cold tolerance in rice varieties at different growth stages. Crop and Pasture Science, 60: 328-338.