

ارتباط نشانگرهای ISSR با صفات زراعی برنج در شرایط غرقاب و تنش خشکی

محمد رضا کریم^۱، حسین صبوری^{۲*} و محمد علی ابراهیمی^۱

^۱ ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه بیوتکنولوژی

^۲ ایران، گنبد کاووس، دانشگاه گنبد کاووس، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه تولیدات گیاهی

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۵

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۱

چکیده

در این تحقیق ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی در برنج با استفاده از ۲۱ صفت زراعی و ۱۴۴ باند تشکیل شده حاصل از ۱۰ آغازگر بین ریزوماهواره در ۵۹ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه قرار گرفت. آبیاری مزرعه در هر دو محیط غرقاب و تنش، تا مرحله پنجاه‌دهی ارقام به طور غرقاب انجام شد. سپس برای ایجاد تنش، از ۴۰ روز پس از نشاء (مرحله حداکثر پنجه‌زنی) تا پایان فصل زراعی به فاصله ۲۵ روز انجام شد. بیشترین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) را آغازگر ISSR-7 با ۰/۴۹ و آغازگرهایی ISSR-2، ISSR-8، ISSR-9 و ISSR-10 با ۰/۴۷ کمترین مقدار PIC را به خود اختصاص دادند. براساس تجزیه رگرسیون داده‌های مولکولی و صفات مورفولوژیکی، در مجموع ۷۰ نشانگر برای شرایط نرمال و ۷۲ نشانگر برای شرایط تنش خشکی برای صفات مورفولوژیکی شناسایی شد. در شرایط نرمال عرض برگ پرچم با ۹ نشانگر و در شرایط تنش خشکی طول خروج خوشه از غلاف، عرض برگ پرچم، تعداد دانه کل، تعداد دانه پر خوشه و عملکرد در هکتار با ۶ نشانگر بیشترین نشانگرهای مثبت را نشان دادند. بیشترین توجه تغییرات در شرایط نرمال مربوط به صفت مدت زمان رسیدگی (۰/۲۰) توسط مکان‌های ژنی ISSR1-2، ISSR1-5، ISSR4-8، ISSR8-9، ISSR2-5، ISSR1-7، ISSR7-4، ISSR10-11، ISSR6-7، ISSR5-1 تبیین شد. در شرایط تنش خشکی بیشترین توجه تغییرات مربوط به صفت عملکرد در هکتار (۰/۱۷) توسط مکان‌های ژنی ISSR3-1، ISSR10-10، ISSR10-8، ISSR9-ISSR1-6، ISSR2-8 تبیین شد. تعدادی از نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط می‌باشند از نتایج این تحقیق در تامین اطلاعات اولیه برای انتخاب غیر مستقیم صفات از طریق نشانگرهای مرتبط مفید می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه ارتباط، تنش خشکی، نشانگرهای آگاهی‌بخش

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۷۳۳۲۲۸۸۸۳، پست الکترونیکی: Hos.sabouri@gmail.com

مقدمه

بیشتر، به راحتی قابل توسعه و افزایش نمی‌باشد. بعلاوه برنج تحت هر شرایط آب و هوایی قابل کشت نیست. در حال حاضر سطح زیر کشت برنج در دنیا بالغ بر ۱۶۳/۴ میلیون هکتار و میزان تولید آن بیش از ۷۱۸ میلیون تن با عملکرد متوسط ۳۸۰۰ کیلوگرم شلتوک در هکتار می‌باشد. در بین مناطق جهان، آسیا حدود ۹۰-۹۱ درصد از کل تولید جهانی برنج را دارا می‌باشد و تنها ۸-۹ درصد از تولید به بقیه مناطق جهان اختصاص دارد (۱۳). خشکی از

برنج یکی از مهمترین گیاهان زراعی جهان می‌باشد و غذای اصلی و منبع تامین کربوهیدرات کثیری از مردم جهان بوده که سطح وسیعی از زمین‌های زیر کشت در آسیا را به خود اختصاص داده است. به طوری که بیش از ۹۰ درصد برنج در آسیا تولید و مصرف می‌گردد. بیش از ۸۰ درصد کالری و ۷۵ درصد پروتئین مصرفی مردم آسیا از برنج تامین می‌گردد (۳۲). تولید برنج در مقایسه با تولید سایر غلات به دلیل تخصصی‌تر بودن و سرمایه مورد نیاز

محقق می‌تواند با صرف حداقل زمان ممکن از پایه‌های ژنتیکی متنوع که در بانک ژن وجود دارد در برنامه‌های به-نژادی خود استفاده کند. برای این کار تعیین تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای اولین قدم در قبال استفاده کردن منابع ژرم پلاسما می‌باشد (۱۵).

گریما و همکاران (۱۴) به بررسی تنوع ژنتیکی ۳ جمعیت وحشی و زراعی برنج اتیوپی با استفاده از نشانگر بین ریز ماهواره پرداختند نتایج این پژوهش نشان داد که نشانگرهای بین‌ریزماهواره به طور موثری می‌تواند برای مطالعه تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های وحشی و زراعی مورد استفاده قرار گیرد و تنوع ژنی بیشتری را در جمعیت‌های وحشی نشان داد. فریدریس و همکاران (۱۲) برای بررسی تنوع سوماکلون در سطح توالی نوکلوتیدی برنج ۲۴ نشانگر RAPD و ۲۰ نشانگر بین‌ریزماهواره مورد مطالعه قرار دادند که متوسط ژنی برای هر نشانگر به ترتیب ۲۰/۸۳ و ۱۷/۰۴ برآورد شد. بلایر و همکاران (۹) ۵۹ ژنوتیپ برنج توسط ۳۲ آغازگر بین‌ریزماهواره مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که نشانگر بین‌ریزماهواره کارآمدترین ابزار برای تخمین تنوع ژنتیکی برنج است.

آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی و برآورد میزان آن در ژرم پلاسما گیاهان و تعیین روابط ژنتیکی مواد اصلاحی، پایه و اساس بسیاری از برنامه‌های اصلاح نباتات به شمار می‌رود (۳۳). پیش از شناسایی و کاربرد نشانگرهای مولکولی، محققان و پژوهشگران اغلب از صفات مورفولوژیک در ارزیابی‌های تنوع ژنتیکی و ارتباط بین ژنوتیپ‌های یک گونه خاص استفاده می‌کردند (۲۳). کم بودن تعداد نشانگرهای مورفولوژیک و متاثر بودن آنها از عوامل محیطی سبب شد کاربرد اینگونه نشانگرها محدود شود. پیشرفت علوم بیوتکنولوژی و شناسایی نشانگرهای مبتنی DNA و حذف اثرهای ناشی از عوامل محیطی، توانست بسیاری از مشکلات مربوط به نشانگرهای مورفولوژیک را برطرف کند و تکمیل کننده نشانگرهای مورفولوژیک باشد (۱۸). در

عمده خطرات جدی برای تولید موفق محصولات زراعی بخصوص برنج در جهان است که می‌تواند در هر زمان طی فصل رشد رخ دهد (۲ و ۷). از این رو یکی از چالش‌های اصلی در کشاورزی تولید غذای بیشتر با آب کمتر می‌باشد (۲۹). تنش خشکی مهم‌ترین عامل محدود کننده تولید برنج در ۴۰ میلیون هکتار از اراضی زیر کشت برنج در آسیا می‌باشد (۳۱). انتخاب بر اساس عملکرد ژنوتیپ‌ها در هر دو محیط تنش و بدون تنش باعث انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا در شرایط تنش می‌شود، زیرا آل‌های مطلوب تحت شرایط تنش خشکی انتخاب شده و همزمان پاسخ به انتخاب در شرایط بدون تنش به دلیل وراثت پذیری بالاتر عملکرد، حداکثر است (۲۳).

انتخاب در برنامه‌های اصلاحی زمانی به نتیجه منهی خواهد شد که در جمعیت تنوع ژنتیکی وجود داشته باشد. فقدان تنوع ژنتیکی علاوه بر محدود ساختن برنامه‌های اصلاحی، موجب از دست رفتن نژادها و سویه‌های می‌شود. بهترین نتیجه از آنالیز تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌ها زمانی حاصل می‌شود که اطلاعات صفات فنوتیپی با داده‌های مولکولی مقایسه شوند و روابط بین ژنوتیپ‌ها در این صورت بهتر مقایسه می‌شود. به کمک نشانگرهای مولکولی می‌توان به تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های برنج پی برد و ژنوتیپ‌های که تحمل مناسبی در مقابله با تنش خشکی نشان دهند را گزینش نمود و در برنامه‌های اصلاحی برای رسیدن به جمعیتی با هتروزیگوسیتی بالا در صفات ژنوتیپی و فنوتیپی مطلوب استفاده کرد (۱۰).

باتوجه به روند فزاینده گسترش خشکی در جهان، داشتن گیاهان مقاوم به خشکی برای بسیاری از کشورها امری حیاتی می‌باشد و انتقال ژن‌های ایجاد کننده مقاومت به خشکی از واریته‌های محلی و یا ارقام وحشی به ارقام اصلاح شده یا سایر ارقام تجاری، می‌تواند تحول عظیمی در تغذیه کشورهای مناطق خشک پدید آورد همچنین با بررسی ژرم پلاسما و تعیین وضعیت تنوع ژنتیکی گیاهان،

سیب زمینی نشان دادند. صفت وزن خشک برگ با ۷ آل بیشترین ارتباط معنی‌دار و صفت وزن خشک ریشه با ۲ آل کمترین ارتباط معنی‌دار با نشانگرها را از خود نشان دادند. شکرپور و همکاران (۶) در بررسی رابطه بین نشانگرهای مورفولوژیکی، فیتوشیمیایی و مولکولی در گیاه مارتیغال در گونه *Silybum marianum* L مورد ارزیابی قرار دادند، نتایج نشان داد که بیش از ۴۰ درصد از تغییرات مربوط به وزن هزاردانه، ارتفاع بوته و تاریخ گلدهی توسط نشانگرهای مثبت شناسایی شده توجیه گردید.

هدف از این تحقیق شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفات زراعی در ۵۹ ژنوتیپ برنج در شرایط نرمال و تنش خشکی با استفاده از سیستم نشانگری بین ریزماهوره ای بود.

مواد و روشها

مواد گیاهی: به منظور شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش ISSR مرتبط با صفات زراعی برنج در شرایط غرقاب و تنش خشکی ۵۹ ژنوتیپ دریافتی از موسسه تحقیقات برنج کشور و موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (جدول ۱) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو شرایط جداگانه، بدون تنش (غرقاب) و تنش خشکی در مزرعه پژوهشی واقع در شهرستان علی‌آباد کتول با طول جغرافیایی ۵۴/۵۱ شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶/۵۴ شمالی با ارتفاع ۱۳۶ متر از سطح دریا، در سال زراعی ۱۳۹۲ انجام شد. قبل از کاشت در خزانه، محل خزانه با دقت توسط تیلر شخم زده شد. بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب معمولی خیسانده شدند و بعد به مدت ۱۲ ساعت در محلول ۲ در هزار مانکوزب قرار داده شدند. سپس بذرها در پارچه‌های کفی قرار داده شدند تا جوانه‌دار شوند. در این مدت، بذرها چندین بار به آرامی تکان داده شدند تا جوانه‌زنی به طور یکنواخت انجام شود و برای خشک نشدن بذرها، چندین بار آب پاشی انجام شد. خزانه به

سال‌های اخیر نشانگرهای پیوسته با صفات مطلوب زراعی و کاربرد آنها در تجزیه وراثت صفات در گیاهان زراعی و ساختار و سازماندهی ژنوم مشخص شده است (۱۸). با توجه به اینکه نشانگرهای مولکولی و صفات مورفولوژیک مکمل یکدیگر بوده و نمی‌توانند به تنهایی ابزار مفید و سودمندی در روش‌های مختلف اصلاحی باشند (۲۰) و (۲۱)، از اینرو مطالعه رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات زراعی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هامزا و همکاران (۱۶) در پژوهشی ۱۷ نشانگر ریزماهوره برای بررسی تنوع ژنتیک ۲۶ گونه جو و تعیین ارتباط این نشانگرها با برخی صفات مورفولوژیک استفاده کردند. آن‌ها نشان دادند همبستگی مثبت و معنی‌داری بین برخی از نشانگرها و داده‌های مورفولوژیکی وجود دارد. در ضمن با توجه به پژوهش آپلینتر و همکاران (۸) بر روی ۱۱۴ گونه یولاف، با استفاده از ۷۷ نشانگر چندشکل حاصل از هشت ترکیب آغازگری، تجزیه ارتباط را برای مکان‌یابی عملکرد و اجزای عملکرد انجام دادند؛ در نهایت ۲۳ نشانگر را برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی بعدی معرفی کردند. وایرک و همکاران (۳۰) رابطه بین صفات تاریخ گلدهی و تعداد پنجه را با نشانگرهای RAPD و ایزوزیم در ۴۷ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که رگرسیون چندگانه با استفاده از ۶۳ نشانگر RAPD و ۳۹ آلوزایم به عنوان متغیر وابسته نشان داد، ۲۹ نشانگر حدود ۹۹ درصد تغییرات را توجیه کردند و مشخص شد در صورتی که پیوستگی ژنتیکی علت اصلی رابطه بین نشانگرهای مولکولی و صفات کمی باشد، گزینش کارایی والدین به منظور ایجاد جوامع مورد استفاده در مکان‌یابی QTL های یک صفت معین می‌باشد. سخدری و همکاران (۴) ۲۰ ژنوتیپ سیب زمینی توسط ۱۶ نشانگرهای بین-ریزماهوره مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که در مجموع ۶۵ مکان ژنی تولید شد. تجزیه ارتباط تجزیه ارتباط صفات مورفولوژیکی با ۶۵ مکان ژنی، ارتباط معنی‌داری با ۸ صفت از صفات مورد ارزیابی در ژنوتیپ‌های

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. اندازه واحدهای آزمایشی دو متر مربع ابعاد کرت (۲×۱) و با فاصله یک متر از یکدیگر در نظر گرفته شده بعد از انتساب تصادفی تیمارها به واحدهای آزمایشی نشاکاری به صورت چهار بوته در هر کپه انجام شد هر ژنوتیپ در پنج ردیف با فاصله ۲۵ سانتی متر بین بوته‌ها و ۲۵ سانتی متر بین ردیف‌ها در ردیف‌های به طول دو متر کشت شد. آبیاری مزرعه آزمایشی در هر دو محیط غرقاب و تنش، تا مرحله پنجه-دهی ارقام به طور یکسان و به طور غرقاب انجام شد. سپس برای ایجاد تنش، آبیاری از ۴۰ روز پس از نشاء (مرحله حداکثر پنجه‌زنی) براساس ظهور علائم تنش خشکی در گیاهان (لوله شدن برگ) تا پایان فصل زراعی به فاصله ۲۵ روز انجام شد. جهت جلوگیری از فرار آب و علف‌کش‌ها مرز کرت‌ها تا عمق یک متری با پوشش نایلونی پوشانیده شدند. وجین علف‌های هرز، ۲۱ روز پس از نشاءکاری و وجین دوم به فاصله ۱۹ روز از وجین اول انجام شد. به منظور مبارزه با پروانه ساقه خوار برنج از سم دیازینون ۱۰ درصد به میزان ۱۵ کیلوگرم در هکتار در موقع وجین و در زمان خوشه‌دهی و چند روز قبل از رسیدگی استفاده شد.

صفات مورد مطالعه روی ۱۵ خوشه اصلی از ۱۵ بوته تصادفی از هر کرت ثبت شد. صفات عبارت بودند از: شامل طول خوشه (فاصله طولی از گره زیر خوشه تا انتهای خوشه بدون در نظر گرفتن ریشک برحسب سانتیمتر)، تعداد خوشه چه، دانه پوک، طول خروج خوشه از غلاف، طول برگ پرچم (فاصله طولی از زیر برگ پرچم تا نوک آن بر حسب سانتیمتر)، عرض برگ پرچم (فاصله طولی پهن-

ترین قسمت برگ پرچم بر حسب سانتیمتر)، مساحت برگ پرچم (طول و عرض برگ پرچم در ضریب ۰/۷۵)، دانه کل خوشه، ارتفاع بوته (ارتفاع بلندترین پنجه از ناحیه طوقه در سطح خاک تا نوک خوشه بدون احتساب ریشک بر حسب سانتیمتر)، تعداد خوشه بوته، وزن کاه بوته، وزن خوشه، وزن کل بوته، باروری (از تقسیم تعداد دانه بر تعداد کل دانه‌ها)، تعداد دانه پرخوشه، وزن دانه پرخوشه، عملکرد در هکتار (عملکرد شلتوک در یک هکتار برحسب تن)، وزن کاه در هکتار (وزن کاه در یک هکتار برحسب تن)، شاخص برداشت (از تقسیم وزن دانه بر وزن کل گیاه)، تعداد روز تا گلدهی (تعداد روزهای از کاشت نشاها در خزانه تا مرحله ۵۰ درصد گلدهی بوته‌های هر کرت)، تعداد روز تا رسیدگی (تعداد روزهای از کاشت نشاها در خزانه تا مرحله رسیدگی کامل بوته‌های هر کرت)، دوره پر شدن دانه (از تفریق تعداد روز تا گلدهی به تعداد روز تا رسیدگی). اندازه گیری ارزش‌های فنوتیپی عملکرد دانه و وزن هزار دانه در دو شرایط بر اساس دستورالعمل استاندارد ارزیابی صفات در برنج انجام شد (۲۷).

استخراج DNA و ارزیابی نشانگرهای مولکولی: به منظور بررسی ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای بین ریزوماهواره با ۵۹ ژنوتیپ برنج از ۱۰ نشانگر مولکولی بین ریزوماهواره‌ای (جدول ۲) در آزمایشگاه اصلاح نباتات و ژنتیک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبد کاووس انجام گرفت. استخراج برگ‌های جوان گیاهچه‌های ۲۱ روزه در مرحله چهار برگی با استفاده از روش CTAB (۱۱) انجام شد. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراجی از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز آگار ۱ درصد استفاده شد. تکثیر قطعه DNA با واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیتر PCR Master، ۱۰ میکرولیتر dH₂O، ۱ میکرولیتر DNA و ۱/۵ میکرولیتر از هر آغازگر به همراه یک قطره روغن مینرال برای جلوگیری از تبخیر انجام گرفت.



شکل ۱- مراحل ثبت داده‌های فنوتیپی
Figure 1- Registration of phenotypic data

جدول ۱- ژنوتیپ‌های مورد بررسی در آزمایش

شماره	ژنوتیپ‌ها	منشاء	شماره	ژنوتیپ‌ها	منشاء
۱	IR55419-04	IRRI (فیلیپین)	۳۱	LINE 213	ایران
۲	IR77298-5-6	IRRI (فیلیپین)	۳۲	ANBARBO ILAM	ایران
۳	IR60080-48	IRRI (فیلیپین)	۳۳	IR66417-18-1-1-1	IRRI (فیلیپین)
۴	IR68702-072-1-4-B	IRRI (فیلیپین)	۳۴	CT6516-24-3-2	IRRI (فیلیپین)
۵	Panda	هند	۳۵	IR7471-199-1-302	IRRI (فیلیپین)
۶	Way Rarem	ایتالیا	۳۶	IRGC-15092RT-1031-62	IRRI (فیلیپین)
۷	IRFAON-308	IRRI (فیلیپین)	۳۷	B6144F-MR-6-0-0	IRRI (فیلیپین)
۸	IR 53236-342	IRRI (فیلیپین)	۳۸	IR69626B	IRRI (فیلیپین)
۹	IR 47686-12-5-B-1	IRRI (فیلیپین)	۳۹	WAB638-1	هند
۱۰	IR66424-1-2-1-5	IRRI (فیلیپین)	۴۰	IR60080-46A	IRRI (فیلیپین)
۱۱	IR57924-24	IRRI (فیلیپین)	۴۱	Pegaso	ایتالیا
۱۲	Caiapo	ایتالیا	۴۲	IR63371-38	IRRI (فیلیپین)
۱۳	IR63377-08	IRRI (فیلیپین)	۴۳	CT13382-8-3-M	IRRI (فیلیپین)
۱۴	CT6510-24-1-2	IRRI (فیلیپین)	۴۴	IRAT177	IRRI (فیلیپین)
۱۵	IR63380-08	IRRI (فیلیپین)	۴۵	IR66421-062-1-1-2	IRRI (فیلیپین)
۱۶	IR60080-42	IRRI (فیلیپین)	۴۶	IR65907-116-1-B	IRRI (فیلیپین)
۱۷	SANGJO	ایران	۴۷	IR65261-09-1-B	IRRI (فیلیپین)
۱۸	USEN	IRRI (فیلیپین)	۴۸	IR30	IRRI (فیلیپین)
۱۹	IR67015-49-2-6	IRRI (فیلیپین)	۴۹	IR62761-20	IRRI (فیلیپین)
۲۰	IRAT170	IRRI (فیلیپین)	۵۰	IR 55411-50	IRRI (فیلیپین)
۲۱	IR62752-07	IRRI (فیلیپین)	۵۱	IRAT216	IRRI (فیلیپین)
۲۲	Palawan	هند	۵۲	SAMBA MAHSURI	هند
۲۳	IR55423-01	IRRI (فیلیپین)	۵۳	IR70358-84-1-1	IRRI (فیلیپین)

۲۴	CT6510-24-7-8	IRRI (فیلیپین)	۵۴	CT6510-24-7-8	IRRI (فیلیپین)
۲۵	NONABOKA	هند	۵۵	IR60080-46A	IRRI (فیلیپین)
۲۶	IR3441-97	IRRI (فیلیپین)	۵۶	UPLRi-7	IRRI (فیلیپین)
۲۷	DAGADDESHI	هند	۵۷	LINE226	ایران
۲۸	IR63372-15	IRRI (فیلیپین)	۵۸	LINE 835	ایران
۲۹	IR70360-38-1-B-1	IRRI (فیلیپین)	۵۹	AUS196	IRRI (فیلیپین)
۳۰	IRAT212	IRRI (فیلیپین)			

قطعات تکثیر یافته DNA تحت نور فرابنفش مورد مشاهده قرار گرفتند. باندهای تکثیر یافته بصورت یک (حضور باند) و صفر (عدم حضور باند) نمره‌دهی شد. محتوای اطلاعات چند شکل (Polymorphism Information Content) که نشان دهنده ارزش هر نشانگر برای بیان چندشکلی است توسط رابطه ۱ محاسبه شد (۲۴).

$$PIC_i = 2 f_i(1 - f_i) \quad \text{رابطه ۱}$$

در این رابطه PIC_i ، نشانگر نام، f_i فراوانی قطعه نشانگر نام هنگام وجود و $(1-f_i)$ فراوانی قطعه نشانگر نام در حالت عدم وجود نوار است.

برای تکثیر نشانگرهای بین‌ریز ماهواره واکنش PCR با دستگاه ترموسایکر با برنامه PCR شامل مراحل واسرشت سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد در ادامه ۳۵ چرخه به صورت واسرشته سازی به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ سانتی‌گراد اتصال آغازگرها به مدت یک دقیقه در دمای مناسب اتصال برای هر آغازگر و مرحله توسعه رشته جدید به مدت ۱/۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس محصولات تکثیر یافته واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از ژل آگار ۱/۵ درصد با ولتاژ ۱۰۰ به مدت ۵۰ دقیقه الکتروفورز شد. ژل‌ها به مدت ۱۲ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شدند و توسط دستگاه عکس برداری از ژل (ژل داک)

جدول ۲- نشانگرهای بین ریز ماهواره (ISSR) مورد بررسی در آزمایش

نشانگرها	توالی آغازگر (۳-۵)	دمای اتصال	نشانگرها	توالی آغازگر (۳-۵)	دمای اتصال
ISSR-1	(CAG) ₄	۵۹/۱	ISSR-6	(ATG) ₄	۴۱/۹
ISSR-2	(GAAT) ₄	۴۳/۸	ISSR-7	(CCA) ₄	۴۴/۷
ISSR-3	(CCTA) ₄	۴۸	ISSR-8	(CT) ₈ A	۵۰
ISSR-4	(CT) ₈ T	۵۰	ISSR-9	(ACTG) ₄	۴۸
ISSR-5	(CCA) ₄	۶۱/۱	ISSR-10	(GT) ₆ CC	۴۴

نتایج و بحث

ارزیابی‌های فنوتیپی

و نسبتاً معنی‌داری را نشان داد. بدین ترتیب، انتخاب ژنوتیپ‌های با تعداد روز تا گلدهی کم‌تر تا حدودی می‌تواند منجر به انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا شود زیرا ژنوتیپ‌های مطلوب تر با مکانیسم فرار از تنش استفاده نمودند. لافیته و همکاران (۱۸) نیز زودرسی را به عنوان یکی از صفات مهم برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی عنوان نمودند. بنابراین یکی از مکانیسم‌های تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌تواند فرار از

همبستگی: در هر دو شرایط غرقاب و تنش خشکی وزن دانه پر بیشترین ضریب همبستگی مثبت و معنی‌دار را با عملکرد به ترتیب (**۰/۹۶) و (**۰/۸۹) داشت با نتایج ساراوگی و همکاران (۲۶) موتان و سامی (۲۲) مطابقت دارد. صفت روز تا گلدهی در شرایط تنش همبستگی منفی

باعث تقسیم‌بندی ژنوتیپ‌ها به سه گروه مقاوم به خشکی، نیمه حساس به خشکی و حساس به خشکی گردید. کلاستر اول دارای ۲۰ ژنوتیپ بودند که مهم‌ترین ویژگی آن‌ها سرعت بالای پرشدن دانه در این ژنوتیپ‌ها برای فرار از خشکی مناسب هستند و در گروه مقاوم به خشکی قرار گرفتند. کلاستر دوم دارای بیشترین ژنوتیپ (۳۱) بودند. ارقام ایرانی سنگ جو و عنبربو ایلام در گروه نیمه حساس به خشکی قرار گرفتند. ارقام IR 47686-12-5-B-1 و Panda که زودرس‌ترین ژنوتیپ در شرایط خشکی بودند ولی به علت اینکه که دوره پرشدن دانه آن‌ها طولانی بود، جزوه این گروه قرار گرفتند. کلاستر سوم که دارای ارقام JRAT177, UPLRi-7, LINE 835, CT13382-8-3-M B6144F-MR-, IR62761-20, JRAT212, IR60080-42-0-0-6 بیشترین تعداد روز تا گلدهی داشتند، جزوه ارقام حساس به خشکی قرار گرفتند.

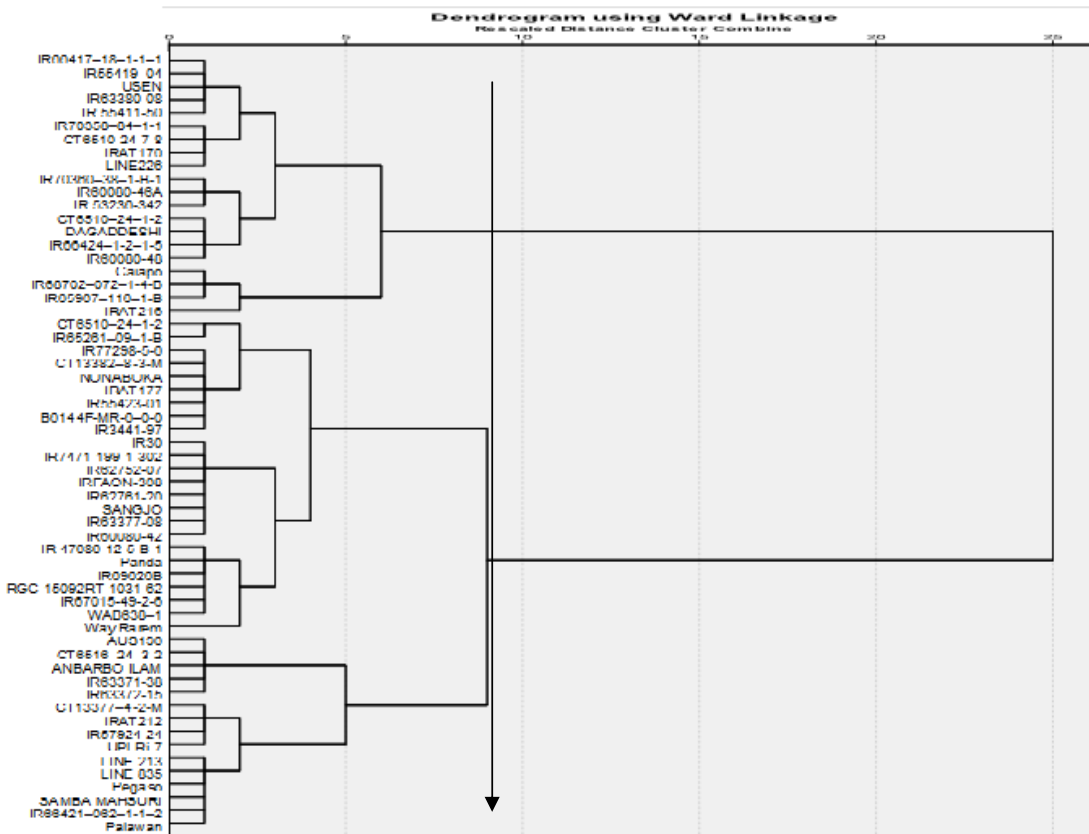
تنوع ژنتیکی: ژنوتیپ‌های مورد بررسی براساس ۱۰ نشانگر بین ریزماهواره در مجموع ۱۴۴ باندها با میانگین ۱۴/۴ باندها برای هر جایگاه نشانگری ایجاد نمود و از ۱۴۴ باندها تشکیل شده ۶۹/۱۷ درصد از باندها چندشکل بودند. بیشترین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) را آغازگر ISSR-7 با ۰/۴۹ و آغازگرهایی ISSR-2, ISSR-8, ISSR-9 و ISSR-10 با ۰/۴۷ کمترین مقدار PIC را به خود اختصاص دادند (جدول ۴). چمنی محصص و همکاران (۳) به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۹ لاین والدینی برنج شامل ۴ لاین ایرانی و ۵ لاین استحصالی از IRR از ۱۲ نشانگر ISSR و ۲۴ نشانگر SSR استفاده نمودند. مجموع نشانگرهای ISSR و SSR در این تحقیق ۱۵۰ باندها تشکیل شد که ۱۲۰ باندها چندشکل بودند و مجموع چندشکلی ۶۸ درصد بود. تعداد باندها برای هر نشانگر ISSR از ۲ تا ۱۷ متغیر بود و میانگین تعداد باندها هر نشانگر معادل ۶/۵ برآورد شد.

تنش خشکی با گلدهی زودتر آن‌ها باشد. صفت طول برگ پرچم تحت هر دو شرایط تنش و بدون تنش، همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه به ترتیب در سطح یک و پنج درصد نشان دادند (جدول ۸). افزایش سطح برگ پرچم که جوان‌ترین و مهم‌ترین عضو فتوسنتز کننده در برنج در مراحل پس از گلدهی، باعث افزایش میزان فتوسنتز و در نتیجه افزایش عملکرد دانه را به دنبال خواهد داشت. لافیته و همکاران (۱۸) عنوان نمودند برگ پرچم ژنوتیپ‌های حساس به خشکی در اثر تنش خشکی در مرحله گلدهی پیچ خورده و لوله شکل می‌شود و سطح مؤثرترین عضو فتوسنتز کننده آن‌ها کاهش یافته و علاوه بر کاهش اندازه دانه، تعداد دانه‌های پر و در نهایت عملکرد دانه در آنها کاهش می‌یابد، ولی ژنوتیپ‌های متحمل در مقابل تنش خشکی مقاومت نشان داده و سطح برگ پرچم خود را حفظ می‌کنند. نتیجه این تغییرات به افزایش تعداد دانه پر در خوشه، تعداد خوشه چه در خوشه چه در خوشه و تعداد خوشه در بوته یعنی اجزای اصلی عملکرد و معنی‌دار شدن این همبستگی در این مطالعه شد. ارتفاع بوته همبستگی منفی و معنی‌داری را با عملکرد شلتوک در شرایط تنش خشکی (جدول ۳) داشت. همبستگی منفی و معنی‌دار ارتفاع بوته با عملکرد شلتوک توسط لافیته و همکاران (۱۸) و هاو زو و همکاران (۱۷) نیز گزارش شده است. به عقیده این محققین، برنج‌های پاکوتاه در شرایط تنش خشکی سریع‌تر از ارقام پابلند آب و مواد غذایی خاک را در اختیار سطوح فتوسنتز کننده مانند برگ پرچم (انتهایی ترین برگ ساقه) قرار می‌دهند. در این پژوهش نیز نتیجه مشابهی به دست آمد.

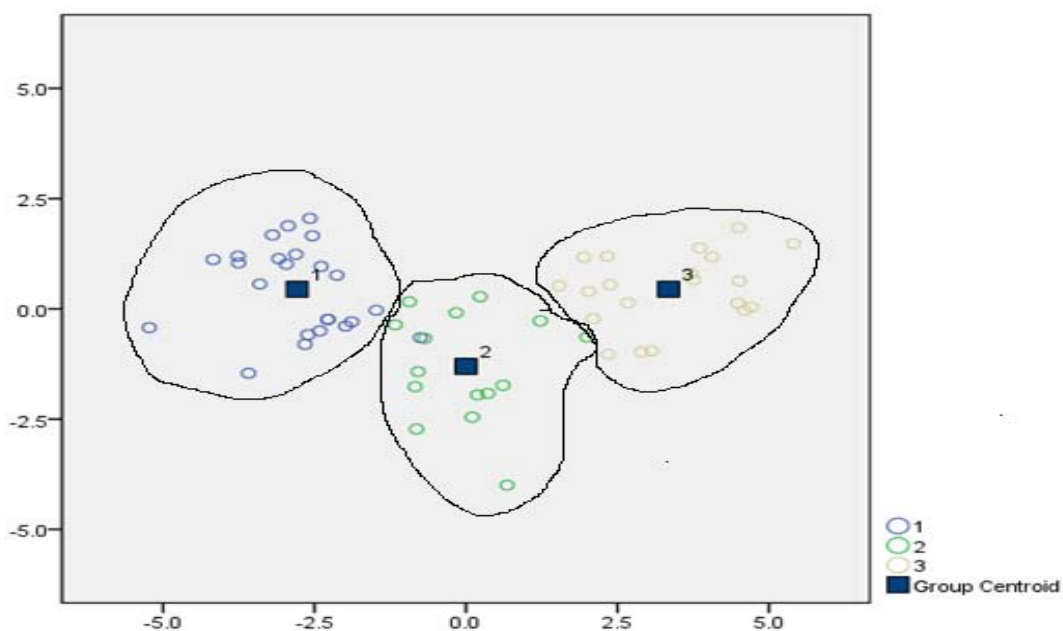
تجزیه کلاستر و تابع تشخیص: تجزیه کلاستر براساس روش ward و برش دندروگرام در فاصله ۸ و ۱۰ واحدی برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه موجب گروه بندی ژنوتیپ-ها به ترتیب در سه گروه در شرایط نرمال و تنش خشکی گردید (شکل ۲ و ۴). گروه بندی ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش

جدول ۳- ماتریس ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی در شرایط زمان و تنش خشکی (اعداد پایین شرایط زمان و اعداد بالا شرایط تنش خشکی)

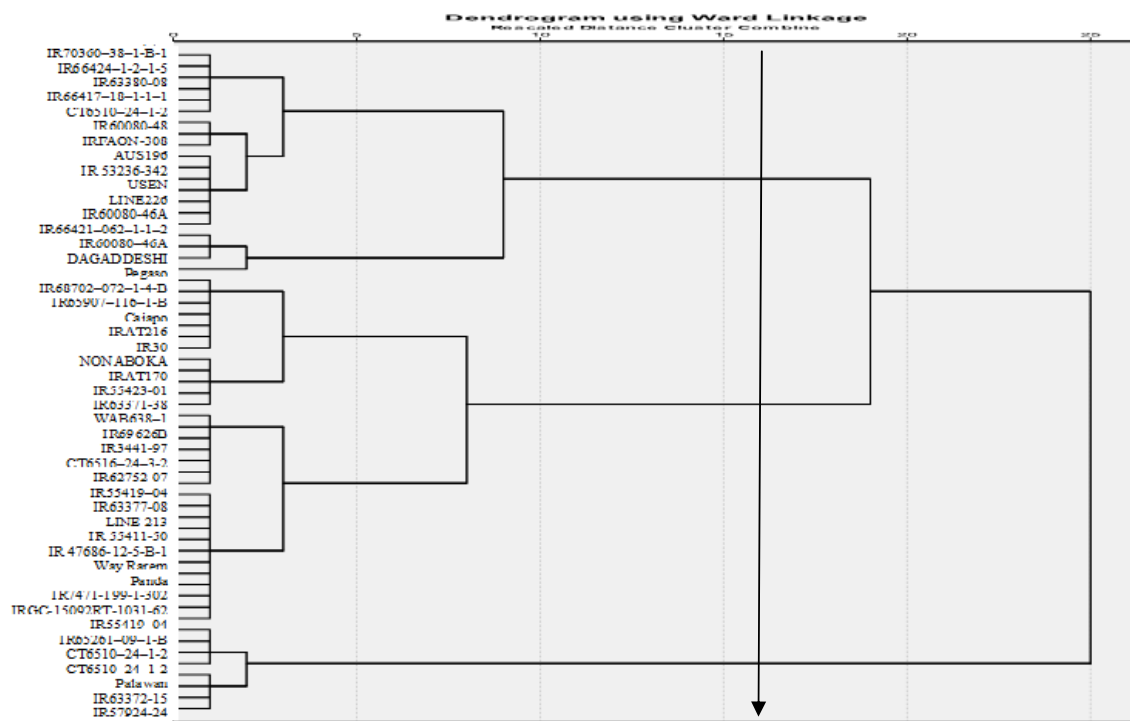
صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	
۱. شاخص برافست	۱	-۰/۱۵۷	-۰/۲۰۱**	-۰/۳۳۷**	-۰/۱۱۶	-۰/۲۲۸**	-۰/۲۸۲**	-۰/۳۳۷**	-۰/۳۹۲**	-۰/۴۵۰**	-۰/۵۰۸**	-۰/۵۶۶**	-۰/۶۲۵**	-۰/۶۸۳**	-۰/۷۴۱**	-۰/۷۹۹**	-۰/۸۵۷**	-۰/۹۱۵**	-۰/۹۷۳**	-۰/۱۰۳۱**	-۰/۱۰۸۹**	-۰/۱۱۴۷**	-۰/۱۲۰۵**
۲. دوره برداشت ماده	۱	۰/۱۵۱	۰/۲۲۳**	۰/۲۸۳**	۰/۳۴۳**	۰/۴۰۳**	۰/۴۶۳**	۰/۵۲۳**	۰/۵۸۳**	۰/۶۴۳**	۰/۷۰۳**	۰/۷۶۳**	۰/۸۲۳**	۰/۸۸۳**	۰/۹۴۳**	۰/۱۰۰۳**	۰/۱۰۶۳**	۰/۱۱۲۳**	۰/۱۱۸۳**	۰/۱۲۴۳**	۰/۱۳۰۳**	۰/۱۳۶۳**	۰/۱۴۲۳**
۳. تعداد روز تا رسیدگی	۱	۰/۳۳۰	۰/۳۸۶**	۰/۴۴۲**	۰/۴۹۸**	۰/۵۵۴**	۰/۶۱۰**	۰/۶۶۶**	۰/۷۲۲**	۰/۷۷۸**	۰/۸۳۴**	۰/۸۹۰**	۰/۹۴۶**	۱۰۰۰۲**	۱۰۰۵۸**	۱۰۱۱۴**	۱۰۱۷۰**	۱۰۲۲۶**	۱۰۲۸۲**	۱۰۳۳۸**	۱۰۳۹۴**	۱۰۴۵۰**	۱۰۵۰۶**
۴. تعداد روز تا غشودگی	۱	۰/۲۳۸**	۰/۲۹۴**	۰/۳۵۰**	۰/۴۰۶**	۰/۴۶۲**	۰/۵۱۸**	۰/۵۷۴**	۰/۶۳۰**	۰/۶۸۶**	۰/۷۴۲**	۰/۷۹۸**	۰/۸۵۴**	۰/۹۱۰**	۰/۹۶۶**	۱۰۰۲۲**	۱۰۰۷۸**	۱۰۱۳۴**	۱۰۱۹۰**	۱۰۲۴۶**	۱۰۳۰۲**	۱۰۳۵۸**	۱۰۴۱۴**
۵. روزی که در مکنار	۱	۰/۱۲۶	۰/۱۸۲**	۰/۲۳۸**	۰/۲۹۴**	۰/۳۵۰**	۰/۴۰۶**	۰/۴۶۲**	۰/۵۱۸**	۰/۵۷۴**	۰/۶۳۰**	۰/۶۸۶**	۰/۷۴۲**	۰/۷۹۸**	۰/۸۵۴**	۰/۹۱۰**	۰/۹۶۶**	۱۰۰۲۲**	۱۰۰۷۸**	۱۰۱۳۴**	۱۰۱۹۰**	۱۰۲۴۶**	۱۰۳۰۲**
۶. عملکرد در مکنار	۱	۰/۰۳۳	۰/۰۴۴**	۰/۰۵۵**	۰/۰۶۶**	۰/۰۷۷**	۰/۰۸۸**	۰/۰۹۹**	۰/۱۱۰**	۰/۱۲۱**	۰/۱۳۲**	۰/۱۴۳**	۰/۱۵۴**	۰/۱۶۵**	۰/۱۷۶**	۰/۱۸۷**	۰/۱۹۸**	۰/۲۰۹**	۰/۲۲۰**	۰/۲۳۱**	۰/۲۴۲**	۰/۲۵۳**	۰/۲۶۴**
۷. روزی که برداشت	۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	
۸. تعداد ماده برداشت	۱	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	
۹. پایداری	۱	۰/۱۶۹	۰/۲۲۹**	۰/۲۸۹**	۰/۳۴۹**	۰/۴۰۹**	۰/۴۶۹**	۰/۵۲۹**	۰/۵۸۹**	۰/۶۴۹**	۰/۷۰۹**	۰/۷۶۹**	۰/۸۲۹**	۰/۸۸۹**	۰/۹۴۹**	۱۰۰۰۹**	۱۰۰۶۹**	۱۰۱۲۹**	۱۰۱۸۹**	۱۰۲۴۹**	۱۰۳۰۹**	۱۰۳۶۹**	۱۰۴۲۹**
۱۰. مساحت برگ پرچم	۱	۰/۱۵۹	۰/۲۱۹**	۰/۲۷۹**	۰/۳۳۹**	۰/۳۹۹**	۰/۴۵۹**	۰/۵۱۹**	۰/۵۷۹**	۰/۶۳۹**	۰/۶۹۹**	۰/۷۵۹**	۰/۸۱۹**	۰/۸۷۹**	۰/۹۳۹**	۱۰۰۰۹**	۱۰۰۶۹**	۱۰۱۲۹**	۱۰۱۸۹**	۱۰۲۴۹**	۱۰۳۰۹**	۱۰۳۶۹**	۱۰۴۲۹**
۱۱. روزی که برگ	۱	۰/۱۳۱	۰/۱۸۱**	۰/۲۳۱**	۰/۲۸۱**	۰/۳۳۱**	۰/۳۸۱**	۰/۴۳۱**	۰/۴۸۱**	۰/۵۳۱**	۰/۵۸۱**	۰/۶۳۱**	۰/۶۸۱**	۰/۷۳۱**	۰/۷۸۱**	۰/۸۳۱**	۰/۸۸۱**	۰/۹۳۱**	۰/۹۸۱**	۱۰۰۳۱**	۱۰۰۹۱**	۱۰۱۵۱**	۱۰۲۱۱**
۱۲. روزی که برگ	۱	۰/۲۰۰	۰/۲۵۰**	۰/۳۰۰**	۰/۳۵۰**	۰/۴۰۰**	۰/۴۵۰**	۰/۵۰۰**	۰/۵۵۰**	۰/۶۰۰**	۰/۶۵۰**	۰/۷۰۰**	۰/۷۵۰**	۰/۸۰۰**	۰/۸۵۰**	۰/۹۰۰**	۰/۹۵۰**	۱۰۰۰۰**	۱۰۰۶۰**	۱۰۱۲۰**	۱۰۱۸۰**	۱۰۲۴۰**	۱۰۳۰۰**
۱۳. تعداد غوطه	۱	۰/۱۰۳	۰/۱۱۰**	۰/۱۱۷**	۰/۱۲۴**	۰/۱۳۱**	۰/۱۳۸**	۰/۱۴۵**	۰/۱۵۲**	۰/۱۵۹**	۰/۱۶۶**	۰/۱۷۳**	۰/۱۸۰**	۰/۱۸۷**	۰/۱۹۴**	۰/۲۰۱**	۰/۲۰۸**	۰/۲۱۵**	۰/۲۲۲**	۰/۲۲۹**	۰/۲۳۶**	۰/۲۴۳**	
۱۴. تعداد کل ماده یک غوطه	۱	۰/۰۸۸	۰/۰۹۵**	۰/۱۰۲**	۰/۱۰۹**	۰/۱۱۶**	۰/۱۲۳**	۰/۱۳۰**	۰/۱۳۷**	۰/۱۴۴**	۰/۱۵۱**	۰/۱۵۸**	۰/۱۶۵**	۰/۱۷۲**	۰/۱۷۹**	۰/۱۸۶**	۰/۱۹۳**	۰/۲۰۰**	۰/۲۰۷**	۰/۲۱۴**	۰/۲۲۱**	۰/۲۲۸**	
۱۵. تعداد کل ماده یک غوطه	۱	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	۰/۰۶۴	
۱۶. غوطه برگ پرچم	۱	۰/۰۹۹	۰/۱۰۶**	۰/۱۱۳**	۰/۱۲۰**	۰/۱۲۷**	۰/۱۳۴**	۰/۱۴۱**	۰/۱۴۸**	۰/۱۵۵**	۰/۱۶۲**	۰/۱۶۹**	۰/۱۷۶**	۰/۱۸۳**	۰/۱۹۰**	۰/۱۹۷**	۰/۲۰۴**	۰/۲۱۱**	۰/۲۱۸**	۰/۲۲۵**	۰/۲۳۲**	۰/۲۳۹**	
۱۷. غوطه برگ پرچم	۱	۰/۰۹۹	۰/۱۰۶**	۰/۱۱۳**	۰/۱۲۰**	۰/۱۲۷**	۰/۱۳۴**	۰/۱۴۱**	۰/۱۴۸**	۰/۱۵۵**	۰/۱۶۲**	۰/۱۶۹**	۰/۱۷۶**	۰/۱۸۳**	۰/۱۹۰**	۰/۱۹۷**	۰/۲۰۴**	۰/۲۱۱**	۰/۲۱۸**	۰/۲۲۵**	۰/۲۳۲**	۰/۲۳۹**	
۱۸. غوطه برگ پرچم	۱	۰/۰۹۹	۰/۱۰۶**	۰/۱۱۳**	۰/۱۲۰**	۰/۱۲۷**	۰/۱۳۴**	۰/۱۴۱**	۰/۱۴۸**	۰/۱۵۵**	۰/۱۶۲**	۰/۱۶۹**	۰/۱۷۶**	۰/۱۸۳**	۰/۱۹۰**	۰/۱۹۷**	۰/۲۰۴**	۰/۲۱۱**	۰/۲۱۸**	۰/۲۲۵**	۰/۲۳۲**	۰/۲۳۹**	
۱۹. غوطه برگ پرچم	۱	۰/۰۹۹	۰/۱۰۶**	۰/۱۱۳**	۰/۱۲۰**	۰/۱۲۷**	۰/۱۳۴**	۰/۱۴۱**	۰/۱۴۸**	۰/۱۵۵**	۰/۱۶۲**	۰/۱۶۹**	۰/۱۷۶**	۰/۱۸۳**	۰/۱۹۰**	۰/۱۹۷**	۰/۲۰۴**	۰/۲۱۱**	۰/۲۱۸**	۰/۲۲۵**	۰/۲۳۲**	۰/۲۳۹**	
۲۰. تعداد غوطه	۱	۰/۱۱۹	۰/۱۲۶**	۰/۱۳۳**	۰/۱۴۰**	۰/۱۴۷**	۰/۱۵۴**	۰/۱۶۱**	۰/۱۶۸**	۰/۱۷۵**	۰/۱۸۲**	۰/۱۸۹**	۰/۱۹۶**	۰/۲۰۳**	۰/۲۱۰**	۰/۲۱۷**	۰/۲۲۴**	۰/۲۳۱**	۰/۲۳۸**	۰/۲۴۵**	۰/۲۵۲**	۰/۲۵۹**	
۲۱. غوطه	۱	۰/۱۱۹	۰/۱۲۶**	۰/۱۳۳**	۰/۱۴۰**	۰/۱۴۷**	۰/۱۵۴**	۰/۱۶۱**	۰/۱۶۸**	۰/۱۷۵**	۰/۱۸۲**	۰/۱۸۹**	۰/۱۹۶**	۰/۲۰۳**	۰/۲۱۰**	۰/۲۱۷**	۰/۲۲۴**	۰/۲۳۱**	۰/۲۳۸**	۰/۲۴۵**	۰/۲۵۲**	۰/۲۵۹**	
۲۲. غوطه	۱	۰/۱۱۹	۰/۱۲۶**	۰/۱۳۳**	۰/۱۴۰**	۰/۱۴۷**	۰/۱۵۴**	۰/۱۶۱**	۰/۱۶۸**	۰/۱۷۵**	۰/۱۸۲**	۰/۱۸۹**	۰/۱۹۶**	۰/۲۰۳**	۰/۲۱۰**	۰/۲۱۷**	۰/۲۲۴**	۰/۲۳۱**	۰/۲۳۸**	۰/۲۴۵**	۰/۲۵۲**	۰/۲۵۹**	



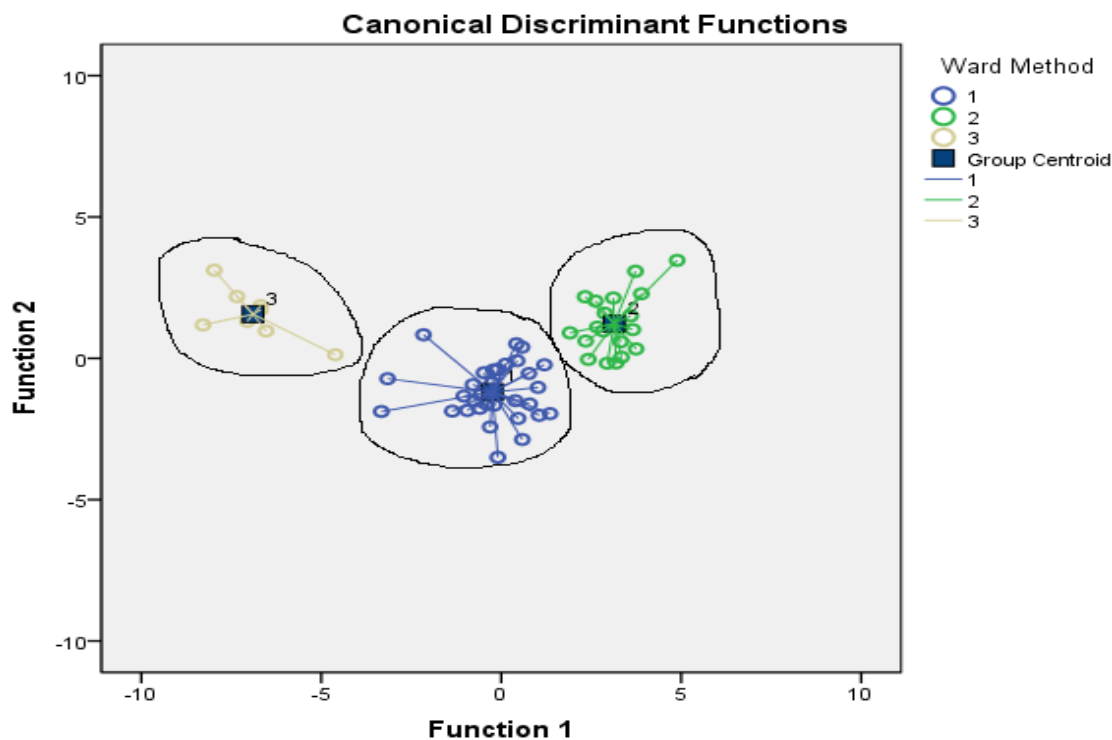
شکل ۲- تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط غرباب



شکل ۳- تفکیک گروه‌های ایجاد شده در تجزیه کلاستر با استفاده از تابع تشخیص خطی فیشر در شرایط غرباب



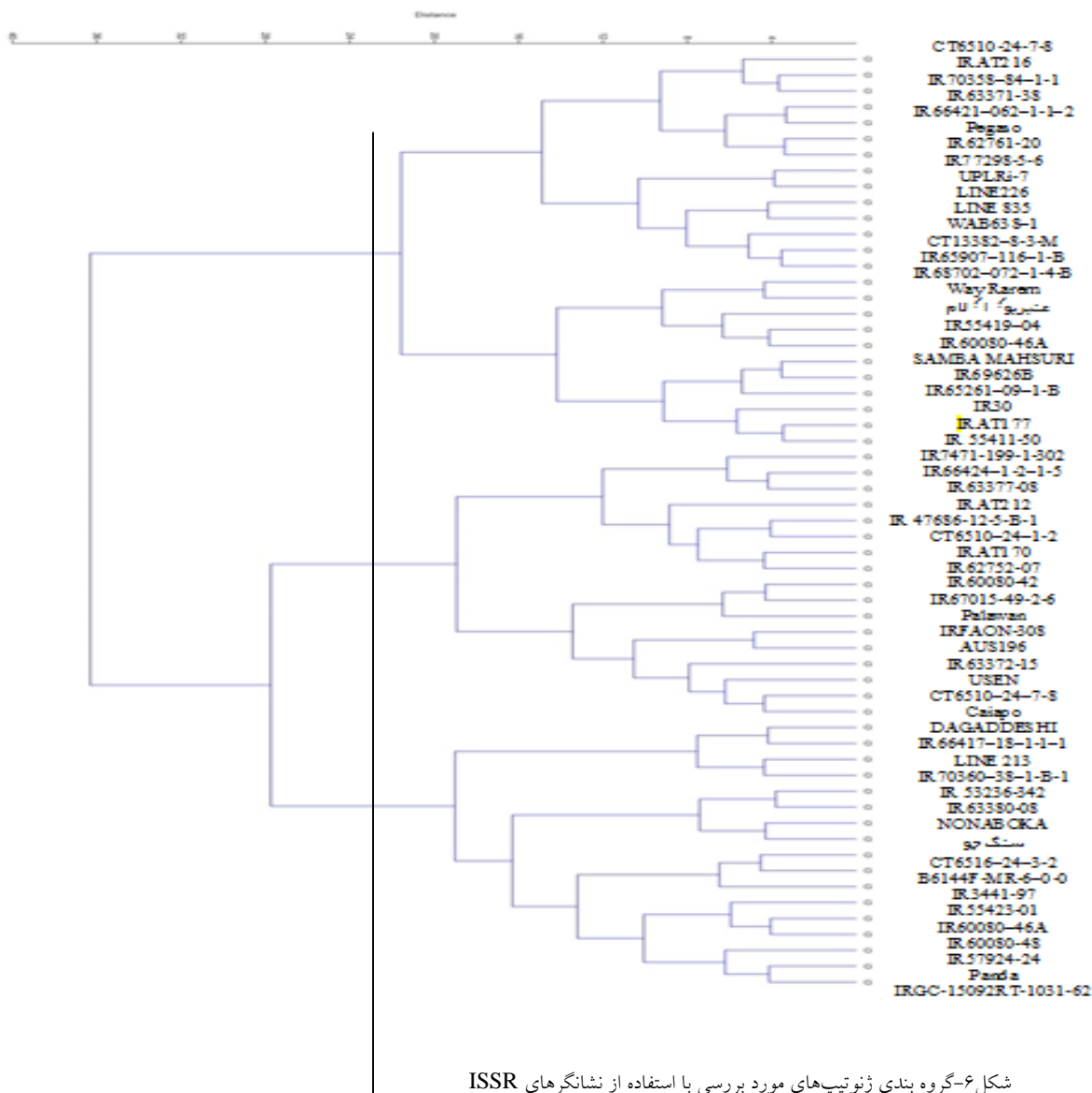
شکل ۴- تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط تنش خشکی



شکل ۵- تفکیک گروه‌های ایجاد شده در تجزیه کلاستر با استفاده از تابع تشخیص خطی فیشر در شرایط تنش خشکی

جدول ۴- تعداد کل باندها، درصد چندشکلی (POL)، محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)، شاخص نشانگری (MI) برای هر آغازگر ISSR

(MI)	(PIC)	(POL)	کل باندها	باندهای چندشکل	باندهای یک شکل	نشانگرها
۳۰/۵۴	۰/۴۸	۶۳/۶۳	۱۱	۷	۴	ISSR-1
۳۶/۹۲	۰/۴۷	۷۸/۵۷	۱۴	۱۱	۳	ISSR-2
۳۲/۸۴	۰/۴۸	۶۸/۴۲	۱۹	۱۳	۶	ISSR-3
۲۸/۲۳	۰/۴۸	۵۸/۸۲	۱۷	۱۰	۷	ISSR-4
۳۶	۰/۴۸	۷۵	۸	۶	۲	ISSR-5
۳۶/۷۰	۰/۴۸	۷۶/۴۷	۱۷	۱۳	۴	ISSR-6
۳۴/۵۸	۰/۴۹	۷۰/۵۸	۱۷	۱۲	۵	ISSR-7
۳۰/۴۰	۰/۴۷	۶۴/۷۰	۱۷	۱۱	۶	ISSR-8
۲۶/۱۰	۰/۴۷	۵۵/۵۵	۹	۵	۴	ISSR-9
۳۸/۴	۰/۴۷	۸۰	۱۵	۱۲	۳	ISSR-10
۳۳/۰۷	۰/۴۷	۶۹/۱۷	۱۴/۴	۱۰	۴/۴	میانگین



شناسایی شد.

جدول ۵- تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات در شرایط نرمال و در صد تغییراتی که توسط این نشانگرها توجیه می‌شود.

R^2T	R^2max	نشانگرهای آگاهی بخش	تعداد نشانگر	صفات نرمال
۰/۲۳۱	۰/۱۰۳	ISSR2-7, ISSR2-3, ISSR2-1	۳	طول خوشه
۰/۰۶۹	۰/۰۶۹	ISSR5-5	۱	تعداد خوشه چه
۰/۳۸۲	۰/۱۷۲	ISSR10-5, ISSR1-4, ISSR2-1, ISSR2-7	۴	تعداد دانه پوک
۰/۴۸۴	۰/۱۱۵	ISSR7-6, ISSR2-9, ISSR8-4, ISSR2-5, ISSR1-7	۵	طول خروج خوشه از غلاف
۰/۰۹۰	۰/۰۹۰	ISSR7-3	۱	طول برگ پرچم
۰/۶۷۴	۰/۱۷۴	ISSR2-6, ISSR1-7, ISSR7-9, ISSR5-6, ISSR3-9, ISSR3-13, ISSR3-5, ISSR3-3, ISSR2-7	۹	عرض برگ پرچم
۰/۰۵۱	۰/۰۵۱	ISSR2-1	۱	تعداد دانه کل خوشه
۰/۱۳۱	۰/۱۳۱	ISSR4-7	۱	ارتفاع بوته
۰/۳۳۵	۰/۱۳۳	ISSR7-2, ISSR2-2, ISSR7-10, ISSR10-10	۳	تعداد خوشه
۰/۳۰۱	۰/۱۰۹	ISSR8-6, ISSR8-10, ISSR4-7, ISSR8-11	۴	وزن کاه
۰/۳۵۳	۰/۱۲۸	ISSR10-5, ISSR7-12, ISSR3-1, ISSR7-2	۴	وزن خوشه
۰/۰۶۷	۰/۰۶۷	ISSR3-1	۱	وزن کل بوته
۰/۳۰۶	۰/۱۵۲	ISSR2-6, ISSR1-7, ISSR7-9	۳	مساحت برگ پرچم
۰/۰۹۷	۰/۰۹۷	ISSR10-5	۱	باروری
۰/۱۳۷	۰/۰۷۴	ISSR2-7, ISSR9-5	۲	تعداد دانه پر خوشه
۰/۳۳۱	۰/۱۴۸	ISSR7-2, ISSR2-6, ISSR6-9, ISSR10-8	۴	وزن دانه پر خوشه
۰/۳۳۱	۰/۱۴۸	ISSR7-2, ISSR2-6, ISSR6-9, ISSR10-8	۴	عملکرد در هکتار
۰/۲۹۲	۰/۱۳۳	ISSR1-6, ISSR1-7, ISSR7-6	۳	تعداد روز تا خوشه دهی
۰/۲۲۴	۰/۱۰۶	ISSR4-10, ISSR1-6, ISSR2-10	۳	تعداد روز تا رسیدگی
۰/۶۹۵	۰/۲۰۵	ISSR6-7, ISSR10-11, ISSR7-4, ISSR1-7, ISSR2-5, ISSR8-9, ISSR4-8, ISSR1-5, ISSR1-2, ISSR5-1	۱۰	مدت زمان رسیدگی
۰/۲۹۸	۰/۱۶۱	ISSR8-10, ISSR6-8, ISSR1-6	۳	شاخص برداشت

جدول ۶- تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات در شرایط نرمال و در صد تغییراتی که توسط این نشانگرها توجیه می‌شود.

R^2T	R^2max	نشانگرهای آگاهی بخش	تعداد نشانگر	صفات تنش
۰/۱۶۱	۰/۰۹۰	ISSR2-7, ISSR2-1	۲	طول خوشه
۰/۱۷۹	۰/۰۶۲	ISSR4-7, ISSR5-5, ISSR2-7	۳	تعداد خوشه چه
۰/۳۳۷	۰/۱۳۶	ISSR10-5, ISSR2-8, ISSR4-10	۳	تعداد دانه پوک
۰/۴۹۳	۰/۱۳۷	ISSR7-6, ISSR2-9, ISSR8-4, ISSR2-5, ISSR1-7, ISSR4-3	۶	طول خروج خوشه از غلاف
۰/۰۹۳	۰/۰۹۳	ISSR7-3	۱	طول برگ پرچم
۰/۴۷۵	۰/۱۲۰	ISSR1-7, ISSR7-9, ISSR2-6, ISSR3-9, ISSR2-4, ISSR5-6,	۶	عرض برگ پرچم
۰/۴۱۹	۰/۰۹۲	ISSR10-8, ISSR1-6, ISSR7-2, ISSR7-11, ISSR8-8, ISSR2-6	۶	تعداد دانه کل خوشه
۰/۱۹۰	۰/۱۳۱	ISSR4-7, ISSR7-9	۲	ارتفاع بوته
۰/۲۷۰	۰/۱۱۷	ISSR5-3, ISSR4-3, ISSR4-6	۳	تعداد خوشه
۰/۱۴۹	۰/۰۹۱	ISSR10-3, ISSR1-6	۲	وزن کاه
۰/۱۴۹	۰/۱۴۱	ISSR10-8, ISSR6-11	۲	وزن خوشه
۰/۲۳۵	۰/۰۸۴	ISSR4-8, ISSR8-1, ISSR10-8	۳	وزن کل بوته
۰/۳۵۱	۰/۱۲۸	ISSR7-9, ISSR1-7, ISSR2-6	۳	مساحت برگ پرچم
۰/۱۶۰	۰/۰۹۵	ISSR2-8, ISSR8-10	۲	باروری
۰/۴۶۰	۰/۱۰۳	ISSR10-8, ISSR1-6, ISSR7-2, ISSR7-11, ISSR8-8, ISSR2-6	۶	تعداد دانه پر خوشه
۰/۴۶۰	۰/۱۰۰	ISSR2-8, ISSR9-1, ISSR1-6	۳	وزن دانه پر خوشه
۰/۲۴۹	۰/۱۷۴	ISSR2-8, ISSR9-1, ISSR1-6, ISSR10-8, ISSR10-10, ISSR3-1	۶	عملکرد در هکتار
۰/۳۰۹	۰/۱۴۹	ISSR1-6, ISSR1-7, ISSR7-6	۳	تعداد روز تا خوشه دهی
۰/۱۶۷	۰/۱۰۷	ISSR4-10, ISSR1-6	۲	تعداد روز تا رسیدگی
۰/۳۷۸	۰/۱۳۶	ISSR3-12, ISSR6-5, ISSR2-5, ISSR1-7, ISSR2-10	۵	مدت زمان رسیدگی
۰/۲۴۴	۰/۰۸۹	ISSR6-10, ISSR10-11, ISSR8-10	۳	شاخص برداشت

T: تعداد نشانگرهای آگاهی بخش با صفات کمی، R^2_{max} بیشترین ضریب تبیین مربوط به یک نشانگر برای صفت کمی (درصد) R^2_T مجموع کل ضریب تبیین نشانگرها آگاهی بخش برای صفات کمی (درصد)

NA12-AO2 دارای بیشترین r^2 با مقدار ۰/۵۹ بود که صفت روز تا رسیدگی را توجیه کرد.

بیشترین توجیه تغییرات در شرایط نرمال مربوط به صفت تعداد روز تا رسیدگی (۰/۲۰) توسط مکان‌های ژنی ISSR6-7, ISSR10-11, ISSR7-4, ISSR1-7 ISSR2-5, ISSR8-9, ISSR4-8, ISSR1-5, ISSR1-2, ISSR5-1 در شرایط تنش خشکی بیشترین تغییرات مربوط به صفت عملکرد در هکتار (۰/۱۷) توسط مکان‌های ژنی ISSR2-8, ISSR9-ISSR1-6, ISSR10-8, ISSR10-10, ISSR3-1 تبیین شد. روی و همکاران (۲۴) تجزیه ارتباطی بین ۱۱ صفت زراعی و ۵۱۹ نشانگر ریزماهواره را در گندم بررسی کردند. بیشترین میزان R^2 برای صفت شاخص برداشت با ۲۸ درصد و طول bp ۲۹۱ در آغازگر Xwmc44 بدست آمد. آنان چنین نتیجه گرفتند که در کل نشانگرهای انتخاب شده توزیع یکنواختی در اطراف صفات زراعی مورد بررسی داشتند.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط هستند. هرچند برای اطمینان از وجود پیوستگی میان نشانگرها و صفات زراعی نیاز به تهیه جمعیت‌های در حال تفرق مانند F^2 است تا براساس این جمعیت‌ها نقشه‌های پیوستگی تهیه و سپس محل مکان‌های کنترل کننده این صفات مشخص شوند.

همچنین بیشترین و کمترین ضریب تبیین کل به ترتیب مربوط به صفت عرض دانه و طول خروج خوشه از غلاف بود. همچنین بیشترین و کمترین R^2_{max} به ترتیب مربوط به صفات ارتفاع و طول خروج خوشه از غلاف بود. با توجه به نتایج حاصل از تجزیه ارتباط در شرایط نرمال مشخص شد که مکان ژنی ISSR10-5 بیشترین درصد از تغییرات تعداد دانه پوک (۱۷/۲)، وزن خوشه (۱۲/۸) و باروری (۹/۷) را توجیه می‌نماید. مکان ژنی ISSR7-2 بیشترین درصد از تغییرات تعداد خوشه (۱۳/۳)، وزن دانه پر در خوشه (۱۴/۸) و عملکرد در هکتار (۱۹/۵) را توجیه می‌نماید. در شرایط تنش خشکی مکان ژنی ISSR2-7 بیشترین درصد از تغییرات طول خوشه (۹ درصد) و تعداد خوشه (۶/۲) را توجیه می‌نمایند. مکان ژنی ISSR1-6 بیشترین درصد از تغییرات تعداد دانه کل خوشه (۹/۲) تعداد روز تا رسیدگی (۱۴/۹) را توجیه نمودند. مکان ژنی ISSR10-8 بیشترین درصد از تغییرات وزن خوشه (۱۴/۱) و تعداد دانه پر در خوشه (۱۰/۳) را توجیه نمودند. مکان ژنی ISSR2-8 بیشترین درصد از تغییرات وزن دانه پر (۱۰) و عملکرد در هکتار (۱۷/۴) را توجیه نمودند.

شرفی و همکاران (۵) در تجزیه ارتباطی صفات مورفولوژیک با نشانگرهای ریز ماوهواره در گونه‌های جنس براسیکا به این نتیجه رسیدند که مکان ژنی BRMS-008 بیشترین درصد از تغییرات صفات روز تا گلدهی (۰/۵۱) تعداد شاخه فرعی (۰/۵۶) را توجیه می‌نمایند. مکان ژنی

منابع

۳. چمنی محمص، ف.، سمیع زاده، ح.، سوهانی، م.، ربیعی، ب. ۱۳۹۱. بررسی تنوع ژنتیکی در برنج *Oryza sativa* L با استفاده از نشانگرهای مولکولی. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران. ۸۲-۸۴.
۴. سخدری، ا. س.، ملک زاده، ع.، اصغری، م. کیانی، ف. ۱۳۹۱. تجزیه ارتباط بین برخی صفات زراعی با نشانگرهای ISSR

۱. ابراهیمی، آ.، نقوی، م. ر.، سبک دست، م.، مرادی، آ. ۱۳۹۰. تجزیه ارتباطی صفات زراعی با نشانگرهای ریز ماوهواره در جوهای بومی ایران. ژنتیک نوین ۶ (۱): ۳۵-۴۳.
۲. اکبری، ل.، چقامیرزا، ک.، فرشادفر، ع. ۱۳۹۵. بررسی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های گندم دوروم در شرایط درون شیشه‌ای. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۲۹: ۲۸۵-۲۷۳.

- مولکولی AFLP در گیاه دارویی ماریتیغال (*Silybum marianum* L.) فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۴(۳): ۲۹۲-۲۷۸.
۷. عبیری ر.، زبرجدی، ع.، قبادی، م.، کفاشی، ا. ک. ۱۳۹۵. بررسی تحمل تنش خشکی ژنوتیپ‌های جو در مرحله جوانه زنی با استفاده از پلی اتیلن گلاکول. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۲۹: ۳۹۵-۴۰۶.
8. Achleitner, A., Tinker, N., Zechner, E. and Buerstmayr, H. 2008. Genetic diversity among oat varieties of worldwide origin and associations of AFLP markers with quantitative traits. *Theoretical and Applied Genetics* 117(7): 1041-1053.
9. Blair, M. W., Panaud, O. and Mc Couch, S. R. 1999. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of micro-satellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 98: 780-792.
10. Bustos, A. D., Casaniva, C., Solar, C., Jouve, N. 1998. RAPD Variation in wild population of four species of the genus *hordereum*. *Theoretical and Applied Genetics* 96:553-557.
11. Don, R. H., Cox, P.T., Wainwright, B.J. and Mattick, J.S. 1991. Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acid Research* 19:4008-4009.
12. Frederic, N., Yingshan., D. and Bao, L. 2007. Somaclonal variation at the nucleotide sequence level in rice (*Oryza sativa* L.) as revealed by RAPD and ISSR markers, and by pairwise sequence analysis. *Journal of Applied Genetics* 48 (4): 329-336.
13. FAO. 2012. Projecation of rice production consumption and trade to the year. (<http://www.FAO.org>).
14. Girma, G., Tesfaye, K. and Bekele, E. 2013. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) analysis of wild and cultivated rice species from Ethiopia. *African Journal of Biotechnology* 9(32): 5048-5059.
15. Greenway, H. and R. Munns. 1990. Mechanisms of salt tolerans in nonhalopytes. *Annual Review of Plant Physiology* 31:141-190.
16. Hamza, S., Ben Hmida, W., Rebai, A. & Harrabi, M. (2004). SSR based genetic diversity assesment among Tunisian Winter Barley and در سیب زمینی. هشتمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی و چهارمین همایش ملی ایمنی زیستی. صفحه ۵۳.
۵. شرفی، ی.، مجیدی، م. ۱۳۹۳. تجزیه ارتباطی صفات مورفولوژیک با نشانگرهای ریز ماهواره در گونه‌های جنس براسیکا. ژنتیک نوین ۲(۹) ۱۷۹-۱۸۸.
۶. شکرپور، م.، محمدی، ا.، ضیایی، ع.، جوانشیر، ع. ۱۳۸۷. تجزیه ارتباط نشانگرهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و نشانگرهای relation sheep with morphological traits. *Euphytica* 135: 107-11.
17. Hua Zou, G., H. Yan Liu, H. WeiMei, G. Lan Liu, X. Qiao Yu, M. Sou Li, J. Hong Wu, L. Chen and L. Jun Luo. (2007). Screening for drought resistance of rice recombinant inbred populations in the field. *Plant Biology* 49: 1508-1516
18. Lafitte, H. R., A. Blum and G. Atlin. (2003). Using secondary traits to help identify drought tolerant genotypes. In: Fischer, K. S., Lafitte, R., Fukai, S., Altin, G. and Hardy, B. (Eds.), *Breeding Rice for Drought Prone Environment*. IRRI Publications. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
19. Lafitte, H. R., Z. K. Li, C. H. M. Vijayakumar, Y. M. Gao, Y. Shi, J. L. Xu, B. Y. Fu, S. B. Yu, A. J. Ali, J. Domingo, R. Maghirang, R. Torres and D. Mackill. (2006). Improvement of rice drought tolerance through backcross breeding: Evaluation of donors and selection in drought nurseries. *Field Crops Research* 97: 77-86.
20. Mcharo, M., Labonte, D. R., Oard, J. H., Kays, S. J. and Mclaurin, W. J., (2004), Linking quantitative traits with AFLP markers in sweet potatoes using discriminate analysis. *Acta Horticulture* 637: 285-293.
21. Martinez, L., Caragnaro, P., Masuekki, R. and Rodriguez, J. 2003. Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. *Journal of Biotechnology* 6: 241-250.
22. Mottan, J. C. and Samy, N. 1973. Correlation of yield components and other metric traits with yield in tall and dwarf indica rice. *Madras Agricultural Journal* 60 (9): 1162-1168.
23. Richards, R.A. (1996). Definding selection criteria to improve yield under drought. *Plant Growth Regulation* 20: 157-166.
24. Roldin-Ruiz, I., Calsyn, E. Gilliland T. J., Coll, R., Van Eijk, M. J. T. and De Loos M. 2000. Estimating genetic conformity between related

- reygrass (*Lolium*) varieties, 2 AFLP characterization. *Molecular Breeding* 6: 593-602
25. Roy, J. K., Bandopadhyay, R., Rustagil, S., Bailyan, H. S. and Gupta, P. K. (2006). Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Current Science* 90: 5-10
 26. Sarawgi, A. K., Rastogi, N. K. and Soni, D. S. 1997. Correlation and path analysis in rice associations from madhya Pradesh. *Field Crops Research* 52: 161-167.
 27. SES. 2002. Standard evaluation system for rice. International Rice Research Institute Manila, Philippines.
 26. Sofalian, O. Maryam, B. 2013. Assessment of winter survival in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes using molecular markers and some physiological traits. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpasa University* 30 (2): 45-54.
 27. 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.
 28. Virik, P. S. Ford-lioyd, B.V., Jackson, M. T., Pooni, H. S., Clemeno, T. P. and Newbary, H. J. 1996. Marker- assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. In: *ISSR, Rice genetics III, proceedings of the Thrid International Rice Genetics Symposium, manila, Philippines*. 16(20):307-316.
 29. Venuprasad. R., Lafitte, H. R. and Atlin, G.N. 2007. Response to direct selection for grain yield under drought stress in rice. *Crop Science* 47: 285-293.
 30. Yashito, T. M., Sandarm, R., Biradar, S., Thirumuragau, K. 2004. Sequence specific PCR Marker for distinguishing rice line at the basis of wild abortive cytoplasm for Their congatc maintir lines. *Crop Science* 44(3): 920-924
 31. Zheng, B., Yang, L. 2006. Mapping QTLs for morphological traits under two water supply conditions at the young seedling stage in rice. *Plant Science* 175: 767-776.

The relationship of ISSR markers to agronomic traits in rice under flooding and drought conditions

Karim M.R.¹, Sabouri H.² and Ebrahimi M.A.¹

¹ Dept. of Biotechnology, Payame Noor University, Tehran, I.R. of Iran

² Dept. of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, I.R. of Iran

Abstract

The relationship between agronomic traits and molecular markers in rice using 21 and 144 characters band consists of 10 pairs of markers in 59 genotypes of rice were studied. Irrigation was performed as flooding in both environments, normal and drought from transplanting to a maximum of tillering. Then, to create tension, 40 days after transplanting (the maximum tillering) by the end of the season to 25 days. The highest polymorphic information content (PIC) detected for ISSR-7 with 0.49 and lowest PIC were recorded for ISSR-2, ISSR-8, ISSR-9 and ISSR-10 markers with 0.47. The Based on regression analysis of molecular data and morphological traits, 70 and 72 alleles were distinguished for normal condition and drought conditions for morphological traits, respectively. The highest positive Markers (6 alleles) belong to flag leaf width in normal conditions and flag leaf width, number of filled grains, number of grains per panicle and yield have the highest positive markers (9 alleles) in drought conditions. ISSR6-7, ISSR10-11, ISSR7-4, ISSR1-7 ISSR2-5, ISSR8-9, ISSR4-8, ISSR1 -5, ISSR1-2, ISSR5-1 explained phenotypic variations of days to flowering in normal conditions (20%). ISSR2-8, ISSR9-ISSR1-6, ISSR10-8, ISSR10-10, ISSR3-1 explained phenotypic variations of grain yield in drought conditions (17%). Some of the markers related to several traits. The result of this study will provide useful information for indirect selection of traits associated.

Key words: Rice, Association analysis, drought stress, Informative markers