علوم و تحقیقات بذر ایران
سال هفتم/ شماره سوم/ ۱۳۹۹ (۳۲۵ - ۳۱۱)

DOI: 10.22124/jms.2019.4592

شناسایی آلل‌های ریزماهواره حاوی اطلاعات برای ژن‌های کنترل‌کننده مولفه‌های جوانه‌زنی در برنج تحت شرایط نرمال و تنش خشکی

بهاره قاسمی مرزبالی[۱]، حسین صبوری[۲*]، حسین حسینی مقدم [۳]، عباس بیابانی[۲]، محمد جواد شیخ‌زاده [۴]

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۱۱

چکیده

برنج بعد از گندم مهم‌ترین محصول کشاورزی جهان است و نقش مهمی در تغذیه بیش از نیمی از جمعیت جهان دارد. مرحله جوانه‌زنی، از مهم‌ترین مراحل رشدی برنج به‌حساب می‌آید و تنش خشکی، تأثیر به‌سزایی بر خصوصیات جوانه‌زنی برنج دارد. شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش‌ها و ساختار ژنتیکی کنترل صفات آن‌ها از مهم‌ترین عوامل برای ایجاد تحمل در گیاهان است. به‌همین منظور؛ آزمایشی با استفاده از ۱۰۲ ژنوتیپ برنج در دو تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه دانشگاه گنبد کاووس در سال ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. صفات درصد جوانه زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول کولئوپتیل، تعداد ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و وزن تر ریشه‌چه اندازه‌گیری شدند. اختلاف بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مرتبط با جوانه‌زنی در شرایط نرمال و تنش خشکی معنی‌دار بود. نتایج حاصل از تجزیه ارتباط در مرحله جوانه‌زنی در شرایط نرمال نشان داد که RM12091A و RM1029B با صفات درصد جوانه‌زنی، طول کولئوپتیل، تعداد ریشه‌چه و وزن ریشه‌چه و در شرایط تنش خشکی RM129D با صفات تعداد ریشه‌چه و وزن ساقه‌چه و آلل RM530B با صفات طول کولئوپتیل و تعداد ریشه‌چه ارتباط داشتند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که می‌توان از تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های برنج و تجزیه ارتباط در جهت افزایش تحمل به خشکی در ارقام برنج استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: برنج، تنش خشکی، تجزیه ارتباط، جوانه‌زنی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
۲- دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
۳- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
۴- مربی بخش دانشکده علوم پایه و فنی‌مهندسی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران
*نویسنده مسئول: hos.sabouri@gmail.com

مقدمه

برنج از خانواده گرامینه و یکی از مهم‌ترین محصولات جهان است که در سراسر دنیا در نواحی گرمسیر و سردسیر رشد می‌کند. بیش از نیمی از مردم جهان یک وعده اصلی غذا به برنج وابسته‌اند (Jamal *et al*., 2009). مرحله جوانه‌زنی، از مهم‌ترین مراحل رشدی گیاه برنج به‌حساب می‌آید و تنش خشکی، تأثیر به‌سزایی بر خصوصیات جوانه‌زنی گیاه برنج دارد (Bal and Chattopadhyay, 1984). برنج به‌عنوان یک گیاه غرقابی، از حساس‌ترین گیاهان در برابر کمبود آب است و بیش‌ترین نیاز آبی را در بین غلات دارد (Tao *et al*., 2006; Yang *et al*., 2008). جوانه‌زنی بذر به‌خصوص در زمان مواجه با تنش‌های محیطی، یکی از بحرانی‌ترین مراحل زندگی گیاه به‌شمار می‌رود (Cavusoglu and Kabar, 2010).

خشکی مشکل جدی تولید برنج در دنیا است، این گیاه در تمام مراحل فنولوژی حساس به خشکی است و تنش‌های شدید خشکی، ممکن است به از دست‌دادن کل محصول منتهی شود (Lasaltia *et al*., 2008; Pirdashti *et al*., 2001). ژنگ و همکاران(Zheng, *et al*., 2016) نشان دادند که گیاه برنج در طی تنش خشکی علاوه بر عدم آبنوشی مناسب و کاهش درصد جوانه‌زنی، به‌دلیل توسعه سیستم ریشه‌ای نامناسب دارای بنیه ضعیف می‌شوند و رشد مناسب و طبیعی ندارند. در این شرایط بوته‌های برنج مستعد حمله آفات می‌شود و مقدار عملکرد برنج به‌شدت کاهش می‌یابد.

چویی و همکاران (Choi *et al*., 2000) اظهار نمودند که در شرایط مطلوب جوانه‌زنی، بیش‌تر دانه‌های برنج در طی۲ تا ۵ روز جوانه می‌زنند، اما در شرایط تنش بسته به شدت و طول مدت تنش جوانه‌زنی به‌تأخیر می‌افتد یا به‌طور کامل مهار می‌شود.

نقوی و همکاران (Naghavi *et al*., 2004) بیان نمودند که تشخیص تفاوت بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره با دقت بیش‌تری ارزیابی می‌شود. تنوع ژنتیکی، نقش بسیار مهمی در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از منابع ژنتیکی دارد که از طریق صفات مرفولوژیک، بررسی شجره‌ها و نشانگرهای مولکولی میسر می‌شود. از نشانگرهای متفاوتی مانند نشانگرهای مرفولوژیک، بیوشیمیایی و DNA برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان استفاده می‌شود. عبدالشاهی و همکاران (Abdolshahi *et al*., 2010) بیان نمودند که از دیدگاه به‌نژادی تحمل به خشکی یک صفت پیچیده و کمی است و روش اندازه‌گیری مستقیمی برای اندازه‌گیری آن وجود ندارد که این امر باعث مشکل‌شدن شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی می‌شود.

گریشماشاه و همکاران (Grishma Shah *et al*., 2012) به ارزیابی تنوع ژنتیکی ۲۲ ژنوتیپ از لاین‌های یک‌کراس، نگهدارنده و نرعقیم با استفاده از نشانگر ریزماهواره پرداختند. در میان ۳۰ نشانگر ریزماهواره استفاده شده، ۲۵ نشانگر چندشکل بودند و ۲۳۱ آلل چندشکل تولید کردند. آن‌ها بیان داشتند نشانگر ریزماهواره ابزاری کارآمد برای شناسایی تنوع ژنتیکی و تمایز بین افراد می‌باشد. مینگ و همکاران(Ming, *et al*., 2010) نیز گزارش نمودند که نشانگرهای ریزماهواره توانستند ژنوتیپ های مورد مطالعه آن‌ها را گروه‌بندی نمایند.

در بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین ۲۳۶ ژنوتیپ برنج آپلند و لولند جمع‌آوری شده از جنوب غربی چین با استفاده از ۲۸ نشانگر ریزماهواره و گروه‌بندی به‌روش نزدیک ترین همسایه‌ها نشان داد که تمامی ۲۳۶ژنوتیپ در دو گروه مربوط به ایندیکا و ژاپونیکا قرار گرفتند و بیش از ۷۵ درصد از توده‌های آپلند به‌عنوان ژاپونیکا شناسایی شدند .مطالعه نشان داده است که، سطوح نسبتاً بالایی از تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم برنج آپلند چینی وجود دارد، که می‌تواند به‌عنوان منابع ارزشمند ژنتیکی برای بهبود صفات مهم اقتصادی در برنج، از قبیل مقاومت به خشکی فراهم کند (Tang *et al*., 2010).

ساجیب و همکاران (Sajib *et al*., 2012) از ۲۴ نشانگر SSR برای تمایز ۱۲ ژنوتیپ برنج برگزیده‌شده، استفاده کردند. در میان این ۲۴ نشانگر، ۹ نشانگر ریزماهواره چندشکلی نشان دادند. هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی تنوع مولکولی و مورفولوژیک بین تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط نرمال و تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی، بررسی رابطه بین تنوع مرفولوژیک و مولکولی و شناسایی نشانگرهای آگاهی‌بخش هر یک از صفات مورد مطالعه بود.

محمدی نژاد و همکاران (Mohammadi-Nejad, *et al*., 2010) از نشانگرهای پیوسته به ناحیه *Saltol* به‌منظور انجام هاپلوتایپینگ ۳۰ ژنوتیپ برنج شامل ارقام

اصلاح‌شده و بومی فیلیپین در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج فیلیپین استفاده نمودند و ژنوتیپ‌ها را از لحاظ تحمل به شوری در مرحله زایشی با ارزیابی صفات عملکرد، تعداد دانه پر و پوک، درصد زنده‌مانی دانه گرده و همچنین در مرحله رویشی از نظر کد ژنوتیپی مورد بررسی فنوتیپی قرار دارند. آن‌ها پس از تعیین ژنوتیپ ارقام با استفاده از نشانگرهای پیوسته به *Saltol* دو نشانگر RM10745 و RM8094 را در ۱۶ هاپلوتایپ شناسایی نمودند که توانسته بودند تفکیک مناسب و مؤثری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ تحمل به شوری در مرحله زایشی ایجاد نمایند. در مطالعه‌ی دیگری ارتباط بین ۱۰ صفت زراعی و ۷۰ نشانگر حاصل از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره روی ۱۱۵ ژنوتیپ جو بومی ایران مشخص شد که برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت ارتباط دارند که بر این اساس صفات مورد نظر یا دارای پیوستگی بسیار نزدیکی با هم هستند و یا احتمالاً تحت تاثیر ژن‌های چند اثره قرار می‌گیرند (Ebrahimi *et al.*, 2011).

در یک پژوهش که در آن از ۲۶۹ نشانگر SSR که کل کروموزوم‌های برنج را پوشش می‌داد، استفاده شد، یک QTL بزرگ اثر مربوط به کنترل صفات جوانه‌زنی از جمله سرعت جوانه‌زنی تحت تنش خشکی در حد فاصل نشانگرهای RM231-RM7 بر روی کروموزوم سه شناسایی شد (Diwan *et al.*, 2013).

نظر به نقش و اهمیت جوانه‌زنی مناسب در مواجهه گیاه در برابر تنش‌ها، آزمایشی با هدف شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و ارزیابی صفات مرتبط با آن و سپس شناسایی ارتباط بین نشانگرهای مولکولی ریزماهواره با این صفات اجرا شد.

مواد و روش‌ها

ارزیابی فنوتیپی

به‌منظور بررسی صفات مربوط به جوانه‌زنی در شرایط نرمال و تنش خشکی ۱۰۰ بذر از بذور ۱۰۲ ژنوتیپ برنج سازگار به منطقه از بین ۴۰۰ ژنوتیپ دریافت‌شده از مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (در قالب تفاهم‌نامه مشترک دانشگاه گنبد کاووس و آن مؤسسه) در آزمایشگاه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۶ پس از ضدعفونی با محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم و شست‌شو با آب مقطر انجام شد. برای هر ژنوتیپ به تعداد ۱۰۰ عدد بذر در داخل پتری‌دیش قرار داده شد و با آب معمولی و همچنین محلول پلی‌اتیلن‌گلایکول ۸- بار آبیاری شدند. مقدار پلی‌اتیلن گلایکول مصرفی برای ایجاد پتانسیل لازم از رابطه میشل و کافمن (Michel and Kaufman, 1973) به‌دست آمد:

(رابطه ۱) $\varphi = -(1.18\times10^{-2})C - (1.18\times10^{-4})C^2 + (2.67\times10^{-4})CT + (8.39\times10^{-7})C^2T$

در این رابطه φ پتانسیل اسمزی، C غلظت پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ بر حسب گرم در لیتر و T دما برحسب سلسیوس است. شمارش بذرهای جوانه‌زده به‌صورت روزانه در ساعات معین در ۷ روز انجام گرفت. درصد جوانه‌زنی از طریق تعداد بذرهای جوانه‌زده‌شده در روز آخر در نظر گرفته شد. سرعت جوانه‌زنی بذرها با استفاده از روش ماگوئر (Maguire) محاسبه شد که برابر با مجموع نسبت $\frac{Ni}{Ti}$ است که در آن Ni تعداد بذرهای جوانه‌زده در هر روز و Ti تعداد روزهای پس از کاشت به‌دست آمد (Sohani, 1996).

رابطه (۲) $\sum G.l. = \frac{Ni}{Ti}$

پتری‌دیش‌ها در داخل ژرمیناتور حاوی دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. آبیاری پتری‌دیش‌ها هر روز یک بار و به مقداری که کاغذ صافی نمناک باشد، توسط پلی‌اتین‌گلایکول صورت گرفت. بذری جوانه‌زده محسوب شد که طول ریشه‌چه آن بیش از ۲ میلی‌متر باشد. درصد جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول کولئوپتیل، تعداد ریشه‌چه، وزن تر ساقه‌چه و وزن تر ریشه‌چه اندازه‌گیری و ثبت شد.

ارزیابی ژنوتیپی

به‌منظور استخراج DNA، بذور کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در گلدان‌های کوچک در آزمایشگاه گیاه شناسی دانشگاه گنبد کاووس کشت شدند و پس از رشد در مرحله چند برگی، نمونه های برگی هر ژنوتیپ جدا و DNA ژنومی آن‌ها به روش سقای معروف و همکاران (Saghai Maroof *et al.*, 1994) استخراج گردید و برای تعیین غلظت و کیفیت DNA استخراج‌شده از الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد و نمونه‌هایی که کیفیت DNA آن‌ها مناسب نبود، مجدداً استخراج شدند. برای انجام واکنش PCR تیوپ ها در دستگاه PCR در معرض دوره های حرارتی بهینه‌شده قرار گرفتند و دستگاه برای ۳۶ دور

واکنش به‌صورت دمای کاهشی (با کاهش یک درجه دمای اتصال آغازگرها در هر دور تا رسیدن به دمای واقعی اتصال برنامه‌ریزی شـــد (جدول۲). از نشـــانگرهای ریزماهواره 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 ۶ درصـــد انجام گرفت. جهت نمایان‌ســـازی باندها با روش مو سوم به روش سریع رنگ‌آمیزی با نیترات نقره (An *et al.*, 2009) انجام شد.

جدول۱- شماره و نام ژنوتیپ‌های مورد بررسی

Table1. The number and name of evaluated genotypes

ژنوتیپ	علامت اختصاری	شماره	ژنوتیپ	علامت اختصاری	شماره
IR13L137	IURON	52	IRRI 133	IRBN	1
CT 18614-4-1-2-3-2	IRBN	53	IR 09L324	IRBN	2
IR 64	IR 64	54	IR 11A506	IRBN	3
IR12L356	IURON	55	IRRI 153	IRBN	4
HHZ 15-SAL13-Y1	GSR-IRLL	56	BP 11820-5F-KN-10-2	IIRON Module 1	5
HHZ 26-SAL12-Y1-Y1	GSR-IRLL	57	HHZ 2-SUB2-DT1-DT1	GSR-IRLL	6
IR12L369	IURON	58	IR14L248	IRLON	7
HHZ 3-SAL6-Y1-Y1	GSR-IRLL	59	IR14L110	IRLON	8
HHZ 1-DT3-Y1-Y1	GSR-IRLL	60	IR13L400	IR13L400	9
HHZ 4-DT6-LI2-LI1	GSR-IRLL	61	IRBLKH-K3	IRBN	10
IR14L121	IRLON	62	IR 10A199	IRBN	11
IRBLT-K59	IRBN	63	HHZ 4-SAL12-LI1-LI1	GSR-IRLL	12
IR 11N121	IRBN	64	HHZ 22-Y3-DT1-Y1	GSR-IRLL	13
HHZ 6-DT1-LI1-LI1	GSR-IRLL	65	IR13L406	IURON	14
IR 11C123	IRHTN	66	HHZ 1-DT7-LI2-LI1	GSR-IRLL	15
IR08L217	IURON	67	IR 10A237	IRBN	16
IR10A121	IRBN	68	IR 11A581	IR 11A581	17
IR14L256	IRLON	69	IR 10A314	IR 10A314	18
IR12L357	IURON	70	HHZ 4-DT3-Y1-Y1	GSR-IRLL	19
HHZ 18-Y3-Y1-Y1	GSR-IRLL	71	IR 11A501	IR 10A314	20
HHZ 24-DT11-LI1-LI1	GSR-IRLL	72	IR 10F221	IR 10F221	21
IR14L238	IURON	73	HHZ 21-SAL13-Y1-Y1	GSR-IRLL	22
IR 11N137	IRBN	74	IR 09N251	IRBN	23
HHZ 3-SAL13-Y2-DT1	GSR-IRLL	75	HHZ 23-DT16-DT1-DT1	GSR-IRLL	24
IR13L268	IRLON	76	IRRI 104	IURON	25
IR 09N127	IRBN	77	IR14L101	IRLON	26
IR14L260	IRLON	78	IR12L353	IURON	27
IR 09L204	IRBN	79	HHZ 3-SAL4-Y1-Y1	GSR-IRLL	28
IR06A145	IRBN	80	SAKHA 105	IRBN	29
IR 10A227	IRBN	81	HHZ 21-Y4-Y2-Y1	GSR-IRLL	30
IRBLK-KU	IRBN	82	IR 11A410	IRBN	31
HHZ 4-SAL5-LI1-LI1	GSR-IRLL	83	IR14L240	IURON	32
IR 05A272	IRBN	84	IR14L247	IRLON	33
IRRI 103	IURON	85	HHZ 15-SAL13-Y3	GSR-IRLL	34
IRRI 146	IURON	86	IR10L139	IRBN	35
IRRI 154	IURON	87	B 40	IRBN	36
IRBLZT-IR56	IRBN	88	IR13L397	IURON	37
HHZ 10-DT8-DT1-DT1	GSR-IRLL	89	IR12L201	IIRON Module 1	38
HHZ 14-SAL19-Y1	GSR-IRLL	90	IR13F589	IRLON	39
HHZ 15-DT7-SAL2	GSR-IRLL	91	IR13F228	IRLON	40
IR 04A216	IRBN	92	IRRI 132	IURON	41
IRBLZ5-CA[CO]	IRBN	93	IR14L160	IRLON	42
HHZ 16-SAL13-LI1-LI1	GSR-IRLL	94	HHZ 10-DT5-LI1-LI1	GSR-IRLL	43
IR 09L324	IRBN	95	IRBLSH-S	IRBN	44
IRBLSH-IS	IRBN	96	IR12L159	IIRON Module 1	45
HHZ 1-DT4-LI1-LI1	GSR-IRLL	97	B11598C-TB-2-1-B-7	IURON	46
IRBLKS-CO	IRBN	98	IR13L382	IURON	47
IR08L216	IRBN	99	IR09N516	IRBN	48
IRBLTA2-IR64	IRBN	100	HHZ 4-SAL5-Y2-Y1	GSR-IRLL	49
IRBLTA-ME	IRBN	101	IR14L262	IRLON	50
IRBLKM-TS	IRBN	102	IR14L235	IRLON	51

تجزیه و تحلیل‌های آماری

جهت تجزیه داده‌های فنوتیپی (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین) از نرم‌افزار SAS 9 استفاده شد. رابطه بین هر کدام از صفت‌های ثبت‌شده با اطلاعات حاصل از نشانگرهای SSR با استفاده از روابط رگرسیون و به‌کمک نرم‌افزار SPSS 22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته شد.

جدول ۲- برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های SSR

Table 2 . Touchdown thermal program for amplification of SSR marker

Step	Temperature (C̊)	Time (minute) & (second)	
Primary denaturing	94	5'	1
Denaturing	94	1	
Annealing	64	30"	18
Synthesis	72	1'	
Denaturing	72	1'	
Annealing	94	1'	30
Synthesis	55	1'	
Final duplication	72	5'	1

جدول ۳-اطلاعات نشانگرهای SSR مورد مطالعه

Table3. Information of the studied SSR markers

نشانگر	کروموزوم	آغازگرهمسو	آغازگر معکوس	منبع
RM530	2	GCACTGACCACGACTGTTTG	ACCGTAACCCGGATCTATCC	(Vikram *et al* 2011) (Donde *et al*., 2019)
RM127	4	GTGGGATAGCTGCGTCGCGTCG	AGGCCAGGGTGTTGGCATGCTG	(Lanceras *et al*., 2004)
RM129	1	TCTCTCCGGAGCCAAGGCGAGG	CGAGCCACGACGCGATGTACCC	(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* 2018)
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	TCCTCTCGCCTTTCTTTCTCTCC	(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	GGGCTTCTTCTCCGCCGGCTTC	(Prasad *et al*., 2016);(Hussain *et al*., 2011)
RM1029	1	GATTTCCTGCGAATGAGAGAAGG	GACTTCAGGGACAAGCAGTTCC	(kumar *et al*., 2017)
RM304	10	TCAAACCGGCACATATAAGAC	GATAGGGAGCTGAAGGAGATG	(Swamy *et al*., 2017); (kumar *et al*., 2017)

جدول ۴-تجزیه واریانس مرکب صفات

Table 4. Combined analysis of traits

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Ms)						
		درصد جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول کولئوپتیل	وزن ساقه‌چه	وزن ریشه‌چه	تعداد ریشه‌چه
ژنوتیپ	101	723.193**	2.359**	8.633**	0.115**	0.021**	0.001**	4.998**
تنش	1	186112.245**	243.717**	556.582**	9.225**	0.914**	0.028**	299.583**
ژنوتیپ × تنش	101	274.101**	0.716**	2.433**	0.052**	0.019**	0.001**	0.974**
خطا	204	2.348	1.367	0.843	0.006	0.002	0.001**	1.067
ضریب تغییرات		2.097	27.271	16.909	15.841	55.002	42.810	18.884

جدول ۵- تجزیه واریانس در شرایط نرمال

Table 5. Analysis of variance at normal condition

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Ms)						
		درصد جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول کولئوپتیل	وزن ساقه‌چه	وزن ریشه‌چه	تعداد ریشه‌چه
ژنوتیپ	101	302.904**	1.812**	6.052**	0.127**	0.040**	0.001**	3.264**
خطا	102	2.102	1.204	0.933	0.009	0.004	0.001	1.312
ضریب تغییرات		1.535	21.685	14.637	14.563	49.232	35.743	18.108

جدول ۶- تجزیه واریانس در شرایط تنش خشکی

Table 6. Analysis of variance at drought stress condition

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات (Ms)						
		درصد جوانه‌زنی	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه	طول کولئوپتیل	وزن ساقه‌چه	وزن ریشه‌چه	تعداد ریشه‌چه
ژنوتیپ	101	694.390**	1.677**	5.013**	0.041**	0.001**	0.001**	2.708**
خطا	102	2.593	1.530	0.754	0.003	0.001	0.001	0.821
ضریب تغییرات		3.114	35.196	20.365	17.178	16.265	18.236	19.646

جدول ۷- مقایسه میانگین ده درصد برتر ژنوتیپ‌های مرحله جوانه‌زنی در شرایط نرمال

Table7. Comparison of means for 10% of best genotypes at normal condition

ژنوتیپ	طول ساقه‌چه (سانتی متر)	ژنوتیپ	طول ریشه چه (سانتی متر)	ژنوتیپ	طول کولئوپتیل (سانتی متر)	ژنوتیپ	وزن ساقه‌چه (گرم)	ژنوتیپ	وزن ریشه چه (گرم)	ژنوتیپ	تعداد ریشه چه
17	6.933^{a}	96	11.500^{ba}	62	2.083^{a}	71	0.915^{a}	96	0.158^{a}	46	9.000^{a}
72	6.833^{a}	34	10.833^{ba}	102	1.250^{b}	64	0.785^{ba}	30	0.125^{b}	78	8.167^{ba}
85	6.567^{ba}	56	9.916^{bac}	53	1.200^{cb}	34	0.675^{bac}	18	0.106^{cb}	57	8.000^{ba}
45	6.533^{ba}	8	9.583^{bdac}	35	1.166^{cbd}	12	0.576^{bc}	24	0.088^{cd}	63	8.000^{ba}
8	6.500^{ba}	70	9.533^{ebdac}	77	1.100^{cebd}	8	0.571^{bc}	36	0.087^{cd}	53	8.000^{ba}
94	6.450^{ba}	54	9.500^{bdac}	90	1.083^{fcebd}	97	0.423^{dc}	52	0.087^{cd}	16	8.000^{ba}
50	6.433^{ba}	73	8.833^{ebdacf}	79	1.083^{fcebd}	88	0.209^{ec}	13	0.086^{cd}	45	8.000^{ba}
41	6.417^{ba}	63	8.7^{ebdacf}	61	1.083^{fcebd}	54	0.157^{ec}	77	0.079^{cde}	25	7.833^{ba}
96	6.133^{ba}	19	8.666^{ebdagcf}	72	1.050^{fcebdg}	66	0.157^{ed}	9	0.075^{de}	50	7.833^{ba}
55	6.117^{ba}	22	8.666^{ebdagcf}	50	1.033^{fcebhdga}	50	0.154^{ed}	34	0.068^{de}	71	7.833^{ba}
HSD	4.5		4.318		0.433		0.285		0.032		5.8

جدول ۸- مقایسه میانگین ده درصد ژنوتیپ‌های برتر مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی

Table 8. Comparison of means for 10% of best genotypes at drought stress condition

ژنوتیپ	درصد جوانه زنی	ژنوتیپ	طول ساقه‌چه (سانتی متر)	ژنوتیپ	طول ریشه‌چه (سانتی متر)	ژنوتیپ	طول کولئوپتیل	ژنوتیپ	وزن ساقه‌چه(گرم)	ژنوتیپ	وزن ریشه چه (گرم)	ژنوتیپ	تعداد ریشه‌چه
90	92.500[a]	74	4.917[a]	34	7.833 [a]	43	1.033 [a]	2	0.113[a]	41	0.011 [a]	28	6.166[a]
5	84.500[b]	17	4.867[a]	70	7.833 [a]	102	1.033 [a]	96	0.108[a]	98	0.010 [ba]	53	6.166 [a]
80	84.000 [b]	46	4.750[a]	84	7.750 [ba]	51	0.633 [b]	12	0.067[b]	79	0.007 [bc]	42	6.166 [a]
66	82.000 [cb]	7	4.567	24	7.583 [bac]	6	0.600 [cb]	77	0.063 [cb]	77	0.006 [dc]	102	6.166 [a]
73	81.000 [cbd]	49	4.550[a]	18	6.833 [bdab]	72	0.583 [cbd]	7	0.058 [cbd]	12	0.006 [dce]	68	6.166 [a]
88	79.000 [cebd]	37	4.500[a]	78	6.750 [ebdc]	46	0.583 [cbd]	41	0.055 [cbd]	57	0.005 [dfce]	17	5.833 [a]
26	78.000 [fcebd]	81	4.450[a]	89	6.333 [ebdacf]	41	0.516 [cebd]	102	0.055 [cebd]	7	0.005 [gdfce]	36	5.833 [a]
72	78.000 [fcebd]	63	4.433[a]	81	6.183 [ebdagcf]	35	0.516 [cebd]	65	0.052 [fcebd]	85	0.005 [gdfceh]	12	5.833 [a]
19	76.000 [fcegd]	18	4.417[a]	12	6.083 [ebdagcf]	44	0.516 [cebd]	9	0.050 [fcebdg]	72	0.005 [gdfceh]	49	5.833 [a]
27	76.000 [fcegd]	13	4.376[a]	80	6.083 [ebdagcf]	42	0.516 [cebd]	89	0.049 [fcebhdg]	22	0.005 [gdfcieh]	13	5.833 [a]
HSD	7.198		5.9		3.882		0.280		0.025		0.003		4.051

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب 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 ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، تعداد ریشه‌چه، وزن‌تر ساقه‌چه، وزن‌تر ریشه‌چه و طول کولئوپتیل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴) و نشان‌دهنده رفتار متفاوت ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف شرایط کشت از نظر صفات مورد مطالعه بود.

بر این اساس، برش‌دهی ارزیابی ژنوتیپ‌ها در هر یک از شرایط تنش خشکی و نرمال به‌طور جداگانه نیز انجام شد. تجزیه واریانس در شرایط نرمال در مرحله گیاهچه‌ای نشان داد ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه تفاوت معنی داری دا شتند. در شرایط نرمال بیش‌ترین ضریب تغییرات برای صفت وزن ساقه‌چه با مقدار ۴۹/۲۳۲ و کم‌ترین ضریب تغییرات برای صفت درصد جوانه‌زنی با مقدار ۱/۵۳۵ می‌باشد (جدول ۵). تجزیه واریانس در شرایط تنش در مرحله گیاهچه نشان داد که اختلاف بین ژنوتیپ ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۶) و در شرایط تنش بیش‌ترین ضریب تغییرات برای صفت وزن ریشه‌چه با مقدار ۳۵/۱۹۶ و کم‌ترین ضریب تغییرات برای درصد جوانه‌زنی با مقدار ۳/۱۱۴ می‌باشد و مقادیر ضریب تغییرات برای صفات دیگر در جداول ۹ و ۱۰ آمده است. مقایسه میانگین در مرحله جوانه‌زنی در شرایط نرمال و تنش خشکی نشان داد که در صفت طول ساقه‌چه ژنوتیپ ۱۷ و در صفت طول ریشه‌چه ژنوتیپ‌های ۳۴ و ۷۰ و در صفت طول کولئوپتیل ژنوتیپ‌های ۱۰۲، ۳۵ و ۷۲ و در صفت وزن ساقه‌چه ژنوتپ ۱۲ و در صفت وزن ریشه‌چه ژنوتیپ ۷۷ و در صفت تعداد ریشه‌چه ژنوتیپ ۵۳ به‌طور مشترک در مرحله نرمال و تنش خشکی جز ده درصد برتر می‌باشند.

تجزیه ارتباط

در شرایط نرمال ۳۳ آلل برای ۷ صفت شناسایی شد که با ۲۰ آلل رابطه مثبت و معنی‌دار داشتند. برای صفت درصد جوانه‌زنی در مرحله نرمال ۱ آلل، طول ساقه‌چه ۴ آلل، صفت طول کولئوپتیل با ۲ آلل، وزن ساقه‌چه در مرحله نرمال ۵ آلل، وزن ریشه‌چه ۳ آلل، صفت تعداد ریشه‌چه در مرحله نرمال ۴ آلل ردیابی شد که دارای رابطه مثبت و معنی‌دار می‌باشند. در این بین صفت طول ریشه‌چه با یک آلل و رابطه منفی و معنی‌دار کم‌ترین و صفت تعداد ریشه‌چه با ۹ آلل بیش‌ترین تعداد آلل را دارا بود (جدول ۹). در میان آلل‌ها، آلل RM12091A و RM1029B با مرتبط‌بودن با ۴ صفت درصد جوانه‌زنی و طول کولئوپتیل و تعداد ریشه‌چه و وزن ریشه‌چه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند که این موضوع می‌تواند گویای این باشد که وجود نشانگرهای مشترک برای صفات احتمالا به‌دلیل پیوستگی مکان‌های کروموزومی کنترل‌کننده این صفات و یا پلیوتروپی باشد. تجزیه ارتباط مرحله جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی ۳۴ آلل برای ۷ صفت ردیابی شد که با ۲۵ آلل رابطه مثبت و معنی‌دار داشتند. برای صفت درصد جوانه‌زنی در تنش خشکی ۱ آلل، صفت طول ساقه‌چه ۸ آلل، صفت طول ریشه‌چه ۴ آلل، صفت طول کولئوپتیل ۲ آلل، صفت وزن ساقه‌چه ۳ آلل، صفت وزن ریشه‌چه ۳ آلل، صفت تعداد ریشه‌چه ۴ آلل شناسایی شد که رابطه مثبت و معنی‌دار داشتند و در این بین صفات طول کولئوپتیل، وزن ساقه‌چه و وزن ریشه‌چه با ۳ آلل کم‌ترین و صفت طول ساقه‌چه با ۸ آلل بیش‌ترین تعداد آلل را دارا بودند (جدول ۱۰). رابی و همکاران (Rabey *et al*., 2013) در بررسی تنوع ژنتیکی ۸ نوع برنج از ۴۶ نشانگر SSR و ۲۴۵ نشانگر RFLP، استفاده کردند. از ۴۶ نشانگر SSR، ۲۰ نشانگر چندشکل بودند. تعداد آلل‌ها در هر مکان از ۲ آلل (RM433 RM133, RM215) تا ۶ آلل (RM271) متفاوت بود. برای صفت درصد جوانه‌زنی در شرایط نرمال و تنش تعداد ۴ آلل پیدا شد. در پژوهش ونگ و همکاران (Wang *et al*., 2011) برای صفت درصد جوانه‌زنی در محدوده نشانگرهای RM518-RM16535 شناسایی شدند. در میان آلل‌ها، آلل RM129D با مرتبط بودن با ۲ صفت تعداد ریشه‌چه و وزن ساقه‌چه و آلل RM530B با مرتبط بودن با ۲ صفت طول کولئوپتیل و تعداد ریشه‌چه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بود. توبرسا و همکاران (Tuberosa *et al*., 2002) بیان نمودند که شناسایی نشانگرهای مشترک اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهان دارد، زیرا گزینش هم‌زمان چند صفت را امکان‌پذیر می‌سازد.

جدول۹-تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات جوانه‌زنی در شرایط نرمال

Table 9. Association analysis between microsatellite marker and germination traits at normal condition

صفت	عرض از مبدأ	آلل	B	خطای استاندارد	F
درصد جوانه‌زنی	91.559	RM12091A	-10.311**	2.134	23.4**
		RM12091B	-20.612**	3.075	44.91**
		RM304H	-49.547**	11.370	18.99**
		RM1029B	56.373**	13.871	16.52**
طول ساقه‌چه	11.661	RM12091B	16.658**	2.665	39.06**
		RM304H	67.700**	10.321	43.02**
		RM231D	55.050**	8.205	45.01**
		RM520F	52.993**	8.509	38.79**
		RM511F	-43.029**	9.338	21.23**
طول ریشچه	6.573	RM1029I	-5.123**	1.181	18.80**
طول کولئوپتیل	0.543	RM12091A	1.036**	0.133	60.44**
		RM12091B	1.745**	0.240	52.75**
		RM1029B	-5.242**	0.954	30.19**
وزن ساقه‌چه	0.178	RM530D	0.028**	0.011	6.20**
		RM530F	-0.351**	0.059	34.43**
		RM216B	0.513**	0.079	41.19**
		RM304H	0.426**	0.047	79.68**
		RM127E	0.341**	0.051	43.97**
		RM129D	0.786**	0.080	94.71**
		RM520H	0.792**	0.114	47.77**
وزن ریشه‌چه	0.024	RM12091A	0.009**	0.001	26.54**
		RM12091B	0.020**	0.003	29.72**
		RM520G	0.062**	0.013	21.75**
		RM1029B	-0.073**	0.013	30.67**
تعداد ریشه‌چه	5.246	RM12091A	-0.621**	0.074	68.75**
		RM12091B	-1.164**	0.105	121.18**
		RM12091D	2.205**	0.427	34.21**
		RM263G	4.040**	0.349	133.60**
		RM304H	-4.151**	0.440	88.94**
		RM157BD	-2.106**	0.371	32.10**
		RM127B	-5.359**	0.987	29.43**
		RM511A	3.111**	0.567	30.09**
		RM1029B	4.829**	0.484	99.18**

جدول ۱۰- تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی

Table 10. Association analysis between microsatellite marker and germination traits at drought stress condition

صفت	عرض از مبدأ	آلل	B	خطای استاندارد	F
درصد جوانه‌زنی	43.708	RM263A	-28.824**	6.879	17.56**
		RM231D	-21.957**	5.545	15.68**
		RM129C	29.653**	6.999	17.95
		RM511E	-4.835**	8.492	33.07**
طول ساقه‌چه	-3.443	RM12091A	5.262*	0.476	121.73*
		RM530D	6.141**	0.666	84.90**
		RM304H	20.603**	3.31	34.29**
		RM129I	57.850**	5.394	115.00**
		RM236E	17.136**	2.971	33.26**
		RM511E	38.883**	3.520	122.02**
		RM511H	324.264**	7.601	1824.01**
		RM1029B	25.269**	3.334	57.43**
طول ریشه‌چه	9901476.00	RM22F	132500713**	23927969	30.69**
		RM263F	161766695**	32900721	24.04**
		RM530D	-31187618**	7261807	18.44**
		RM129F	135480761**	33557495	16.30**
		RM520G	296469862**	41355372	51.39**
		RM1029E	-239019751**	51122694	21.86**
طول کولئوپتیل	316683.974	RM60H	8174990.267**	263864.888	41.58**
		RM530B	4087496.769**	1267741.959	16.74**
		RM236B	-44.417**	1016250.989	18.78**
وزن ساقه‌چه	-2.517	RM530F	7.627**	1.354	31.72**
		RM304A	6.751**	1.422	22.53**
		RM1029D	4.525**	1.316	11.81**
وزن ریشه‌چه	2.841	RM60D	4.768**	1.172	16.53**
		RM530F	7.741**	1.670	21.48**
		RM127K	6.208**	1.531	16.44**
تعداد ریشه‌چه	-22838.408	RM60B	4.235**	1.675	6.39**
		RM22B	-228328.835**	5.953	1.471e9**
		RM530A	-205501.750**	8.483	868.5e8**
		RM530B	22838.415**	2.728	7.006e7**
		RM530C	22833.715**	2.452	8.699e7**
		RM127B	-228361.804**	8.453	7.298e8**
		RM1029D	24.926*	2.843	76.87*

نشانگر RM530 با صفات طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول کولئوپتیل، وزن ساقه‌چه، وزن ریشه‌چه و تعداد ریشه‌چه ارتباط داشت و نشانگر RM1029 با صفات طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، وزن ساقه‌چه و تعداد ریشه‌چه ارتباط داشت که این می‌نواند نشان‌دهنده پیوستگی بین صفات باشد. پرایمر RM1029 پرایمر مهم و تأثیرگذار شناسایی شد، چون هم در شرایط نرمال و هم در شرایط تنش خشکی در بیش‌تر صفات ردیابی شد. در مطالعه محمد آلق و صبوری (Mohammad Alagh and Sabouri, 2014) ناحیه‌ای از کروموزوم ۳ در فاصله نشانگری E120-M150-2-E090-M160-3صفات طول کلئوپتیل و طول ساقه‌چه را تحت کنترل داشت. هم مکانی این صفات احتمالاً بیانگر کنترل ژنتیکی یکسان صفات مذکور در شرایط تنش اسمزی است. ون و همکاران (Wen *et* al., 2009) با استفاده‌ی ۱۲۸ رقم برنج ارتباط بین ۱۵۲ نشان‌گر ریزماهواره و صفات زراعی تاریخ سنبله‌دهی، ارتفاع بوته و طول خوشه را روی کروموزوم ۷ بررسی نمودند و توانستند مکان‌های مرتبط را شناسایی کنند. صبوری و همکاران (Sabouri.*et al*., 2010) ساختار ژنتیکی خصوصیات مرتبط با جوانه‌زنی را در جمعیت F_2 طارم محلی در خزر در شرایط تنش شوری به‌دست آمده از NaCl بررسی نمودند. در این بررسی دو آلل برای سرعت جوانه‌زنی، ۴ آلل برای طول ریشه‌چه، و سه آلل برای طول ساقه‌چه ردیابی شد. مردانی و همکاران (Mardani *et al*., 2013) با استفاده از جمعیت $F_{2:4}$ و تلاقی رقم متحمل به خشکی غریب با رقم حساس به خشکی سپیدرود برای شناسایی و مقایسه QTLهای مرتبط با جوانه‌زنی در شرایط تنش و بدون تنش مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع ۳۲ QTL در شرایط تنش و نه QTL در شرایط بدون تنش برای صفات سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه، طول کلئوریز و طول ساقه مشاهده شد. محمدی و همکاران (Mohammadi *et al*., 2010) با استفاده از نشانگرهای SSR و رگرسیون گام به گام ۱۷ نشانگر را در یونجه شناسایی نمودند که رابطه معنی‌داری با حداقل یکی از ۱۱ صفت مورفولوژیک مطالعه‌شده نشان دادند. لی و همکاران (Li *et al*., 2014) تجزیه ارتباط برای صفات محتوای روغن و پروتئین در ۳۶۹ ژنوتیپ کنجد را با ۱۱۲ نشانگر انجام دادند. این تحقیق ۱۹ نشانگر پیوسته SSR چندشکل با محتوای روغن، ۲۴ نشانگر پیوسته با محتوای پروتئین و ۱۹ نشانگر مشترک برای هر دو صفت شناسایی شد. با وجود تحقیقات متعدد در زمینه جوانه‌زنی گیاه برنج، زوآ و همکاران (Zhou *et al*., 2012) بیان نمودند که تحقیقات بسیار اندکی در زمینه تجزیه ارتباط برنج گزارش شده است و هنوز بررسی‌های زیادی نیاز است تا از منابع ذخائر توارثی (ژرم‌پلاسم) برنج برای ارتباط با صفات ژنتیکی سودمند و پیچیده بهره گرفت.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که بین ژنوتیپ‌های برنج برای کلیه صفات جوانه‌زنی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بعضی از ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش نرمال و برخی در تنش واکنش بهتری دارند که می‌توان از آن‌ها برای برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. نتایج تجزیه ارتباط در شرایط نرمال و تنش خشکی نشان داد که پرایمر RM1029 به‌عنوان پرایمر مهم در ارتباط با اکثر صفات مورد بررسی بود و حاکی از پیوستگی بین این مارکر و صفات مختلف جوانه‌زنی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئول آزمایشگاه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Abdolshahi, R., Omid, M., Talei, A.R. and Yazdi-Samadi, B. 2010. Evaluation of bread wheat genotypes for drought tolerance. ESci Journal of Crop Production, 3(1): 159-171. **(Journal)**

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. **(Journal)**

Bal, A.R. and Chattopadhyay, N.C. 1984. Effect of NaCl and PEG 6000 on Germination and SeedlingGrowth of Rice (*Oryza sativa L.*). Biologia Plantarum, 27(1): 65-69. **(Journal)**

Cavusoglu, K. and Kabar, K. 2010. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. Journal of Biology Science, 4: 70-79. **(Journal)**

Choi W.Y., Kangm S.Y. and Park, H.K. 2000. Effects of Water Stress by PEG on Growth and Physiological Traits in Rice Seedlings, Korean Journal of Crop Science, 45: 112 -117. **(Journal)**

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

Ebrahimi, A., Naghavi, M.R., Sabokdast, M. and Moradi, A.S. 2011. Association analysis of agronomic traits with microsatellite markers in Iranian barley landraces barley. Modern Genetics Journal, 6: 35-43. (In Persian)**(Journal)**

Grishma Shah. H., Sasidharan, N., Chakraborty, S., Trivedi, R., Ravikiran, R. and Davla, D. 2012. Genetic diversity and molecular analysis for fertility restorer genes in rice (*Oryza sativa*. L.) for wild abortive (WA) cytoplasm using microsatellite markers. Journal of Agricultural Technology, 8 (1): 261-271. **(Journal)**

Jamal, I.H., Bari, A., Khan, S. and Zada, I. 2009. Genetic variation for yield and yield components inrice. Journal of Agricultural and Biological Science, 4: 60-64. **(Journal)**

Lasaltia, F., Miranda, J.G. and Michelle, I. 2008. Physiological characterization for drought tolerance of selected rice varieties in Lake Sebu, Philippines. USM R and D Journal, 16:13-16. **(Journal)**

Li, C., Miao, H., Wei, L., Zhang, T., Han, X. and Zhang, H. 2014. Association Mapping of Seed Oil and Protein Content in *Sesamum indicum* L. Using SSR Markers. Plos One, 9: 1-12. **(Journal)**

Mardani, Z., Rabiei, B., Sabouri, H. and Sobouri, A. 2013 Mapping of QTLs of Germination Characteristics under Nonstress and Drought Stress in Rice. Rice Science, 20(6). 391-399. **(Journal)**

Michel, B.E. and Kaufman, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant physiological, 51, 914–916. **(Journal)**

Ming, H., Fang-Min, X., Li-Yun, C.H., Xiang-Qian, Z.H., Jojee, L. and Madonna, D. 2010. Comparative analysis of genetic diversity and structure in rice using ILP and SSR markers. Rice Science, 17 (4): 257-268. **(Journal)**

Mohammad Alagh, Sh. and Sabouri, H. 2014. Locations of controlling QTLs for germination parameters under the manicure-induced smoke stress in rice, The 13th Iranian Conference on Plant Breeding and Agronomy and the 3rd Iranian Seminar on Science and Technology, Agrarian Sciences and Reforming Association Iran Plants, https://www.civilica.com/Paper-NABATAT13-NABATAT13_0832.html. **(Conference)**

Mohammadi, R., Naghavi, M.R. Maali Amiri, R. and Rezaei, M. 2010. Identification of microsatellite markers in Iranian alfalfa. Modern Genetics Journal, 5: 7-66 (In Persian)**(Journal)**

Mohammadi-Nejad, G., Singh, R.K., Arzani, A., Rezaie, A.M., Sabouri, H. and Gregorio, G.B. 2010. Evaluation of salinity tolerance in rice genotypes. International Journal of Plant Production, 4 (3): 199-208. **(Journal)**

Naghavi, M.R., Mardi, M., Ramshini, H.A. and Fazelinasab, B. 2004. Comparative analyses of the genetic diversity among bread wheat genotypes based on RAPD and SSR markers. Iranian Journal of Biotechnology, 2: 195-202. (In Persian)**(Journal)**

Pirdashti, H., Tahmasebi Servestani, Z., Nematzade, Gh. and Abdolbaghi, A. 2001. Effects of drought stress at different growth stages of rice varieties. Abstracts 8th Iranian Crop Science Congress. Sep. 3-5. Gilan, Iran. (In Persian)**(Conference)**

Rabey, H., Salem, K.H. and Mattar, M. 2013. The genetic diversity and relatedness of eight rice (*Oryza Sativa* L.) cultivar as revealed by AFLP and SSRs marker. Life Science Journal, 10: 1471-1479. **(Journal)**

Sabouri, H., Biabani, A., Sabouri, A., and Mohammad Esmaili, M. 2010. The study of QTLs related to seed vigour under stress caused to Sorbitol in rice. Journal of Plant Production, 17: 123-136 (In Persian) **(Journal)**

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. **(Journal)**

Sajib, A.M., Musharraf Hossain, M.D., Mosnaz, A.T.M.J., Hossain, H., Monirul Islam, M.D., Shamsher, A. and Prodhan, S.H. 2012. SSR marker-based molecular characterization and genetic diversity analysis

of aromatic landreces of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Bioscience and Biotechnology, 1: 107-116. **(Journal)**

Sohani, M. 1996. Seed Control and Certification. Guilan university press. 166p. (In Persian) **(Book)**

Tang, S., Zhang, Y., Zeng, L., Luo, L., Zhong, Y. and Geng, Y. 2010. Assessment of genetic diversity and relationships of upland rice accessions from Southwest China using microsatellite markers. Official Journal of the Societa Botanica Italiana, 144 (1): 85-92. **(Journal)**

Tao, H., Brueck, H., Dittert, K., Kreye, C., Lin, S. and Sattelmacher, B. 2006. Growth and yield formation for rice (*Oryza sativa* L.) in the water-saving ground cover rice production system (GCRPS). Field Crops Research, 95: 1–12. **(Journal)**

Tuberosa, R., Gill, B.S. and Quarrie, S.A. 2002. Cereal genomics: Ushering in a brave new world. Plant Molecular Biology, 48 (5): 445-449. **(Journal)**

Wang, Z.J., Wang, Y.B., Wu, Y. and Zhang, H. 2011. Quantitative trait loci controlling rice seed germination under salt stress. Euphytica, 178, 297-307. **(Journal)**

Wen, W., Mei, H., Feng, F., Yu, S., Huang, Z., Wu, J., Chen, L., Xu, X. and Luo, L. 2009. Population structure and association mapping on chromosome 7 using a diverse panel of Chinese germplasm of rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics, 119: 459-470. **(Journal)**

Yang, J.C., Liu, K., Zhang, S.F., Wang, X.M., Wang, Z.Q. and Liu, L.J. 2008. Hormones in rice spikelets in responses to water stress during meiosis. Acta Agronomica Sinica, 34: 111–118. **(Journal)**

Zheng, M., Tao, Y., Hussain, S., Jiang, Q., Peng, S., Huang, J., Cui, K. and Nie, L. 2016. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. Plant Growth Regulation, 78(2): 167-178. **(Journal)**

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. **(Journal)**

Identification of informative microsatellite alleles for control genes of germination components in rice under normal conditions and drought conditions

Bahareh Ghasemi[1], Hossein Sabouri*[2], Hossein Hosseini Moghadam[3], Abbas Biyabani[2], Mohammad Javad Sheikhzadeh[4]

Received: December 29, 2018 Accepted: June 1, 2019

Abstract

Rice is the world's most important agricultural product after wheat and important role in feeding more than half of the world's population. The germination stage is one of the most important stages in the development of rice. Drought stress has a significant effect on the germination characteristics of rice. Identification of tolerant genotypes and genetic structure of control their traits are an important factor for tolerance in rice. In order to detection of informative SSR alleles for control genes of germination components in rice under normal conditions and drought conditions, an experiment was conducted using 102 genotypes of rice in two replications in a Completely Randomized Design in Laboratory of Gonbad Kavous University in 2018. Germination percentage, plumule length, radicle length, coleoptile length, number of radicle, total fresh weight of plumule and fresh weight of radicle were measured. Significant differences were detected between genotypes for germination traits in normal and drought stress conditions. The results of the association analysis at normal condition showed that RM12091A and RM1029B were associated with germination percentage, coleoptile length, radicle total weight and under drought stress condition, the RM129D was related to number of radicle and total weight of plumule and the RM530B allele were correlated with length of the coleoptile and the number of roots. The results of this study showed that genetic variation among rice genotypes and association analysis could be used to increase drought tolerance in rice cultivars.

Key words: Association analysis; Drought stress; Germination; Rice

How to cite this article

Ghasemi, B., Sabouri, H., Hosseini Moghadam, H., Baybani, A. and Sheikhzadeh, M.J. 2020. Identification of informative microsatellite alleles for control genes of germination components in rice under normal conditions and drought conditions. Iranian Journal of Seed Science and Research, 7(3): 311-325. (In Persian)(**Journal)**

DOI: 10.22124/jms.2020.4592

COPYRIGHTS

Copyrights for this article are retained by the author(s) with publishing rights granted to the Iranian Journal of Seed Science and Research

The content of this article is distributed under Iranian Journal of Seed Science and Research open access policy and the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY4.0) License. For more information, please visit http://jms.guilan.ac.ir/

1. MSc. Student, Department of Plant Production, Collage of Agricultural Sciences and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
2. Associate Professor, Department of Plant Production, Collage of Agricultural Sciences and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
3. Assistant Professor, Department of Plant Production, Collage of Agricultural Sciences and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran
4. Instructor, Department of Basic Sciences and Technology Engineering, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavos, Iran

*Corresponding author: hos.sabouri@gmail.com