

Association analysis of agronomic traits using microsatellite markers (SSR) in different rice genotypes in terms of flooding and drought

M.R. Karim¹, H. Sabouri^{2*}, M.A. Ebrahimi³, S. Sanchouli⁴

1. Former student of Master of Agricultural Biotechnology, Department of Biotechnology, Payame Noor University, Tehran

2. Associate Professor. Department of Plant Production, College of Agriculture and Natural Resources of Gonbad Kavous University

3. Professor, Department of Biotechnology, Payame Noor University, Tehran

4. Former student of Master of Agricultural Biotechnology, College of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University

Received 4 August 2021; Accepted 26 October 2021

Extended abstract

Introduction

Rice is an important crop that is considered a staple meal for 2.7 billion people worldwide. Therefore, the demand for it will increase with the increase of population. Environmental constraints always pose a serious threat to crop production, including rice. Drought is one of the most important challenges that limits the production of high-yielding cultivars in arid and rainfed areas. Global warming has also become a factor in limiting rice production in rain-dependent areas. Therefore, researchers are looking for a way to stabilize rice production in arid regions. In this study, informative markers related to the desired agronomic traits were identified in 59 rice genotypes using microsatellite marking system.

Materials and methods

In order to evaluate the tolerance of rice genotypes to drought stress and to identify tolerant and sensitive genotypes, 59 genotypes received from the National Rice Research Institute and the International Rice Research Institute in a randomized complete block design with three replications in two separate conditions, without Stress (flood) and drought stress were performed in a research farm located in Aliabad Katoul city in 2013. In both conditions (normal and drought stress), the genotypes were planted in five rows of 25 × 25 cm in rows one meter long. Thirty days after planting in the nursery, healthy and strong seedlings were transferred to the main land. The required agronomic operations were carried out equally during the growth and development period of the plants under stress and normal conditions and only in terms of irrigation of the experimental field in both flood and stress environments, until the tillering stage of the cultivars were equally flooded. Then, to create stress, irrigation was done from 40 days after transplanting (maximum tillering stage) to the end of the growing season at 25-day intervals. Phenotypic values of grain yield and 1000-grain weight were measured under two conditions according to standard guidelines for evaluation of traits in rice. In order to investigate the relationship between agronomic traits and microsatellite markers with 59 rice genotypes out of 36 microsatellite molecular markers were performed in the Plant Breeding and Genetics Laboratory of Gonbad Kavous University, Faculty of Agriculture and Natural Resources. Young leaves of 21-day-old

* Corresponding author: Hossein Sabouri; E-Mail: hos.sabouri@gmail.com



seedlings were extracted in four-leaf stage using CTAB method. Touchdown PCR reaction was studied and evaluated randomly using 36 microsatellite primers for 3 markers from each chromosome. To separate PCR products, 6% polyacrylamide gel electrophoresis was used and to reveal the banding pattern, silver nitrate staining method was used. The content of polymorphic information was calculated. The relationship between molecular data and traits of studied rice genotypes was investigated using multiple regression. Thus, each quantitative trait was considered as a dependent variable and microsatellite markers were considered as independent variables.

Results and discussion

The average content of polymorphic corrections (PIC) was estimated to be 0.58, which showed RM 5647 with 0.81 the highest and RM 6022 with 0.32 the lowest polymorphism (PIC). The results of stepwise regression analysis showed that a total of 90 markers for normal conditions and 69 markers for drought stress conditions for morphological traits were identified. Under normal conditions, the number of spikes and the number of days to flowering with 9 markers and under drought stress, the weight of the cluster with 9 markers showed the most positive markers. The most explanation for variation in normal conditions is related to the total number of grains (0.83) by gene loci RM6324-E, RM5652-E, RM5761-D, RM6179-F, RM549-B, RM462-B, RM7420-D Explained. In drought stress conditions, the most explanation for variation related to panicle weight (0.70) by gene loci RM519-D, RM7545-A, RM6179-E, RM7118-G, RM3525-B, RM5761-B, RM38-C, RM7091-A, RM5647-B explained.

Conclusion

The results showed that some markers are associated with more than one trait, which indicates that these traits are very closely related to each other or may be influenced by multi-effect genes. To understand this, it is necessary to develop transgressive generations and linkage.

Keywords: Genetic diversity, Linkage map, Molecular markers, SSR

تجزیه ارتباطی صفات زراعی با نشانگرهای ریز ماهواره (SSR) در ژنوتیپ‌های مختلف برنج در شرایط غرقاب و کم آبیاری

محمد رضا کریم^۱، حسین صبوری^{۲*}، محمد علی ابراهیمی^۳، سمیه سنچولی^۴

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور تهران

۲. دانشیار تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

۳. استاد گروه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور تهران

۴. دانشجوی دکترای فیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: تنوع ژنی مارکرهای مولکولی نقشه پیوستگی SSR	خشکی تنش است که به‌عنوان یک پارامتر در کاهش تولید در سراسر دنیا مطرح می‌شود؛ به همین دلیل شناسایی و گسترش ارقام سازگار و بررسی واکنش ارقام به تنش خشکی ضروری به نظر می‌رسد. کنترل واکنش گیاهان به تنش توسط ژن‌ها کنترل می‌شود و امکان بررسی اولیه ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی توسط روش تجزیه ارتباطی وجود دارد. در این پژوهش ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی در برنج با استفاده از ۲۱ صفت زراعی و ۱۸۹ مکان ژنی حاصل از ۳۶ جفت نشانگر ریز ماهواره بر روی ۵۹ ژنوتیپ برنج در شرایط غرقاب و کم آبیاری مورد مطالعه قرار گرفت. محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) با میانگین ۰/۵۸ برآورد شد که نشانگر RM6022 با ۰/۳۲ کمترین چندشکلی و RM5647 با ۰/۸۱ بیشترین چندشکلی را نشان دادند. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام برای صفات مورفولوژیکی، ۹۰ نشانگر در شرایط نرمال و ۶۹ نشانگر در شرایط کم آبیاری شناسایی کرد. در شرایط نرمال تعداد خوشه و تعداد روز تا گلدهی با ۹ نشانگر و در شرایط کم آبیاری وزن خوشه با ۹ نشانگر بیشترین نشانگرهای مثبت را نشان دادند. بیشترین توجیه تغییرات در شرایط نرمال مربوط به صفت تعداد دانه کل خوشه (۰/۸۳) توسط مکان‌های ژنی RM6324-E، RM5652-E، RM6179-F، RM549-B، RM5761-D، RM7420-D و RM462-B تبیین شد. در شرایط کم آبیاری بیشترین توجیه تغییرات مربوط به صفت وزن خوشه (۰/۷۰) توسط مکان‌های ژنی RM7118-G، RM3525-B، RM5761-B، RM519-D، RM7545-A، RM38-، RM7091-A، C، RM5647-B و RM6179-E تبیین شد. نتایج نشان‌دهنده ارتباط برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت است که خود نشان‌دهنده پیوستگی نزدیک این صفات با یکدیگر است که احتمالاً تحت تأثیر ژن‌های چند اثره قرار دارند. تهیه نسل‌های در حال تفرق و نقشه‌های پیوستگی برای درک این موضوع ضروری می‌باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۳	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۰۴	
تاریخ انتشار: بهار ۱۴۰۲	
۲۷۵-۲۶۳ (۱): ۱۶	

مقدمه

تنش خشکی از مهم‌ترین تنش‌های زیستی است که رشد و عملکرد گیاه را به‌خصوص در مناطق نیمه‌خشک در سراسر جهان محدود می‌کند (Rizwa et al., 2018). یک روش مهم برای بررسی واکنش ارقام به تنش‌های غیرزیستی، بررسی عملکرد ارقام در دو شرایط نرمال و تنش و بررسی شاخص‌های تحمل و حساسیت است. ایجاد سازگاری در گیاه در مواجهه با تنش نقش حیاتی در قدرت تحمل تنش ایفا

در اکثر کشورها، برنج (*Oryza Sativa* L.) یکی از اجزای اصلی رژیم غذایی است. برنج یک منبع غنی کربوهیدرات و شامل پروتئین و چربی و همچنین منبع ویتامین B مانند نیاسین، ریبوفلاوین و تیامین است (Verma and Srivastav, 2020). برنج همچنین به‌عنوان یک گونه مدل در تحقیقات علوم گیاهی پذیرفته شده است و تحقیقات زیادی روی آن صورت گرفته است (Rabiei et al., 2015).

نشانگرهای مرتبط با تحمل به تنش خشکی و شوری در برنج با استفاده از ۲۶ نشانگر ریزماهواره و ۵۳ ژنوتیپ برنج انجام دادند. در این مطالعه با استفاده از ماتریس ساختار جمعیت و همچنین مدل خطی عمومی^۲ و مدل خطی مخلوط^۳ در نتایج تجزیه ارتباط در سطح پنج درصد به ترتیب ۷۵ و ۳۰ نشانگر مرتبط با صفات مورد بررسی شناسایی گردید. برای بررسی فراوانی آللی و تجزیه ارتباطی صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت با استفاده از ۲۰ نشانگر ریزماهواره و ۳۴ رقم برنج بومی و اصلاح شده مطالعه‌ای انجام شد (Nikzade et al., 2016). انجام شد. در این مطالعه چهار نشانگر RM220، RM282، RM447 و RM320 مرتبط با صفت شکل دانه شناسایی شد که توانستند ۴۷ درصد از تغییرات شکل دانه را توجیه کنند.

به‌منظور بررسی صفات مربوط به شکل دانه در ۸۵ ژنوتیپ برنج، با استفاده از ۶ نشانگر iPBS، یک نشانگر IRAP و ۹ نشانگر ISSR پژوهشی انجام شد (Shirmohammadli et al., 2018). در تجزیه ارتباطی بر اساس تجزیه رگرسیون بین صفات فنوتیپی و نشانگرهای مورد بررسی، ۲۳ نشانگر برای صفات مورفولوژیکی شناسایی شدند. از بین آلل‌های شناسایی شده آلل‌های ISSR1-2، IPBS2241-2، ISSR16-4 و IPBS2240-1 به‌طور مشترک با چندین صفت مرتبط بودند. عزیزی و همکاران (Azizi et al., 2017) ارتباط بین صفات زراعی و ۲۵ نشانگر ریز ماهواره را بر روی ۱۲۱ لاین و رقم برنج مورد ارزیابی قرار دادند. در تجزیه ارتباطی با دو روش GLM و MLM، به ترتیب ۲۶ و ۳۰ نشانگر، ارتباط معنی‌داری را با صفات مورد مطالعه نشان دادند و تغییرات قابل توجیهی از این صفات را توجیه کردند. نتایج تجزیه ارتباطی ژنتیکی ارقام برنج نسبت به تنش شوری نشان داد، نشانگرهای آگاهی‌بخش و معنی‌داری مانند RM10136، RM10655، RM3412 توانستند بخش قابل‌توجهی از تغییرات فنوتیپی صفات مربوط به تحمل به شوری را توجیه نمایند (Sabouri et al., 2012). هدف از این پژوهش شناسایی و بررسی نشانگرهای آگاهی‌بخش مرتبط با صفات زراعی در شرایط کم آبیاری موردنظر در ۵۹ ژنوتیپ برنج با استفاده از سیستم نشانگری ریزماهواره می‌باشد.

می‌کند (Noryan et al., 2021; Giasi Oskoei et al., 2014). کنترل سازگاری‌های مرتبط با تنش در گیاهان، توسط ژن‌ها انجام می‌شود و در شرایط تنش و گاهی در شرایط غیرتنش عمل می‌کنند (Bouman and Tuong, 2001). برای شناسایی نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات کمی، دو روش وجود دارد. روش اول نقشه‌یابی پیوستگی^۱ است که با استفاده از جمعیت‌های در حال تفرق مانند نسل F2، تلاقی برگشتی و هاپلوئیدهای مضاعف انجام می‌شود (Razi et al., 2019; Henareh et al., 2018). این روش در گیاهان چندساله و درختان باغی به دلیل زمان زیاد برای تولید جمعیت‌های مصنوعی و حساس بودن برخی از گونه‌ها به خویش‌آمیزی، با وجود موفقیت‌های زیاد در رابطه با نقشه‌یابی پیوستگی در شناسایی QTLها، کاربردی به نظر نمی‌رسد (Doulati Baneh et al., 2014). یکی دیگر از نقاط ضعف این روش پایین بودن وقوع نوترکیبی است که در طی روند تهیه جمعیت‌های در حال تفرق ایجاد می‌شود و مکان‌یابی دقیق را ممکن نمی‌سازد (Taheri et al., 2015). روش دوم تجزیه ارتباطی یا نقشه‌یابی بر مبنای عدم تعادل پیوستگی است که تحت عنوان یک روش جایگزین یا مکمل جهت شناسایی ارتباط بین نشانگر و صفت استفاده می‌شود (Yu and Buckler, 2006). این روش در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات از عواملی مثل ساختار جمعیت، اندازه نمونه و فراوانی آللی می‌تواند تأثیر بپذیرد و ارتباطات دروغین نشانگرصفت را ایجاد کند (Shirmohammadli et al., 2018). مطالعه ساختار جمعیت و رابطه خویشاوندی در جمعیت‌های مورد بررسی، باید برای کاهش نتایج دروغین در مطالعات مربوط به تجزیه ارتباطی لحاظ شود (Razi et al., 2019). روش نقشه‌یابی ارتباطی علاوه بر نقشه‌یابی دقیق‌تر، با ژرم‌پلاسم‌های دارای تنوع ژنتیکی بیشتر سازگار بوده و اجازه نقشه‌یابی چندین صفت به‌طور هم‌زمان را می‌دهد؛ بنابراین، برای هر صفت موردنظر نیازی به ایجاد جمعیت‌های دو والدی که خود باعث هزینه اضافی جهت ارزیابی ژنوتیپی و فنوتیپی می‌شود، نیست. همچنین این روش به‌طور گسترده در ژنتیک انسانی و جانوری که در آن‌ها ایجاد جمعیت‌های در حال تفرق بزرگ غیرممکن است، استفاده می‌شود (DeWan et al., 2006). رئیسی و صبوری (Raiesi and sabouri, 2015) پژوهشی در راستای اعتبارسنجی

³ Multiple linear model

¹ Linkage mapping

² General linear model

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: مواد ژنتیکی به درخواست نویسنده مسئول و طبق قرارداد بین دانشگاه گنبدکاووس و مؤسسه بین‌المللی برنج واقع در کشور فیلیپین دریافت شد. ژنوتیپ‌ها بیشتر در مناطق دارای آب کم در خارج از ایران مورد زراعت قرار می‌گیرند و همچنین دارای ویژگی‌های کیفی مناسب از نظر فیزیک دانه (دانه بلند) هستند.

به‌منظور بررسی تجزیه‌ارتباطی صفات زراعی با نشانگرهای ریزماهواره در ژنوتیپ‌های مختلف برنج در شرایط غرقاب و کم‌آبیاری و جهت بررسی تحمل ژنوتیپ‌های برنج به تنش خشکی و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس در بین ۵۹ ژنوتیپ مؤسسه تحقیقات برنج کشور و مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (جدول ۱) پژوهشی در قالب طرح‌بلوک‌های کامل تصادفی در دو شرایط جداگانه، بدون تنش (غرقاب) و کم‌آبیاری با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۲ در مزرعه پژوهشی شهرستان علی‌آبادکتول با مختصات جغرافیایی ۵۰° ۵۸' ۳۶" شمالی و ۵۰° ۵۴' ۲۵" شرقی انجام شد.

این منطقه دارای اقلیم معتدل و مرطوب و زمستان‌های سرد و تابستان‌های گرم می‌باشد. در هر دو شرایط (نرمال و

تنش خشکی) ژنوتیپ‌ها در پنج ردیف به صورت ۲۵ × ۲۵ سانتی‌متر در ردیف‌هایی به طول یک متر کشت شدند. سی روز پس از کاشت در خزانه، گیاهچه‌های سالم و قوی به زمین اصلی منتقل شدند. عملیات زراعی موردنیاز در طول دوره رشد و نمو بوته‌ها در شرایط تنش و نرمال به طور یکسان انجام شد و فقط از نظر آبیاری تا مرحله پنجه‌دهی ژنوتیپ‌ها، آبیاری مزرعه آزمایشی در دو محیط غرقاب و تنش، به صورت یکسان و غرقاب انجام شد. نهایتاً از ۴۰ روز بعد از نشاء تا پایان فصل زراعی به فاصله ۲۵ روز یکبار برای اعمال تنش آبیاری انجام شد. پتانسیل آب خاک در ابتدای اعمال تنش ۸- و در پایان کشت به ۲۵- بار رسید. اندازه‌گیری‌ها برای ۱۰ نمونه تصادفی برای هر واحد آزمایشی انجام شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل طول خوشه (سانتی‌متر)، تعداد خوشه‌چه، تعداد دانه پوک، طول خروج خوشه (سانتی‌متر)، طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، تعداد دانه کل خوشه، ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، تعداد خوشه، وزن کاه، وزن خوشه (گرم)، وزن کل بوته (گرم)، مساحت برگ پرچم (سانتی‌متر مربع)، باروری، دانه در خوشه، وزن دانه در خوشه (گرم)، عملکرد در هکتار، تعداد روز تا خوشه‌دهی، تعداد روز تا رسیدگی، دوره پرشدن دانه، شاخص برداشت می‌باشد.

جدول ۱. ژنوتیپ‌های مورد بررسی در شرایط غرقاب و کم‌آبیاری

Table 1. Genotypes studied under flooding and low irrigation conditions

شماره number	ژنوتیپ‌ها genotypes	شماره number	ژنوتیپ‌ها genotypes	شماره number	ژنوتیپ‌ها genotypes	شماره number	ژنوتیپ‌ها genotypes
1	IR55419-04	16	IR60080-42	31	LINE 213	46	IR65907-116-1-B
2	IR77298-5-6	17	سنگ جو	32	عنبربوی ایلام	47	IR65261-09-1-B
3	IR60080-48	18	USEN	33	IR66417-18-1-1-1	48	IR30
4	IR68702-072-1-4-B	19	IR67015-49-2-6	34	CT6516-24-3-2	49	IR62761-20
5	Panda	20	IRAT170	35	IR7471-199-1-302	50	IR 55411-50
6	Way Rarem	21	IR62752-07	36	IRGC-15092RT-1031-62	51	IRAT216
7	IRFAON-308	22	Palawan	37	B6144F-MR-6-0-0	52	SAMBA
8	IR 53236-342	23	IR55423-01	38	IR69626B	53	MAHSURI
9	IR 47686-12-5-B-1	24	CT6510-24-7-8	39	WAB638-1	54	IR70358-84-1-1
10	IR66424-1-2-1-5	25	NONABOKA	40	IR60080-46A	55	CT6510-24-7-8
11	IR57924-24	26	IR3441-97	41	Pegaso	56	IR60080-46A
12	Caiapo	27	DAGADESHI	42	IR63371-38	57	UPLRi-7
13	IR63377-08	28	IR63372-15	43	CT13382-8-3-M	58	LINE226
14	CT6510-24-1-2	29	IR70360-38-1-B-1	44	IRAT177	59	LINE 835
15	IR63380-08	30	IRAT212	45	IR66421-062-1-1-2		AUS196

استخراج DNA از برگ‌های جوان گیاهچه‌ها در مرحله چهارم برگری و به روش CTAB صورت گرفت (Murray and Thompson, 1980). برای تعیین کمیت و کیفیت DNA

استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) استخراج DNA در آزمایشگاه اصلاح نباتات و ژنتیک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گنبدکاووس انجام گرفت.

که در آن P_{ij} فراوانی ژامین آلل از نشانگر i ، n : تعداد کل آلل‌های مشاهده شده برای مکان نشانگری بود. رابطه بین داده‌های مولکولی و صفات مورد بررسی ژنوتیپ‌های برنج با رگرسیون چندگانه مورد بررسی قرار گرفت. نشانگرهای ریزماهواره و صفات کمی به ترتیب به‌عنوان متغیرهای مستقل و وابسته در نظر گرفته شدند. در این روش به ترتیب برای بررسی نشانگرهای دارای اطلاعات، هر کدام از آلل‌ها به ترتیب وارد مدل شدند و در هر مرتبه معنی‌داری مدل و هر کدام از متغیرهای مستقل (آلل‌های تکثیر شده از هر نشانگر) توسط آماره F مورد آزمون قرار گرفت تا زمانی که آلل جدید وارد شده به مدل اثر معنی‌دار بر مدل نهایی نداشت. تجزیه ارتباط به روش رگرسیون با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

استخراجی از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز آگار یک درصد استفاده شد. واکنش PCR به روش تاج‌داون با استفاده از ۳۶ آغازگر ریزماهواره (جدول ۲) صورت گرفت. جهت تفکیک محصولات PCR از الکتروفورز ژل پلی آکریل‌آمید ۶ درصد و برای آشکارسازی الگوی نواریندی از روش رنگ آمیزی نیترات نقره (An et al., 2009) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

محتوای اطلاعات چند شکل^۴ (PIC) با رابطه ۱ محاسبه شد (Botstein et al., 1980)

$$P_{ij} = 1 - \sum_j^n = 1 - P_{ij}^2 \quad [1]$$

Table 2. Characteristics of SSR markers studied

جدول ۲. ویژگی‌های نشانگرهای SSR مورد مطالعه

نشانگرها Markers	آغازگر همسو Forward Primer	آغازگر معکوس Reverse Primer
RM462	CCGCGAATCCATTGCACTGC	TCTAGGAGGAGATGGCGGAGTAGC
RM3148	GCTTTGGTATTGTCAGGTTACAG	CTATTGCTCGAACACTTTGCTTCTCC
RM6324	CTGTACAAGAACGGCAGCAACC	GCACCACAAACAGAGACAGAGG
RM6230	ATGCATGCAAGCGAATTTACACC	GCCGTTCTTCTGATGACATGG
RM3294	CTCGTCTCTCATGCATATCAGC	TGCCCTCGCTTTGTCTTACTCC
RM5780	TGCCACAGAGTAGCATCAAACG	ACTAGCTGTCATCTTCTACTGC
RM132	CTTTCTCTCGCTACGCCTTCC	TCGACGAGGTTGATCAGTAGGG
RM523	TGAATTCCTTGACATGGTCAGC	TGGGAGGTTTGTAGGGTAATCC
RM5761	AAGATTACCCGGGATTGTAGTGG	AGTCTAGTCGCCTCTTACATGG
RM8213	TGTTGGGTGGGTAAGTAGATGC	CCCAGTGATACAAAGATGAGTTGG
RM3658	GTAGCACTCCGCTGCTTCGTCTCC	AATCCCACCCGCTCATCTCC
RM5424	TAAAGGTGTCCGACAAGAACACG	GATCGATCTGGAGGATGAAAGG
RM3419	TGCTGCTATTCTCAAGACAAACC	CTTGGTGAAACAGTGTCTCTGG
RM7118	CACGCGTAGCTAAGCATCAAGC	GATCAAAGATGCGTGTACGTTGG
RM5140	GGCACTCGTATTTCTCAACTTCTCC	GGGTGTATCAGGAGTACAGGTTGC
RM7420	CACAAAGCAAGCACCCAGAAGG	TCATGGCGTGAAGGAAGGAAGG
RM6773	GCTGCTCCACCTTACCTTCC	CGATGGTGTGTTGTTGGTTGC
RM549	ATCCCTGAACCCAAATCTGTCTG	CTCTTTGATCTTCCGGTGATTCCG
RM427	TTGAGCTGATGAGAGTTGGTTGC	CTGTCACTAGCTCTGCCCTGACC
RM5711	GGACGGAAGGAATACGTCGTAGG	CTGTCCATGCATCCATCTTAGC
RM3583	ACCATGAGGTCCACTTGATACGC	GCCATGTCATCATCTGATCTCTTCC
RM8005	CATTCCAGCGTGGATATTCG	CTTTGTCCATCTCGCCGACTCC
RM38	ACGAGCTCTCGATCAGCCTAGC	CACCTCATGGAAGAGGCAAGC
RM5647	GTTCCATCCAGACATTGTAGAAGC	TAAACTTGGTCGTGGACAGTGC
RM8206	AATCCACTGGCCCTAATCTTCC	CACTGCTGCTTCTTCTCTTGC
RM7038	GATTAGAGCTTTGGTGGTTCTTGG	ACTTGTGGTCGGTCTGGTAGTCC
RM5652	CGCGTAGCTAAGCATCAA	TCAAAGATGCGTGTACGTT
RM474	TACACGAGGGAGTACTCGAATGG	CATGGAGGTATAGAAGAGCATTGG
RM6179	GCGCCCGGAGATGATAAGC	AGCGGCATCTCGTCCATCTCC
RM7545	GTTCCATATCCGTGCTATTCG	CACGATTCTACAATACGAGAGC
RM441	AAGGGAGTAGCCTTCCATCTCC	GTGCTGACTCCTCTCCTGTC
RM3625	TGCAATTCATCCACCCATCTCG	ACGAGTGCACGCTGTCTATTGG
RM7091	GCTGCAGATAGATGTGGATGGTATGG	AGATGCCATGTGGCGGTTTAGG
RM512	TGCAGTGAATGGAGACCACTAGC	CGGTGAGTCCCATATCTTCAACC
RM6022	ATCAATCGCTCATCGAATCAGC	TCGACTGGACTCCATTACTCG
RM519	AATTTCCGCGAAATCAGCATCC	TCATCTGGACAGTCCGAGGTACGC

⁴ Polymorphism Information Content

نتایج و بحث

بررسی شد. ارزش PIC بین ۰/۲۱ (RM252) تا ۰/۷۶ (S07024) بود. در این مطالعه میانگین PIC برابر با ۰/۵۷۱۳ به دست آمد که بسیار نزدیک به پژوهش حاضر است. نشانگر RM5647 بیش‌ترین میزان محتوای اطلاعات چندشکل را در این مطالعه نشان داد که به‌عنوان برترین نشانگر برای بررسی تنوع ژنی در منطقه کروموزوم ۸ از ژنوم برنج شناسایی شد. حبیب و همکاران (Habib et al., 2013) در پژوهشی پنج نشانگر ریزماهوره (SSR) (RM107، RM72، RM27، RM2، RM154) را برای بررسی تنوع ژنتیکی هشت رقم برنج مورد استفاده قرار دادند. ۲۳ آلل برای تمام نشانگرها SSR در ارقام با میانگین ۴/۶ به‌دست آمد که مقدار کمتری نسبت به میانگین به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر دارد.

محتوی اطلاعات چند شکل یکی از معیارهای ارزیابی قدرت تمایز نشانگرها بوده و معیار دقیق‌تری نسبت به میزان تنوع هر ژن می‌باشد که مستقل از تعداد نمونه مورد مطالعه است (Botstein et al., 1980). ۳۶ نشانگر ریزماهوره SSR در کل ۱۸۹ آلل با میانگین ۵/۲۵ به‌ازای هر جایگاه نشانگری ایجاد نمود. محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) از ۰/۳۲ تا ۰/۸۱ متغیر بود و میانگین آن ۰/۵۸ برآورد گردید. نشانگر RM5647 با ۰/۸۱ بیشترین مقدار PIC و نشانگر RM6022 با ۰/۳۲ کمترین مقدار PIC دارا بودند. تنوع ژنتیکی ۱۴ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۴۰ نشانگر ریز ماهوره توسط فریدول اسلام و همکاران (Faridul Islam et al., 2012)

جدول ۳. محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) برای هر نشانگر SSR

Table 3. Polymorphic information content (PIC) for SSR markers

PIC	نشانگرها marker	PIC	نشانگرها marker	PIC	نشانگرها marker	PIC	نشانگرها marker
0.62	RM474	0.70	RM427	0.39	RM8213	0.37	RM462
0.64	RM6179	0.51	RM5711	0.67	RM3658	0.52	RM3148
0.38	RM7545	0.56	RM3583	0.58	RM5424	0.63	RM6324
0.60	RM441	0.53	RM8005	0.75	RM3419	0.60	RM6230
0.67	RM3625	0.62	RM38	0.72	RM7118	0.58	RM3294
0.75	RM7091	0.81	RM5647	0.35	RM5140	0.74	RM5780
0.67	RM512	0.67	RM8206	0.42	RM7420	0.51	RM132
0.32	RM6022	0.68	RM7038	0.40	RM6773	0.57	RM523
0.60	RM519	0.81	RM5652	0.68	RM549	0.34	RM5761

مساحت برگ پرچم (۹/۲ درصد) و بیشترین و کمترین R^2_{max} در شرایط نرمال به ترتیب مربوط به صفات تعداد دانه کل خوشه (۲۴/۶) و ارتفاع بوته (۸/۷) می‌باشد. در شرایط کم آبیاری نیز، مجموع ضریب تبیین برای صفات طول خوشه، تعداد خوشه‌چه، تعداد دانه پوک، طول خروج خوشه، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، تعداد دانه دانه کل خوشه، ارتفاع بوته، تعداد خوشه، وزن کاه و وزن خوشه به ترتیب ۲۵/۹، ۲۷/۶، ۲۰/۸، ۱۱/۹، ۴۱/۷، ۱۱/۹، ۴۵، ۱۶/۹، ۴۱/۷، ۱۱/۹، ۲۰/۸، ۱۱/۹، ۷/۱، ۱۲/۲، ۱۸/۱، ۲۵/۳، ۱۷/۱، ۸/۵، ۱۸/۹، ۸/۷، ۱۲، ۱۱/۹، ۷/۱، ۱۲/۲، ۱۸/۱ و ۱۶/۷ بود. همچنین صفات وزن کل بوته، مساحت برگ پرچم، باروری، تعداد دانه پر، وزن دانه پر، وزن دانه پر خوشه، عملکرد در هکتار، تعداد روز تا خوشه‌دهی، تعداد روز تا رسیدگی، دوره پر شدن دانه و شاخص برداشت به ترتیب دارای R^2_{max} برابر با ۱۶/۶، ۵۳/۳، ۵۷/۸، ۷۰/۷ و به ترتیب دارای R^2_{max} برابر با ۱۸/۱، ۱۲/۲، ۷/۱، ۱۱/۹، ۱۲، ۸/۷، ۱۸/۹، ۸/۵، ۱۷/۱، ۲۵/۳، ۱۷/۱، ۱۹/۹، ۳۳/۶، ۳۵/۸، ۷/۸، ۴۹/۱۸۶، ۳۳/۶، ۱۹/۹، ۵۰/۲، ۶۷/۷، ۶۲/۶، ۳۱/۶ و ۵۷/۸ و R^2_{max} برابر با ۲۴/۷

در شرایط نرمال، مجموع ضریب تبیین برای صفات طول خوشه، تعداد خوشه‌چه، تعداد دانه پوک، طول خروج خوشه، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، تعداد دانه کل خوشه، ارتفاع بوته، تعداد خوشه، وزن کاه و وزن خوشه به ترتیب ۴۳/۳، ۳۳/۵، ۲۳/۸، ۱۷/۲، ۴۴/۱، ۱۸/۸، ۸۳/۴، ۱۶/۸، ۶۷/۸، ۵۷/۹ و ۳۲/۲ و به ترتیب دارای R^2_{max} برابر با ۲۳/۵، ۲۳/۵، ۹/۹، ۱۱/۲، ۱۵/۸، ۱۰/۳، ۱۴/۵، ۱۰/۵، ۲۴/۶، ۸/۷، ۱۲/۸، ۱۲/۱ و ۱۱/۲ بود. همچنین صفات وزن کل بوته، مساحت برگ پرچم، باروری، تعداد دانه پر، وزن دانه پر، وزن دانه پر خوشه، عملکرد در هکتار، تعداد روز تا خوشه‌دهی، تعداد روز تا رسیدگی، دوره پر شدن دانه و شاخص برداشت به ترتیب دارای R^2_{max} برابر با ۱۸، ۹/۲، ۵۳/۱، ۲۵/۱، ۴۰/۲، ۴۳/۲، ۶۹/۵، ۵۱، ۳۹/۷ و ۳۴/۲ و R^2_{max} برابر با ۱۰/۸، ۹/۲، ۱۵/۱، ۱۳/۴، ۱۱/۷، ۱۰/۲، ۱۹/۵، ۱۷/۹، ۱۵/۵ و ۱۳/۱ هستند. به‌این ترتیب بیشترین و کمترین R^2_{max} (ضریب تبیین) کل در شرایط نرمال به ترتیب مربوط به صفت تعداد دانه کل خوشه (۸۳/۴ درصد) و

را به خود اختصاص دادند و وزن کاه (۲۵/۳) بیشترین و مساحت برگ پرچم (۷/۸) کمترین R^2_{max} را به خود اختصاص دادند. R^2_{max} و مساحت برگ پرچم (۷/۸) کمترین R^2 کل هستند. به این ترتیب در شرایط کم آبیاری وزن خوشه بیشترین (۷۰/۷) و مساحت برگ پرچم (۷/۸) کمترین R^2 کل

جدول ۴. تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات در شرایط نرمال و درصد تغییرات توجیه شده

Table 4. The number of linked informative markers associated with traits under normal conditions and the percentage of changes explained by these markers.

T [§]				T [§]					
Traits	صفات	Number of marker	R ² max [†] %	R ² T [‡] %	Traits	صفات	R ² max [†] %	R ² T [‡] %	
Panicle length	طول خوشه	4	23.5	43.3	Plant weight	وزن بوته	2	10.8	18
Branches number	تعداد خوشه چه	4	9.9	33.5	Flag leaf area	مساحت برگ پرچم	1	9.2	9.2
Unfilled grain number	تعداد دانه پوک	2	15.8	23.8	Fertility	باروری	5	15.1	53.1
Panicle exertion	طول خروج خوشه	2	10.3	17.2	Filled Grain number	تعداد دانه پر خوشه	2	13.4	25.1
Flag leaf length	طول برگ پرچم	4	14.5	44.1	Weight of filled grain	وزن دانه پر خوشه	4	11.7	40.2
Flag leaf width	عرض برگ پرچم	2	10.5	18.8	Yield per hectare	عملکرد در هکتار	5	10.2	43.2
Number of grain per panicle	تعداد دانه کل خوشه	7	24.6	83.4	Days to flowering	تعداد روز تا خوشه دهی	9	19.5	69.5
Plant height	ارتفاع بوته	2	8.7	16.8	Days to maturity	تعداد روز تا رسیدگی	5	17.9	51
Number of panicle	تعداد خوشه	9	12.8	67.8	Grain filling period	دوره پر شدن دانه	4	15.5	39.7
Straw weight	وزن کاه	8	12.1	57.9	Harvest index	شاخص برداشت	4	13.1	34.2
Panicle weight	وزن خوشه	4	11.2	32.2					

§ T: Number of informative markers

† R²max: Highest of coefficient of determination (%)

‡ R²T: Total coefficient of determination for informative markers (%)

§ T: تعداد نشانگرهای آگاهی بخش

† R²max: بیشترین ضریب تبیین مربوط به یک نشانگر (درصد)

‡ R²T: مجموع ضریب تبیین نشانگرهای آگاهی بخش (درصد)

است. بادپردست و همکاران (Badirdast et al., 2021) با بررسی ژنوتیپ‌های برنج در شرایط غرقاب و تنش خشکی دریافتند ضریب تبیین در مجموع نشانگرهای آگاهی‌بخش در شرایط بدون تنش از ۹۸/۰ الی ۲۲/۰ درصد و در شرایط تنش خشکی نیز از ۸۹/۰ تا ۲۵/۰ درصد متغیر بود. در شرایط بدون تنش آلل ipBS2224-6 برای صفت طول برگ پرچم (۰/۹۸) و در شرایط تنش خشکی آلل ISSR16-6 برای صفت وزن کل خوشه‌ها (۰/۸۹) بیشترین ضریب تبیین را به خود اختصاص دادند. مقدار قابل توجهی از تغییرات مورفولوژیکی با استفاده از آغازگر ISSR22 با بالاترین محتوای چندشکلی (۰/۴۹) توجیه شد.

کم‌بودن میزان ضریب تبیین برای اکثر نشانگرها نشان‌دهنده توجیه بخش کمی از تغییرات این صفات از طریق مکان‌های ژنی شناسایی شده و بنابراین تأثیر بیشتر محیط (نسبت به آثار ژنتیکی) روی تغییرات این صفات می‌باشد. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2011) تجزیه ارتباطی ۱۱ صفات زراعی با ۷۰ نشانگر ریزماهوره را در جوهای بومی بررسی کردند. تعداد گره بیشترین تعداد نشانگر و تعداد برگ و طول رادیکل کمترین تعداد نشانگر را داشتند. همچنین بیشترین و کمترین R^2 کل به ترتیب مربوط به صفت عرض دانه و بیرون‌زدگی رادیکل بود. بیشترین R^2_{max} مربوط به صفت ارتفاع و کمترین آن مربوط به بیرون‌زدگی رادیکل

شرایط نرمال ۸۹ نشانگر و در شرایط کم آبیاری ۸۷ نشانگر برای صفات مورفولوژیکی شناسایی شد. ۹ نشانگر برای تعداد خوشه و تعداد روز تا گلدهی در شرایط نرمال و ۹ نشانگر برای وزن خوشه در شرایط کم آبیاری بیشترین نشانگرهای مثبت را نشان دادند.

بر اساس نتایج رگرسیون چندگانه در محیط نرمال و کم آبیاری، مجموعاً ۱۷۶ مکان ژنی برای هر یک از صفات مورد مطالعه به دست آمده است (جدول ۶ و ۷). بر اساس نتایج به دست آمده از تجزیه ارتباطی با استفاده از رگرسیون گام‌به‌گام برای صفات مورفولوژیک و داده‌های مولکولی، در

جدول ۵. تعداد نشانگرهای آگاهی بخش پیوسته با صفات در شرایط کم آبیاری و درصد تغییرات توجیه شده

Table 5. The number of linked informative markers associated with traits under low irrigation conditions and the percentage of changes explained by these markers.

T [§]				T [§]					
Traits	صفات	Number of marker	R ² max [†] %	R ² T [‡] %	Traits	صفات	Number of marker	R ² max [†] %	R ² T [‡] %
Panicle length	طول خوشه	2	18.1	25.9	Plant weight	وزن بوته	5	24.7	49.6
Branches number	تعداد خوشه چه	3	12.2	27.6	Flag leaf area	مساحت برگ پرچم	1	7.8	7.8
Unfilled grain number	تعداد دانه پوک	3	7.1	20.8	Fertility	باروری	3	16.2	35.8
Panicle exertion	طول خروج خوشه	1	11.9	11.9	Filled Grain number	تعداد دانه پر خوشه	3	13.1	33.6
Flag leaf length	طول برگ پرچم	5	12	41.7	Weight of filled grain	وزن دانه پر خوشه	2	11.8	19.9
Flag leaf width	عرض برگ پرچم	2	8.7	16.9	Yield per hectare	عملکرد در هکتار	6	16.6	50.2
Number of grain per panicle	تعداد دانه کل خوشه	4	18.9	45	Days to flowering	تعداد روز تا خوشه دهی	8	18.3	67.7
Plant height	ارتفاع بوته	2	8.5	16.6	Days to maturity	تعداد روز تا رسیدگی	7	19.2	62.6
Number of panicle	تعداد خوشه	3	17.1	53.3	Grain filling period	دوره پر شدن دانه	3	16.5	31.6
Straw weight	وزن کاه	6	25.3	57.8	Harvest index	شاخص برداشت	7	12.4	57.8
Panicle weight	وزن خوشه	9	16.7	70.7					

§ T: Number of informative markers

† R²max: Highest of coefficient of determination (%)

‡ R²T: Total coefficient of determination for informative markers (%)

§ T: تعداد نشانگرهای آگاهی بخش

† R²max: بیشترین ضریب تبیین مربوط به یک نشانگر (درصد)

‡ R²T: مجموع ضریب تبیین نشانگرهای آگاهی بخش (درصد)

به‌نژادی گیاهان دارد، زیرا گزینش هم‌زمان چند صفت را امکان‌پذیر می‌سازد (Tuberosa et al., 2002). ارتباط چند نشانگر با یک صفت خاص حاکی از ماهیت توارث کمی و چند ژنی صفات مورد ارزیابی می‌باشد.

باتوجه به نتایج حاصل از تجزیه ارتباطی در شرایط نرمال مشخص شد که مکان ژنی RM5761-B بیشترین درصد از تغییرات طول خوشه (۰/۲۳) و تعداد دانه پر در خوشه (۰/۱۳) را توجیه می‌نماید. مکان ژنی RM5780-B بیشترین درصد

بیشترین توجیه تغییرات در شرایط نرمال مربوط به صفت تعداد دانه کل خوشه (۰/۸۳) توسط مکان‌های ژنی RM549-B, RM5761-D, RM5652-E, RM6324-E, RM462-B, RM7420-D و RM6179-F تبیین شد. در شرایط کم آبیاری بیشترین توجیه تغییرات مربوط به صفت وزن خوشه (۰/۷۰) توسط مکان‌های ژنی RM7545-A, RM6179-E, RM3525-B, RM519-D, RM7118-G, RM5647-B, RM38-C, RM5761-B و RM7091-A تبیین شد. شناسایی نشانگرهای مشترک اهمیت زیادی در

جدول ۶. نتایج تجزیه ارتباطی با استفاده از رگرسیون پیشرو برای صفات مورفولوژیک و داده‌های مولکولی در ژنوتیپ‌های مختلف برنج در شرایط نرمال

Table 6. Results of associated analysis using forward regression for morphological traits and molecular data in different rice genotypes under normal conditions

Traits	تعداد نشانگر No Markers	نشانگرهای آگاهی‌بخش Informative marker	R ² تصحیح شده Adjusted R ²	ضریب تبیین R Termination coeff	سطح معنی‌داری P-value
Panicle length طول خوشه	4	RM5761-B, RM6324-E, RM7038-B, RM3658-E,	0.433	0.472	0.000
Branches number تعداد خوشه چه	4	RM3294-D, RM441-D, RM3658-G, RM7420-D	0.335	0.381	0.000
Unfilled grain number تعداد دانه پوک	2	RM441-D, RM5424-B	0.238	0.264	0.000
Panicle exertion طول خروج خوشه	2	RM7118-C, RM8206-D	0.172	0.200	0.002
Flag leaf length طول برگ پرچم	4	RM3294-C, RM8206-B, RM549-E, RM6230-C, RM5140-A	0.441	0.489	0.000
Flag leaf width عرض برگ پرچم	2	RM7091-E, RM549-E	0.188	0.216	0.001
Grains per panicle تعداد دانه کل خوشه	7	RM6324-E, RM5652-E, RM5761-D, RM6179-F, RM549-B, RM462-B, RM7420-D	0.834	0.854	0.000
Plant height ارتفاع بوته	2	RM5711-C, RM7420-C	0.168	0.196	0.002
Number of panicle تعداد خوشه	9	RM3658-B, RM5652-B, RM7420-D, RM512-F, RM5780-E, RM427-D, RM6230-A, RM549-C, RM3148-D	0.678	0.828	0.000
Straw weight وزن کاه	8	RM523-A, RM3658-G, RM5652-H, RM6324-A, RM7118-F, RM5780-A, RM512-C, RM6324-D	0.579	0.637	0.000
Panicle weight وزن خوشه	4	RM3419-A, RM5780-G, RM5647-D, RM474-E	0.322	0.369	0.000
Plant weight وزن کل بوته	2	RM523-E, RM6324-D	0.180	0.208	0.001
Flag leaf area مساحت برگ پرچم	1	RM6230-C	0.092	0.108	0.011
Fertility باروری	5	RM5711-C, RM519-D, RM441-D, RM5780-E, RM5647-E	0.531	0.571	0.000
Filled grain number تعداد دانه پر خوشه	2	RM5761-B, RM462-B	0.251	0.277	0.000
Weight of filled grain وزن دانه پر خوشه	4	RM5780-B, RM512-E, RM441-C, RM512-D	0.402	0.443	0.000
Yield per hectare عملکرد در هکتار	5	RM512-E, RM5780-B, RM441-C, RM512-B, RM512-F	0.432	0.481	0.000
Days to flowering تعداد روز تا خوشه دهی	9	RM6773-C, RM7545-A, RM5647-F, RM512-D, RM6179-A, RM132-A, RM5780-B, RM5761-F, RM441-D	0.695	0.743	0.000
Days to maturity تعداد روز تا رسیدگی	5	RM5711-C, RM3294-B, RM5652-H, RM5780-D, RM549-E	0.510	0.552	0.000
Grain filling period دوره پر شدن دانه	4	RM3625-C, RM5140-B, RM441-A, RM6324-D	0.397	0.438	0.000
Harvest index شاخص برداشت	4	RM7091-B, RM3658-D, RM519-B, RM132-E	0.342	0.387	0.000

جدول ۷. نتایج تجزیه ارتباطی با استفاده از رگرسیون گام به گام برای صفات مورفولوژیک و داده‌های مولکولی در ژنوتیپ‌های مختلف برنج در شرایط کم‌آبیاری

Table 7. Results of associated analysis using forward regression for morphological traits and molecular data in different rice genotypes under low irrigation conditions

Traits	تعداد نشانگر No	نشانگرهای آگاهی بخش Informative marker	R ² تصحیح شده		سطح معنی داری P-value
			Adjusted R ²	ضریب تبیین R Termination coeff.	
Panicle length طول خوشه	2	RM5761-B, RM7038-B	0.259	0.285	0.000
Branches number تعداد خوشه چه	3	RM3294-D, RM441-D, RM7420-D	0.276	0.314	0.000
Unfilled grain number تعداد دانه پوک	3	RM441-B, RM5652-B, RM3525-B	0.208	0.205	0.001
Panicle exertion طول خروج خوشه	1	RM7118-C	0.119	0.134	0.005
Flag leaf length طول برگ پرچم	5	RM3294-C, RM6230-B, RM6230-C, RM8206-B, RM549-E	0.417	0.468	0.000
Flag leaf width عرض برگ پرچم	2	RM7545-A, RM6324-D	0.169	0.198	0.002
Grains per panicle تعداد دانه کل خوشه	4	RM5761-C, RM519-D, RM5761-B, RM5424-C	0.450	0.489	0.000
Plant height ارتفاع بوته	2	RM5711-C, RM7420-C	0.166	0.195	0.003
Number of panicle تعداد خوشه	3	RM523-E, RM132-A, RM427-E	0.353	0.387	0.000
Straw weight وزن کاه	6	RM519-D, RM3658-D, RM7118-F, RM3525-B, RM5780-B	0.578	0.622	0.000
Panicle weight وزن خوشه	9	RM519-D, RM7545-A, RM6179-E, RM7118-G, RM3525-B, RM5761-B, RM38-C, RM7091-A, RM5647-B	0.707	0.753	0.000
Plant weight وزن کل بوته	5	RM519-D, RM3658-D, RM3525-B, RM6324-E, RM5652-H	0.496	0.540	0.000
Flag leaf area مساحت برگ پرچم	1	RM5711-C	0.078	0.094	0.019
Fertility باروری	3	RM549-E, RM6230-C, RM519-D	0.358	0.392	0.000
Filled grain number تعداد دانه پر خوشه	3	RM6230-C, RM519-D, RM5761-B	0.336	0.371	0.000
Weight of filled grain وزن دانه پر خوشه	2	RM3294-B, RM5761-B	0.199	0.277	0.001
Yield per hectare عملکرد در هکتار	6	RM8005-C, RM3658-F, RM3625-E, RM6230-D, RM519-D, RM5761-B	0.502	0.555	0.000
Days to flowering تعداد روز تا خوشه دهی	8	RM6773-C, RM7545-A, RM3525-B, RM512-D, RM132-A, RM3583-E, RM441-D, RM5780-B	0.677	0.723	0.000
Days to maturity تعداد روز تا رسیدگی	7	RM132-A, RM7545-A, RM5780-D, RM5647-H, RM8005-D, RM7420-A, RM549-E	0.627	0.673	0.000
Grain filling period دوره پر شدن دانه	3	RM5140-B, RM441-C, RM5780-D	0.316	0.352	0.000
Harvest index شاخص برداشت	7	RM7118-G, RM6179-E, RM7118-D, RM5652-G, RM132-B, RM7091-E, RM462-A	0.574	0.626	0.000

از تغییرات وزن دانه پر (۰/۱۱) و تعداد دانه پر در خوشه (۰/۱۷) را توجیه می‌نماید. در شرایط کم‌آبیاری مکان ژنی RM519-D بیشترین درصد از تغییرات وزن کاه (۲۵/۳)، وزن خوشه (۱۶/۷)، و وزن کل بوته (۲۴/۷) و تعداد دانه پر در

مکان ژنی RM5711-C بیشترین درصد از تغییرات ارتفاع بوته (۸/۷) و تعداد روز تا رسیدگی

طولانی لازم جهت ایجاد آن‌ها، روش تجزیه ارتباطی با از بین بردن این محدودیت‌ها اطلاعات نشانگری مناسبی را در اختیار محققان قرار می‌دهد.

نتیجه‌گیری نهایی

در این پژوهش، بررسی ارتباط بین صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی در برنج با استفاده از ۲۱ صفت زراعی و ۱۸۹ مکان ژنی حاصل از ۳۶ جفت نشانگر ریزماهواره بر روی ۵۹ ژنوتیپ برنج در شرایط غرقاب و کم آبیاری صورت گرفت. نشانگر RM6022 با ۰/۳۲ کمترین چندشکلی و RM5647 با ۰/۸۱ بیشترین چندشکلی را نشان دادند. بیشترین توجیه تغییرات در شرایط نرمال مربوط به صفت تعداد دانه کل خوشه (۰/۸۳) و در شرایط کم آبیاری بیشترین توجیه تغییرات مربوط به صفت وزن خوشه (۰/۷۰) تبیین شد. نتایج مطالعه حاضر کارایی استفاده از روش مکان‌یابی ارتباطی در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات ارزیابی شده در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه را نشان داد.

خوشه (۱۳/۱) را توجیه می‌نمایند. مکان ژنی RM5761-B بیشترین درصد از تغییرات طول خوشه (۱۸/۱) و مکان ژنی RM5761-C بیشترین درصد از تغییرات تعداد دانه کل خوشه (۱۸/۹) را توجیه نمودند. مکان ژنی RM549-E بیشترین درصد از تغییرات باروری (۱۶/۲) و مکان ژنی RM132-A بیشترین درصد از تغییرات تعداد روز تا رسیدگی (۱۹/۲) را توجیه نمودند. آگرا و همکاران (Agrama et al., 2007) با استفاده از مکان‌یابی ارتباطی، ارتباط ۱۲۳ نشانگر ریزماهواره را با صفات مختلف دانه در ۱۰۳ ژنوتیپ برنج مورد بررسی قرار دادند و علاوه بر تأیید مدل MLM، ارتباط معنی‌دار پنج مکان با صفات عملکرد دانه، عرض دانه، نسبت طول به عرض دانه، شش مکان با طول دانه و چهار مکان با وزن دانه را با استفاده از این مدل گزارش نمودند. ون و همکاران (Wen et al., 2009) نیز با استفاده از مدل MLM، نشانگرهای SSR مرتبط با صفات تاریخ خوشه‌دهی، ارتفاع گیاه و طول خوشه را روی کروموزوم شماره ۷ در ژرم‌پلاسما برنج چینی شناسایی و کارایی این روش را در شناسایی ارتباطات فنوتیپ‌نشانگر تأیید کردند.

در کل با توجه به محدودیت‌های روش نقشه‌یابی پیوستگی از قبیل در دسترس نبودن جمعیت‌های در حال تفرق و زمان

منابع

- Agrama, H.A., Eizenga, G.C., Yan, W., 2007. Association mapping of yield and its components in rice cultivars. *Molecular Breeding*. 19, 341-356.
- An, Z.W., Xie, L.L., Cheng H., Zhou, Y., Zhang, Q., He, X.G., 2009. A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. *Analytical Biochemistry*. 391, 77-9.
- Azizi, H., Aalami, A., Esfahani, M., Ebadi, A.A., 2017. Association and structure analysis of some of rice (*Oryza sativa* L.) genetic resources based on microsatellite markers. *Cereal Research*. 7, 1-16. [In Persian with English Summary].
- Badirdast, H.B., Salehi-Lisar, S.Y., Sabouri, H., Movafeghi, A., Gholamalalipour Alamdari, E., 2021. Identification of ISSR, IRAP and iPBS markers containing information on rice characteristics under two conditions of flooding and drought stress. *Journal of Cellular and Molecular Researches*. 34, 34-44. [In Persian with English Summary].
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M., Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32, 314-331.
- Bouman, B.A.M., Tuong, T.P., 2001. Field water management to save water and increase its productivity in irrigated lowland rice. *Agricultural Water Management*. 49, 11-30.
- DeWan, A., Liu, M., Hartman, S., Zhang, S.S.M., 2006. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science*. 314, 989-992.
- Doulati Baneh, H., Mohammadi, S.A., Abdollahi Mandoulakani, B., Rahmanpour, S., 2014. Association analysis for morphological traits in grapevine using SSR and AFLP markers. *Journal of Agriculture Biotechnology*. 6, 45-60.

- Ebrahimi, A., Naqvi, M., Sabokdast, M.R., Shelley Mirage Moradi, A., 2011. Analysis of microsatellite markers associated with agronomic traits in Iranian native barley. *Modern genetics*. 6, 35-43. [In Persian with English Summary].
- Faridul Islam, A.S. Raihan Ali, M., Gregorio, M., Rafiqul Islam, G.B.M., 2012. Genetic diversity analysis of stress tolerant rice (*Oryza sativa* L.). *African Journal of Biotechnology*. 11, 15123-15129
- Giasi Oskoei, M., Farahbakhsh, H., Sabouri, H., Mohamadinejad, G., 2014. Evaluation of rice cultivars in drought and normal conditions based on sensitive and tolerance indices. *Journal of Crop Production*. 6(4), 55-75. [In Persian with English Summary].
- Habib, M., Bhat, K.A., Bhat, M.A., Parray, G.A., Dar, Z.A., Zaffar, G., 2013. Genetic diversity of important rice cultivars of Kashmir valley using microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology*. 12, 658-664.
- Henareh, M., Abdollahi Mandoulakani, B., Dursun, A., 2018. Association analysis of morphological traits in tomato using ISSR markers. *Iranian Journal of Horticultural Science*. 49, 173-183. [In Persian with English Summary].
- Nikzade Talebi, S., Aalami, A., Esfahni, M., Ebadi, A.A., 2016. Evaluation of allelic frequency and association analysis of microsatellite markers with some traits related to per-harvest sprouting in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 18, 49-62. [In Persian with English Summary].
- Noryan, M., Hervan, I. M., Sabouri, H., Kojouri, F.D., Mastinu, A., 2021. Drought Resistance Loci in Recombinant Lines of Iranian *Oryza sativa* L. in Germination Stage. *BioTech*. 10(4):26.
- Rabiei, B., Kordrostami, M., Sabouri, A., Sabouri, H., 2015. Identification of QTLs for yield related Traits in Indica type rice using SSR and AFLP markers. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 80, 91-99.
- Raiesi, T., Sabouri, H., 2015. Validation and association analysis of microsatellite markers related to drought and salinity tolerance in aerobic and Iranian rice under osmotic stress. *Journal of Crop Biotechnology*. 4, 57-72. [In Persian with English Summary]
- Razi, M., Amiri, M.E., Darvishzadeh, R., Doulati Baneh, H., Martinez Gomez, P., 2019. Association analysis and structure of part of grapevine (*Vitis vinifera* L.) germplasm by inter-simple sequence repeats (ISSR) markers. *Journal of Plant Production*. 26, 143-155. [In Persian with English Summary].
- Sabouri, A., Sabouri, H., Dadras, A.R., 2012. Analyze the relationship between molecular Markers large QTL effects associated with Saitol and Skc1 and related traits in rice Torlant salt. *Grains Research*, 3, 68-53. [In Persian with English Summary].
- Shirmohammadli, S., Sabouri, H., Ahangar, L., Ebadi, A.A., Sajadi, S. J., 2018. Genetic diversity and association analysis of rice genotypes for grain physical quality using iPBS, IRAP, and ISSR markers. *Journal of Genetic Resources*, 4(2): 122-129.
- Taheri, A., Seyedi, N., Abdollahi Mandoulakani, B., 2015. Association analysis of some physiological traits in Persian walnut under drought stress by SSR markers. *Iranian Journal of Forest*. 2, 209-223.
- Tuberosa, R., Gill, B.S., Quarrie, S.A., 2002. Cereal genomics: Ushering in a brave new world. *Plant Molecular Biology*. 48, 445-449.
- Verma, D.K., Srivastav, P.P., 2020. Bioactive Compounds of Rice (*Oryza sativa* L.): Review on Paradigm and Its Potential Benefit in Human Health. *Trends in food Science & Technology*. 97, 355-365.
- Wen, W., Mei, H., Feng, F., Yu, S., Huang, Z., Wu, J., Chen, L., Xu, X., 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.
- Yu, J., Buckler, E.S., 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current Opinion in Plant Biology*. 17, 155-160.