بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده تولید گیاهی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته
اصلاح نباتات

بررسی تنوع هاپلوتایپی QTL مرتبط با تحمل به خشکی روی کروموزوم شماره ۲ برنج

پژوهش و نگارش:
پرهام نیک‌سیر

اساتید راهنما:
دکتر سعید نواب‌پور
دکتر حسین صبوری

اساتید مشاور:
دکتر حسن سلطانلو
دکتر مسعود رحیمی

تابستان ۱۳۹۲

تعهدنامه پژوهشی

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه‌های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود؛ بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱- قبل از چاپ پایان‌نامه خود، مراتب را قبلا به طور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.
۲- قبل از چاپ پایان‌نامه در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد، ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.
۳- انتشار نتایج پایان‌نامه باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **پرهام نیک‌سیر** دانشجوی رشته **اصلاح نباتات** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی و امضاء

تقدیم به

والدین عزیزم

که در طول دوران تحصیل همواره مشوق و حامی من بوده اند.

تشکر و قدردانی

سپاس بی‌پایان، شایسته وجود پاک پروردگاری است که مرآفریدو در طول مسیر زندگی از نعمت هایش بهره‌مندم نمود. پروردگاری که وجودش سرچشمه زندگی است و لطف و عظمتش ادامه دهنده آن.

آن چه در این مجموعه حاصل شده است، نتیجه زحمات بزرگوارانی است که در مراحل این پژوهش مرا یاری رساندند که در اینجا به رسم ادب لازم می دانم مراتب سپاس و قدردانی خویش را تقدیم شان نمایم:

از اساتید راهنمای محترم جناب آقای دکتر سعید نواب پور و جناب آقای دکتر حسین صبوری که با قرار دادن امکانات اجرای پایان نامه در اختیار اینجانب و راهنمایی های ارزنده شان در تمام مراحل تحقیق، موجبات اجرای این پژوهش را فراهم کردند، نهایت سپاس را دارم.

از اساتید محترم مشاور جناب آقای دکتر حسن سلطانلو و جناب آقای مهندس مسعود رحیمی که با راهنمایی های مفیدشان در جهت انجام پایان نامه کمک نمودند تشکر می کنم.

چکیده

برنج از مهم‌ترین محصولات کشاورزی ایران و جهان است و بیش از نیمی از جمعیت جهان از آن تغذیه می‌کنند. خشکی یک عامل محدودکننده مهم در تولید این محصول است که اصلاح برای تحمل به خشکی می‌تواند یک روش مؤثر برای بهبود و پایداری عملکرد در مناطق خشک و کم‌آب باشد. به منظور بررسی تنوع هاپلوتایپی QTLهای کنترل‌کننده تحمل به خشکی در برنج، ۲۲ ژنوتیپ برنج به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و در محیط کنترل شده تحت شرایط نرمال و خشکی ارزیابی شدند. خصوصیات مورد مطالعه شامل قطر ریشه، وزن ریشه، تعداد ریشه، وزن ساقه، طول ساقه، طول ریشه، کد ژنوتیپی و بیوماس بود. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی نشان داد تفاوت بسیار معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۱) بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد مطالعه در دو شرایط نرمال رشد و تنش خشکی وجود داشت که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. رگرسیون مرحله‌ای برای کد ژنوتیپی بعنوان متغیر وابسته و سایر صفات بعنوان متغیرهای مستقل نشان داد که در شرایط تنش خشکی صفات طول ساقه، طول ریشه، قطر ریشه و وزن ریشه به‌ترتیب بیشترین تأثیر (R^2=۰/۶۹) را بر صفت کد ژنوتیپی داشتند. این مطالعه به منظور بررسی تنوع هاپلوتایپی ۱۶ جفت نشانگر ریزماهواره ناحیه QTL بزرگ اثر کنترل‌کننده تحمل به خشکی بر روی کروموزوم شماره ۲ برنج و ارزیابی صفات گیاهچه‌ای برخی ارقام ایرانی و خارجی به همراه دو شاهد متحمل Bala و حساس Azucena انجام گردید. براساس داده‌های فنوتیپی، ارقام برنج به دو گروه متحمل و حساس طبقه‌بندی شدند. در این مطالعه بیشترین تعداد آلل مربوط به نشانگر RM3302 و بیشترین تنوع ژنی و بالاترین PIC مربوط به نشانگر RM8030 بود. جهت ارزیابی تنوع هاپلوتایپی رقم متحمل Bala بعنوان مرجع، جهت مقایسه الگوی آللی ژنوتیپ‌ها در این ناحیه استفاده شد. براساس این پژوهش از ۱۵ گروه هاپلوتایپی، ۱۲ گروه مربوط به گروههای ژنوتیپی منفرد بود و هیچ‌یک از ژنوتیپ‌ها، مطابقت آللی از لحاظ همه جایگاه‌های نشانگری Bala نداشتند. گروه هاپلوتایپی شماره یک بیشترین شباهت را از نظر الگوی آللی یکسان با رقم Bala داشتند که می‌تواند بیانگر تأثیرگذاری آلل‌های موجود در QTL کنترل‌کننده تحمل به خشکی واقع بر روی کروموزوم شماره دو برنج در این ارقام باشد. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش می‌توان از ارقام متحمل به منظور تلاقی و تهیه جمعیت‌های مناسب برای برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود.

کلمات کلیدی: برنج، خشکی، هاپلوتایپی.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- اهداف ۱۰

فصل دوم: کلیات و بررسی منابع

۲-۱- تاریخچه کشت برنج ۱۲

۲-۲- مشخصات گیاه‌شناسی برنج ۱۲

۲-۳- تقسیم‌بندی ارقام برنج ۱۳

۲-۳-۱- ارقام برنج دیم ۱۳

۲-۳-۲- ارقام برنج آبی یا غرقاب ۱۳

۲-٤- تنش خشکی ۱۳

۲-۵- تأثیر تنش خشکی بر برنج ۱٦

۲-٦- نقشه‌های ژنتیکی و مکان‌یابی صفات کمی (QTLs) ۱۷

۲-۷- نشانگرهای مولکولی ۲۱

۲-۷-۱- نشانگرهای DNA غیرمبتنی بر PCR یا نشانگرهای مبتنی بر هیبریداسیون ۲۲

۲-۷-۱-۱- چندشکلی طول قطعات حاصل از هضم آنزیم‌های محدودکننده(RFLP) ۲۲

۲-۷-۲- نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR ۲۲

۲-۷-۲-۱- DNA چندشکل تکثیریافته تصادفی (RAPD) ۲۲

۲-۸- فراوانی، توزیع و سازماندهی ریزماهواره‌ها در داخل ژنوم ۲۳

۲-۸-۱- نشانگرهای ریزماهواره (SSR) ۲۳

۲-۸-۲- نشانگر SNP ۲٤

۲-۹- پلی‌مورفیسم (چندشکلی) ۲٤

۲-۱۰- هاپلوتایپ ۲۵

۲-۱۱- فاصله ژنتیکی ۲۵

۲-۱۲- تخمین فاصله و شباهت ژنتیکی ۲٦

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- ارزیابی فنوتیپی ۳۰
۳-۱-۱- بررسی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه ۳۰
۳-۲- استخراج DNA ۳۲
۳-۳- تعیین غلظت و کمیت DNA ۳٤
۳-٤- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR ۳۵
۳-۵- شرایط بهینه و انجام واکنش PCR ۳۵
۳-٦- الکتروفورز ژل عمودی ۳۷
۳-٦-۱- شستشو و آماده‌سازی دستگاه الکتروفورز ۳۷
۳-٦-۲- بارگذاری نمونه‌ها و انجام الکتروفورز ۳۹
۳-٦-۳- رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره ٤۰
۳-٦-٤- تجزیه‌های آماری و نرم‌افزارهای مورد استفاده برای تجزیه و تحلیل ٤۱

فصل چهارم: نتایج و بحث

٤-۱- ارزیابی تحمل به خشکی ارقام در مراحل گیاهچه و در شرایط کنترل شده ٤٤
٤-۱-۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در مجموع شرایط نرمال و تنش خشکی ٤٤
٤-۱-۲- مقایسه میانگین ارقام برای صفات مورد بررسی در مجموع شرایط نرمال و تنش خشکی ٤٦
٤-۱-۳- مقایسه شرایط کشت برای صفات مورد بررسی ٤۷
٤-۱-٤- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط نرمال ٤۸
٤-۱-۵- مقایسه میانگین ارقام در شرایط نرمال ٤۹
٤-۱-٦- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط تنش خشکی ۵۰
٤-۱-۷- مقایسه میانگین ارقام در شرایط تنش خشکی ۵۱
٤-۲- بررسی همبستگی صفات فنوتیپی ۵۲
٤-۳- تجزیه خوشه‌ای براساس صفات ارزیابی شده ۵٦
٤-٤- تجزیه تابع تشخیص ٦۱

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

٤-٥- رگرسیون مرحله‌ای ٦٢
٤-٦- ارزیابی‌های ژنوتیپی ٦٣
٤-٧- تجزیه خوشه‌ای براساس داده‌های SSR ٦٥
٤-٨- تجزیه به عامل‌ها ٦٧
٤-٩- بررسی تنوع هاپلوتایپی ٦٨
٤-١٠- پیشنهادات ٧١
منابع ٧٤

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱: لیست ارقام برنج ۳۰
جدول ۳-۲: محلول غذایی یوشیدا ۳۲
جدول ۳-۳: مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۳۵
جدول ۳-٤: چرخه حرارتی و زمان بهینه شده در مراحل مختلف واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۳٦
جدول ۳-۵: لیست آغازگرها و توالی آنها ۳۷
جدول ٤-۱: تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در مجموع شرایط نرمال و تنش خشکی ٤۵
جدول ٤-۲: مقایسه میانگین ارقام در مجموع شرایط نرمال و تنش خشکی ٤۷
جدول ٤-۳: مقایسه شرایط کشت برای صفات مورد بررسی ٤۸
جدول ٤-٤: تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط نرمال ٤۸
جدول ٤-۵: مقایسه میانگین ارقام در شرایط نرمال ۵۰
جدول ٤-٦: تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط تنش خشکی ۵۱
جدول ٤-۷: مقایسه میانگین ارقام در شرایط تنش خشکی ۵۲
جدول ٤-۸: همبستگی صفات ارزیابی شده در مجموع شرایط ۵۳
جدول ٤-۹: همبستگی صفات ارزیابی شده در شرایط نرمال ۵٤
جدول ٤-۱۰: همبستگی صفات ارزیابی شده در شرایط تنش خشکی ۵۵
جدول ٤-۱۱: مقایسه میانگین صفات مورد بررسی ارقام متحمل و حساس به تنش خشکی ۵۹
جدول ٤-۱۲: کدهای مربوط به درجه سوختگی برگ برای تحمل به خشکی در مرحله رویشی (IRRI.1996) ٦۰
جدول ٤-۱۳: طبقه‌بندی ارقام براساس تجزیه خوشه‌ای و کد ژنوتیپی در شرایط تنش خشکی ٦۰
جدول ٤-۱٤: رگرسیون پیش‌رو در شرایط تنش خشکی زمانی که کد ژنوتیپی به عنوان متغیر وابسته و سایر صفات بعنوان متغیر مستقل باشند ٦۲
جدول ٤-۱۵: تعداد آلل و محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) ۱٦ جفت نشانگر SSR ٦٤
جدول ٤-۱٦: تجزیه به عامل‌ها روی صفات گیاهچه ٦۷
جدول ٤-۱۷: تنوع آللی ژنوتیپ‌ها ۷۰

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل۳-۱: ارزیابی فنوتیپی..... ۳۱
شکل ٤-۱: دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ارقام برنج به روش Ward در شرایط نرمال..... ۵۷
شکل ٤-۲: دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ارقام برنج به روش Ward در شرایط تنش خشکی..... ۵۸
شکل ٤-۳: تجزیه تابع تشخیص در شرایط نرمال رشد..... ٦۱
شکل ٤-٤: تجزیه تابع تشخیص در شرایط تنش خشکی..... ٦۱
شکل ٤-۵: الگوی نواری ایجاد شده توسط آغازگر RM14002 و M، نشانگر وزنی (Kb Ladder)..... ٦۵
شکل ٤-٦: دندروگرام حاصل از داده‌های SSR..... ٦٦
شکل ٤-۷: تجزیه به عامل‌ها..... ٦۸

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) بعد از گندم مهمترین محصول کشاورزی جهان است و نقش مهمی در تغذیه بیش از نیمی از جمعیت جهان دارد. ۹۰ درصد سطح زیر کشت جهانی برنج در آسیا قرار دارد (پاندی و ولاکسو[1]، ۲۰۰۵). سهم ایران از سطح زیر کشت جهان حدود ۰/٤درصد است. حدود ۷٤درصد از اراضی زیر کشت برنج کشور در استان‌های ساحلی دریای خزر قرار دارد (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۸۸). در بسیاری از نواحی گرمسیری در دسترس بودن آب آبیاری برای برنج محدود شده و پیش‌بینی می‌شود بیشتر مناطق دارای فصل خشک در جنوب و جنوب شرقی آسیا از کمبود آب در آینده رنج ببرند (بومن و تانگ[2]، ۲۰۰۳). بطور کلی واژه تنش به هر عاملی اعم از زنده یا غیرزنده اطلاق می‌شود که بر گیاه اثر گذاشته و آن را از بروز پتانسیل کامل بعضی از صفاتش باز می‌دارد. تنش‌های غیرزیستی حاصل اثر سطوح افزایش یافته یا کاهش یافته عوامل محیطی شامل دما، رطوبت، نمک و عناصر مغذی هستند و در کاهش عملکرد گیاهان سهم عمده‌ای (حدود ۷۰ درصد) را در بین تمام عوامل کاهش‌دهنده عملکرد به خود اختصاص داده‌اند. خشکی، پدیده‌ای پیچیده‌تر از بسیاری تنش‌های دیگر مانند شوری، آب‌گرفتگی، آفات و بیماری‌هاست. این پیچیدگی‌ها همراه با عدم قطعیت در زمان خشکی، شدت و طول مدت خشکی، چالش عمده‌ای برای دانشمندان کشاورزی مطرح کرده است (لانگ و بو[3]، ۲۰۰۸). تحمل به خشکی در برنج صفت پیچیده‌ای است و بطور عمده توسط مکانیسم‌های اجتناب از خشکی و تحمل به خشکی مشخص می‌شود (یو[4] و همکاران، ۲۰۰۵). در سطوح مختلف در طول تکامل گیاهان بروز انواع خشکی موجب شده است که مکانیسم‌های مختلف تحمل به خشکی در سطوح مختلف نظام حیاتی از مولکول تا سلول بافت و بالاتر بوجود آید. مطالعه این مکانیسم‌ها اطلاعات مهمی را در جهت اصلاح گیاهان زراعی به منظور افزایش تحمل به تنش خشکی فراهم می‌نماید (مقصودی مود، ۱۳۸۷). لافیته[5] و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که برنج در مرحله گلدهی بسیار حساس به تنش خشکی است و این بدان معنی است که فرار از تنش خشکی با کوتاهتر کردن تعداد روز تا رسیدگی به گلدهی می‌تواند یکی از مکانیسم‌های گیاه برای افزایش

1 . Pandey and Velasco
2 . Bouman and Tuong
3 . Lanng and Buu
4 . Yue
5 . Lafitte

عملکرد در برنج باشد. همبستگی QTL[1]های مرتبط با صفات ریشه و صفات تحمل به خشکی نشان داد اجتناب از خشکی (از طریق ضخامت و عمق) اساس ژنتیکی تحمل به خشکی در شرایط خاک شنی بود، درحالیکه این مقدار همبستگی در شرایط مزرعه با شرایط خاک شنی متفاوت بود. بنابراین هر دو سازوکارهای خشکسالی و بافت خاک باید در بهبود تحمل به خشکی در مرحله باروری در برنج در نظر گرفته شود (یو و همکاران، ۲۰۰۵). ابراهیم و همکاران (۱۹۹۰) با بررسی ارقام و لاین‌های متحمل به خشکی در گیاه برنج گزارش نموده‌اند که تعداد خوشه، بیشترین اثر مستقیم را روی عملکرد دانه دارد و صفات طول خوشه و طول مدت گلدهی در درجات بعدی قرار دارد. لافیته و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که عملکرد با صفات طول و عرض برگ پرچم، تعداد دانه پر در خوشه، تعداد خوشه در بوته، عملکرد بیولوژیک و تعداد پنجه همبستگی معنی‌داری دارد. پانتوان[2] و همکاران (۱۹۹۲) با ارزیابی رقابت بین یک گونه وحشی با یک گیاه زراعی برنج گزارش کردند که تعداد دانه در خوشه و تعداد خوشه در بوته مهم‌ترین اجزای عملکرد در برنج‌های زراعی بوده و می‌تواند برای انتخاب ارقام پرمحصول استفاده شود. درک فیزیولوژی پاسخ به تنش خشکی می‌تواند به تلاش در جهت اصلاح گیاه برای تحمل به خشکی کمک کند (فوکایی و کوپر[3]، ۱۹۹۵؛ سراج و همکاران، ۲۰۰۹).

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) یکی از روش‌هایی است که در دهه اخیر برای مطالعه ژنتیکی صفات کمی مورد استفاده قرار گرفته است. در این روش تفرق همزمان صفت کمی و نشانگرهای مولکولی بررسی می‌شود و در نهایت تعداد ژن‌ها (عوامل مؤثر)، نوع عمل آنها و میزان اثر هر یک برآورد شده و مکان QTL روی ژنوم شناسایی می‌گردد. یکی از مهمترین کاربردهای نشانگرهای DNA و نقشه پیوستگی مولکولی، تجزیه واریانس ژنتیکی صفات کمی از طریق تجزیه مکان‌یابی QTL می‌باشد. QTLها نواحی از کروموزوم هستند که صفات کمی را کنترل می‌کنند و شامل انواع مختلف ژن و یا گروههای ژنی متفاوت از هم می‌باشند (لی[4]، ۲۰۰۱). نشانگرهای میکروساتلایت[5] یا توالی‌های ساده تکراری به دلیل پلی‌مورفیسم بالا، هم‌بارز بودن، مکان کروموزومی

1 . Quantitative Chain Reaction
2 . Pantuwan
3 . Fukai and Cooper
4 . Li
5 . Microsatellite

مشخص، قرار گرفتن در نواحی کد نشونده ژنوم، سادگی و هزینه نسبتا پایین کاربرد بسیار زیادی را در تهیه نقشه‌های لینکاژی[1] پیدا کرده‌اند (گلدستین[2] و همکاران، ۲۰۰۰؛ گوپتا[3] و همکاران، ۲۰۰۰).

ریزماهواره‌ها، توالی‌های ساده تکراری پشت سر هم هستند که معمولا ۲ تا ۵ جفت باز DNA طول داشته و در ژنوم اغلب یوکاریوت‌ها یافت می‌شوند. از نشانگرهای ریزماهواره به‌طور گسترده در مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی، تهیه نقشه ژنومی و تجزیه پلی‌ژنیک صفات مختلف در گیاهان زراعی استفاده شده است (میلان[4] و همکاران، ۲۰۰٦).

یک سیستم ریشه‌ای عمیق برای بدست آوردن آب و مواد غذایی از لایه‌ی خاک عمیق و مرطوب مورد نیاز است تا محصول پایداری تحت شرایط رطوبت کم بدست آید (یوشیدا[5] و همکاران، ۱۹۸۲). قابلیت نفوذ سیستم ریشه‌ای یکی از خصوصیات مهم در برنج جهت دستیابی به سیستم ریشه‌ای عمیق می‌باشد (نگوین[6] و همکاران، ۱۹۹۷). هان[7] و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کرده‌اند که قابلیت نفوذ ریشه برنج در ارقام دیم بیشتر از ارقام آبی است. همچنین آنها گزارش کرده‌اند که قابلیت نفوذ ریشه در ارقام دیم ژاپونیکا بیشتر از ارقام دیم ایندیکا است. قابلیت نفوذ ریشه به منظور تغییر توسعه و عملکرد در پاسخ به تغییر شرایط محیطی، یکی از مهمترین صفات جهت سازگاری گیاه می‌باشد (اینگرام[8] و همکاران،۱۹۹٤؛ یامائوچی[9] و همکاران، ۱۹۹٦). بعلاوه در سیستم ریشه‌ای عمیق، تغییر مورفولوژیکی ریشه در محیط زیست ممکن است یک عامل مهم در شرایط دیم که در آن رطوبت خاک غالبا در نوسان است، باشد (لوکئت[10] و همکاران، ۲۰۰۵). گرچه برخی از گزارشها در تغییر فنوتیپی مورفولوژی ریشه در پاسخ به تغییر شرایط خاک در برنج وجود دارد، گزارش‌های محدودی برای این جنبه در دسترس است که احتمالا به دلیل پیچیدگی این ویژگی و ماهیت دشوار و وقت‌گیر جهت تحقیقات روی صفات ریشه است. اطلاعات محدودی با توجه به اثرات نسبی ژنوتیپ، محیط و اثر

1 . Linkage
2 . Goldstein
3 . Gupta
4 . Millan
5 . Yoshida
6 . Nguyen
7 . Nhan
8 . Ingram
9 . Yamauchi
10 . Luquet

متقابل آنها بر تغییر مورفولوژی ریشه در دسترس می‌باشد. این مشکلات ممکن است مانع پیشرفت اصلاح نباتات در مراحل دستکاری صفات ریشه باشد. روشهای راحت‌تر و مؤثرتر که می‌تواند با تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها و محیط سروکار داشته باشد، باید جهت تسهیل انتخاب ارقام برنج که می‌تواند در شرایط محیط‌های مختلف سازگار باشد، توسعه یابد. لافیته و همکاران (۲۰۰۱)، گزارش کردند که ارقام ژاپونیکا دارای ریشه‌های ضخیم‌تر و آوندهای گسترده‌تر و نسبت ریشه به ساقه بیشتری هستند درحالیکه ارقام ایندیکا دارای ریشه‌های نازکتر و آوندهای باریکتر و نسبت پایین ریشه به ساقه هستند.

صفات مهم ریشه جهت مبارزه با خشکی بوسیله جذب آب از خاک عبارتند از: تعداد ریشه، ضخامت ریشه، عمق و انشعاب، تراکم و طول ریشه و قابلیت نفوذ از میان لایه‌های فشرده خاک (اوتول[1]، ۱۹۸۲؛ رای[2] و همکاران، ۱۹۹٦؛ یوشیدا و همکاران، ۱۹۸۲).

لودلاو[3] و همکاران (۱۹۹۰) اظهار داشتند که سیستم ریشه‌ای قدرتمند عمیق، می‌تواند باعث افزایش جذب آب شود که اجازه می‌دهد گیاه از کمبود آب در مراحل بحرانی رشد اجتناب کند و به افزایش محصول در محیط‌های دارای کمبود آب کمک می‌کند. قابلیت ژنتیکی در طول ریشه، ضخامت ریشه، تعداد ریشه، وزن ریشه و وزن ساقه در برنج شناخته شده است (یو[4] و همکاران، ۱۹۹۵).

چانگ[5] و همکاران (۱۹۸۲) گزارش کرده‌اند که اثر فعالیت افزایشی ژن‌ها برای حداکثر طول ریشه، ضخامت ریشه، تعداد ریشه و نسبت وزن ریشه به ساقه مشخص شده است. ارتفاع گیاه و تعداد جوانه‌ها نشان داد که تحت تأثیر یک مجموعه از اثرات افزایشی و غالبیت است درحالیکه وزن ریشه و وزن ساقه نشان داد که فقط تحت تأثیر اثر غالبیت ژن‌ها است. طول ریشه همبستگی مثبت با ارتفاع گیاه، وزن ریشه و ساقه، نسبت ریشه به ساقه و ضخامت ریشه داشت. ضخامت ریشه همبستگی مثبت با ارتفاع گیاه و نسبت وزن ریشه به ساقه داشت. تعداد ریشه همبستگی مثبت با تعداد جوانه و وزن خشک ریشه و ساقه داشت.

1 . O'Toole
2 . Ray
3 . Ludlow
4 . Yu
5 . Chang

ژنگ[1] و همکاران (۲۰۰۰)، در مطالعه دابل هاپلوئید[2]های ارقام Azucena و IR64، تعداد چهار QTL برای شاخص نفوذ ریشه که ٤٧ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه می‌کرد و تعداد چهار QTL برای ضخامت ریشه که ۵۲ درصد از تنوع فنوتیپی را توجیه می‌کرد شناسایی کردند.

اوتول و همکاران (١٩٨٦)، اظهار داشتند که افزایش عمق و تراکم ریشه در برنج، باعث افزایش قابلیت جذب آب خاک می‌شود و ممکن است پاسخی در اجتناب گیاه از خشکی در برخی از ارقام برنج باشد. گزارش شده است که طول ریشه، ضخامت، وزن خشک و تراکم طول ریشه صفاتی چند ژنی[3] هستند با نسبت مهمی از تنوع غالبیت و دارای وراثت بیشتر از ۵۰ درصد برای اکثر صفات می‌باشد (چانگ و همکاران،١٩٨٧).

مک‌میلان[4] و همکاران (٢٠٠٦)، اهمیت اثر متقابل ژنوتیپ و محیط را برای صفات مرتبط با تحمل به خشکی در برنج با استفاده از مکانیابی QTL بررسی نمودند. در این بررسی، ١٤٥ QTL روی ٣٧ مکان کروموزومی ردیابی شدند. از بین QTLهای ردیابی شده، تعداد ۵ عدد با محیط اثر متقابل نشان دادند. پرایس[5] و همکاران (۲۰۰۲) صفات مربوط به مورفولوژی ریشه را در جمعیت لاین نوترکیب حاصل از تلاقی Azucena و Bala مطالعه کردند. این صفات در شرایط کنترل شده‌ی گلخانه اندازه‌گیری شد. تعداد هفت QTL روی کروموزوم‌های ١، ٢، ٤، ٧، ٩ (دو QTL) و ١١ ردیابی شد.

گزارش شده است مکان‌های RM212- RM302- RM3825 (١٤٣/٧ cM–١٣٥/٨) بر روی کروموزوم شماره ١ برنج با چندین صفت تحمل به خشکی مانند: ارتفاع گیاه، عمق ریشه، ضخامت ریشه، تعداد جوانه و نسبت ریشه به ساقه، طول پانیکول در لاین نوترکیب حاصل از IR20/Nootripathu در شرایط تنش خشکی پیوستگی دارد (گومز[6] و همکاران، ۲۰۰۹؛ کاناگاراج[7] و همکاران، ۲۰۱۰).

در ارتباط با تحمل به خشکی صفاتی مورد توجه هستند که: ١) به لحاظ ژنتیکی با عملکرد گیاه تحت شرایط خشکی مرتبط باشند، ٢) ارزیابی و اندازه‌گیری آنها پیچیده و پرهزینه نباشد، ٣) در طول

1 . Zheng
2 . Double Haploid
3 . Polygenic
4 . McMillan
5 . Price
6 . Gomez
7 . Kanagaraj

مدت اندازه‌گیری ثابت و بدون تغییر بمانند، ٤) قبل از گلدهی یا در زمان گلدهی قابل مشاهده باشد، ۵) ارتباطی با کاهش محصول در شرایط بدون تنش نداشته باشند (ادمیز[1] و همکاران، ۲۰۰۱). ژو[2] و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کرده‌اند که ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی بوسیله اندازه‌گیری مشخصاتی مانند توان تولید، تأخیر در گلدهی و کاهش ارتفاع گیاه در هر دو شرایط نرمال و تنش خشکی قابل تعیین است.

برای اتخاذ تدابیر اصلاحی مناسب، به‌نژادگر بایستی از تنوع ژنتیکی صفات گیاه موردنظر شناخت کافی داشته باشد تا برنامه‌های به‌نژادی خود را با وسعت نظر بیشتری تدوین کند. تولید ارقام پرمحصول و با کیفیت مطلوب، از طریق شناسایی ذخایر ژنتیکی و اطلاع از میزان تنوع ژنتیکی موجود در جوامع گیاهی و ارقام دارای صفات مطلوب میسر می‌شود، بنابراین تنوع ژنتیکی اساس و پایه کار اصلاح نباتات می‌باشد. متخصصان اصلاح نباتات از تنوع موجود جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی و یا انتقال ژن‌های مطلوب به ارقام دیگر استفاده می‌کنند (دی[3] و همکاران، ۱۹۹۲).

خالدا[4] و همکاران (۲۰۰۲)، در بررسی تنوع ژنتیکی بین ۵۵ ژرم‌پلاسم[5] برنج اصلاح شده و بومی با استفاده از ۱۰ صفت ازجمله عملکرد، بیان کردند که ارتفاع بوته، تعداد دانه در خوشه و عملکرد تک بوته بیشترین نقش را در تنوع ژنتیکی داشتند. همچنین تعداد روز تا گلدهی و طول دانه به‌طور غیرمستقیم در تنوع ژنتیکی تأثیر داشتند.

افتخارالدوله[6] و همکاران (۲۰۰۲) در مطالعه تنوع ژنتیکی، رابطه بین صفات و معیار انتخاب در ۱۹ ژنوتیپ برنج اظهار داشتند که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در ۵ کلاستر[7] قرار گرفته و با توجه به اینکه فواصل بین کلاسترها بیشتر از فواصل داخل کلاستری بود، تنوع ژنتیکی زیادی بین ژنوتیپ‌های کلاسترهای مختلف وجود دارد. همچنین آنها بیان داشتند که شاخص برداشت، طول خوشه و وزن هزار دانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه داشته است و صفات تعداد دانه در خوشه،

1 . Edmeas
2 . Zhou
3 . De
4 . Khalda
5 . Germplasm
6 . Iftekharuddaula
7 . Cluster

تعداد خوشه‌چه اولیه، طول برگ پرچم، وزن هزاردانه و ارتفاع بوته به ترتیب بیشترین نقش را در افزایش تنوع ژنتیکی نشان داده‌اند.

کوماری[1] و همکاران (۱۹۹۷)، تنوع ژنتیکی بین ٦۲ ژنوتیپ برنج از ١٦ کشور جهان را براساس ۸ صفت مؤثر بر عملکرد بررسی کرده و ژنوتیپ‌ها را در ٦ گروه قرار دادند و هیچ ارتباطی بین توزیع جغرافیایی و تنوع ژنوتیپی مشاهده نکردند. صفاتی مانند عملکرد دانه در بوته و ارتفاع بوته، بالاترین نقش را در تنوع کل بر عهده داشتند. همچنین بیان کردند که این صفات می‌تواند پایه‌ای برای انتخاب والدین جهت تلاقی به منظور تولید بالاترین هتروزیس[2] باشد.

در دو مطالعه که در سال ۲۰۰۹ بر روی چهار QTL از لاین‌های خالص نوترکیب حاصل از تلاقی Azucena و Bala انجام گردید مشخص شد که QTL واقع بر روی کروموزوم شماره ۲، باعث افزایش توانایی نفوذ ریشه و عمق ریشه و ضخامت ریشه؛ QTL واقع بر روی کروموزوم شماره ۷ باعث افزایش وزن ریشه و حداکثر طول ریشه؛ QTL واقع بر روی کروموزوم شماره ۹ باعث افزایش عمق و ضخامت ریشه تحت هر دو شرایط نرمال و تنش خشکی؛ و QTL واقع بر روی کروموزوم شماره ۱۱ باعث افزایش طول ریشه و توانایی نفوذ ریشه می‌گردد (کورتویس[3] و همکاران، ۲۰۰۹؛ خواجا[4] و همکاران، ۲۰۰۹).

بررسی‌های بوی و توآن[5] (۱۹۸۹) بر روی تنوع ژنتیکی ۳۲ رقم برنج براساس ارتفاع گیاه، تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، طول خوشه، تعداد دانه‌های پر در خوشه، درصد دانه‌های پر نشده، تعداد پنجه‌های بارور در گیاه، وزن دانه‌ها و عملکرد بذر نشان داد که ارتفاع گیاه و تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی بیشترین سهم را در ایجاد تنوع ژنتیکی داشتند.

در اصلاح نباتات، همبستگی بین صفات نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا میزان و نوع رابطه ژنتیکی و غیرژنتیکی بین دو یا چند صفت را اندازه‌گیری می‌نماید. همبستگی ژنوتیپی و فنوتیپی بین صفات مختلف ممکن است به‌نژادگر را در گزینش غیرمستقیم برای صفات مهم از طریق صفات کم‌اهمیت که اندازه‌گیری آنها آسانتر است یاری نماید. همبستگی ژنتیکی بین صفات عمدتا ناشی از

1 . Kumari
2 . Heterosis
3 . Courtois
4 . Khowaja
5 . Bui and Tuan

چندشکلی و یا پیوستگی ژن‌ها می‌باشد. همبستگی ژنتیکی بیانگر میزان کوواریانس[1] دو ژن مشابه یا شدت پیوستگی در دو صفت متفاوت می‌باشد و همبستگی محیطی ناشی از این حقیقت است که یک محیط می‌تواند باعث واریانس‌های همزمان متفاوت در هر دو صفت شود (سینگ[2]، ۱۹۹۰).

به‌گزینی برای تحمل به خشکی بخاطر مشکل مدیریت مزرعه، تغییرات فنولوژی و بارندگی‌های غیرقابل انتظار، مشکل است. در روش‌های سنتی برای بهبود ژنتیکی تحمل به خشکی گزینش براساس عملکرد و پایداری آن در سالها و محیط‌های مختلف انجام می‌شد. این قبیل برنامه‌های به‌نژادی به دلیل وراثت‌پذیری پایین عملکرد در شرایط تنش پیشرفت کندی داشت. از این‌رو به جای عملکرد می‌توان گزینش را برای صفات ثانویه انجام داد (مانیکاولو[3] و همکاران، ۲۰۰۶).

شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و محل آنها در روی کروموزوم‌ها امکان‌پذیر بوده و نحوه توارث آنها و ماهیت عمل ژن گزارش گردیده است. توارث چند ژنی خصوصیات ریشه به وسیله اکانایاک[4] و همکاران (۱۹۸۵) گزارش شده است. طول و تراکم ریشه‌ها بوسیله آلل‌های غالب و ضخیم بودن رأس ریشه به وسیله آلل‌های مغلوب کنترل می‌شود. با این وجود، لوله‌ای شدن برگ و تنظیم اسمزی وراثت تک ژنی نشان داده‌اند.

به‌طور کلی می‌توان از روش‌های انتخاب شجره‌ای و بالک (دسته جمعی) برای اصلاح گیاهان خودگشن و از روش انتخاب دوره‌ای برای اصلاح گیاهان دگرگشن استفاده کرد. با این وجود، اگر هدف ما انتقال چند صفت مؤثر در تحمل به خشکی به یک ژنوتیپ پرمحصول باشد، تلاقی برگشتی[5] روش مناسبی است. از طرف دیگر، تلاقی دو والدی (نیمه خواهری و تمام خواهری) موجب حفظ پایه‌ی ژنتیکی وسیع شده و امکان تهیه ژنوتیپ‌های مطلوب متحمل به خشکی را فراهم می‌سازد (میترا[6]، ۲۰۰۱).

1 . Covariance
2 . Sing
3 . Manickavelu
4 . Ekanayake
5 . Back-Cross
6 . Mitra