ارزیابی وگروه‌بندی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به سرمای برنج (*Oryza sativa* L.) در مرحله گیاهچه‌ای

زبیده حسنی[۱]، همت‌اله پیردشتی[۲]، یاسر یعقوبیان[۳]، محمد زمان نوری[۴]
۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان،
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۴- استادیار موسسه تحقیقات برنج کشور- معاونت مازندران (آمل)

چکیده
آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر تنش سرما بر ژنوتیپ‌های برنج به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در شرایط هیدروپونیک اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح تنش سرما (شاهد و هوای سرد) و ۲۵ ژنوتیپ برنج بود. پس از اعمال تنش سرما صفات مورفولوژیک از جمله ارتفاع گیاه، طول ساقه، قطر ساقه، سطح برگ و وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه اندازه‌گیری گردید و بر اساس تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌ها به ۳ کلاستر گروه‌بندی شدند. تفکیک صفات در سطح شاهد نشان داد که ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۵،۴، ۶ و لاین‌های شماره ۱۰،۱۲، ۱۹ و ۲۳ در کلاستر I قرار گرفتند. علاوه بر آن ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۷، ۱۳، ۱۶، ۱۷، ۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۵ در کلاستر II و لاین‌های شماره ۸، ۹، ۱۱، ۱۴ ۱۵و ۱۸ در کلاستر III قرار گرفتند. نتایج تجزیه کلاستر در تنش هوای سرد نیز نشان داد که ارقام ۱، ۳، ۴، ۶ و لاین‌های ۸، ۹، ۱۱، ۱۴، ۱۵، ۲۰ و ۲۱ در کلاستر I و شماره‌های ۲، ۷، ۱۶، ۱۷، ۲۲ و ۲۵ در کلاستر II و ژنوتیپ‌های ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۸، ۲۳،۱۹ و ۲۴ و نیز در کلاستر III گروه‌بندی شدند. در مجموع ژنوتیپ‌های شماره ۷، ۱۶، ۱۷، ۲۲ و ۲۵ هم در تیمار شاهد و هم تنش هوای سرد در کلاستر II قرار داشتند که به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به سرمای هوا در مرحله گیاهچه‌ای شناسایی گردیدند.

کلمات کلیدی: برنج، تجزیه کلاستر، تنش سرما، ژنوتیپ

مقدمه
گیاهان همواره در معرض طیف وسیعی از تنش‌های غیرزیستی هستند که این تنش‌ها اثرات نامطلوبی بر بقاء، رشد، کیفیت و کمیت محصولات کشاورزی دارند. سرما یکی از تنش‌هاست که همه ساله خسارات قابل‌توجهی را به اقتصاد و چرخه تولید کشور تحمیل می‌کند (محسن‌زاده، ۱۳۸۹). برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از گیاهان حساس به سرما است که منشاء آن مناطق گرم و نیمه‌گرم می‌باشد و معمولاً درجه حرارت پایین مانع از استقرار گیاهچه شده و در نهایت منجر به غیریکنواختی رسیدگی محصول می‌گردد و بطور چشمگیری عملکرد را کاهش می‌دهد (Lou et al, 2007). بررسی آمار چهل ساله هواشناسی شمال کشور نشان می‌دهد که شالیزارهای این ناحیه همواره در معرض خطر بروز تنش سرما بوده و حتی در بعضی از سال‌ها دمای هوا به پایین‌تر از نقطه بحرانی می‌رسد و این تنش یکی از

عوامل محدودکننده رشد گیاه برنج در این نواحی محسوب شده و سالانه موجب بروز خسارت به زراعت برنج به‌ویژه در خزانه و مراحل ابتدایی رشد می‌شود (حسیبی و همکاران، ۱۳۸۹). انتخاب واریته‌های متحمل به سرما مؤثرترین روش برای جلوگیری از آسیب‌های ناشی از دمای پایین است (Jiang et al, 2008). برنامه‌های اصلاحی برای مقاومت به سرما با استفاده از والدین مقاوم به سرما از خواستگاه‌های متفاوت و از طریق روش‌های اصلاحی وغربالگری مناسب در آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه امکان‌پذیر است (شریفی و همکاران، ۱۳۹۱). با توجه به اهمیت موضوع تنش دمایی در مراحل اولیه رشد برنج، هدف از اجرای این پژوهش شناسایی ارقام مقاوم و حساس به شرایط تنش سرمایی در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

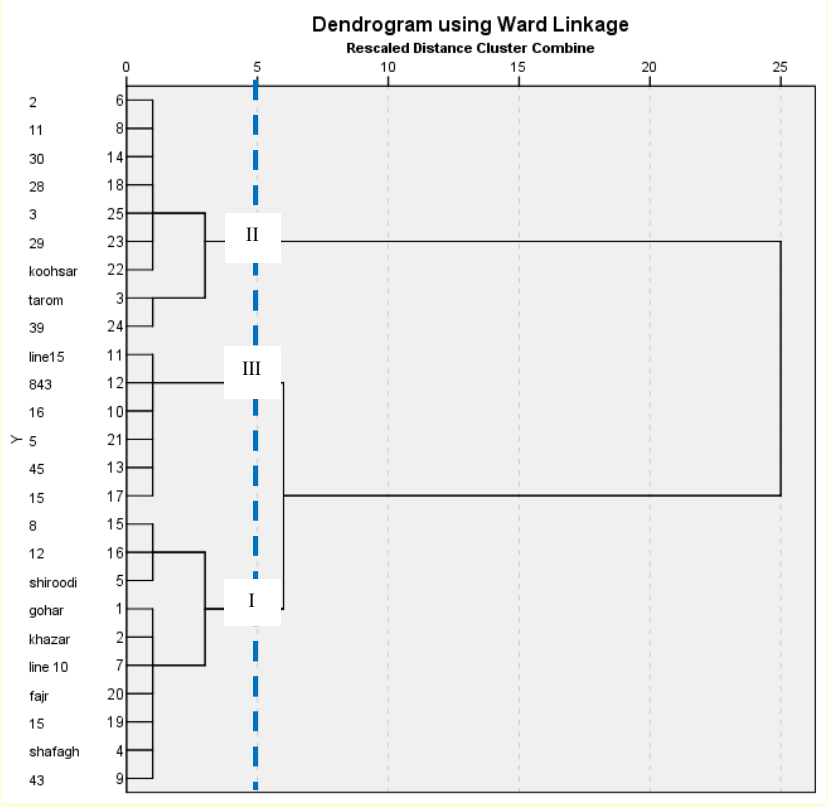
این آزمایش در پاییز ۱۳۹۱ در گلخانه‌ی تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در شرایط هیدروپونیک در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به‌صورت فاکتوریل و در سه تکرار به اجرا در آمد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح تنش سرما [شاهد (۲۹ درجه سانتی‌گراد) و هوای سرد (۸ درجه سانتی‌گراد)] و ۲۵ ژنوتیپ برنج بود که از موسسه تحقیقات برنج کشور - معاونت مازندران (آمل) تهیه گردید (جدول ۱). ابتدا بذور ژنوتیپ‌های برنج با هیپوکلرید سدیم ۱ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و سپس به مدت ۵ روز در ژرمیناتور با دمای ۲۸- ۲۵ درجه سانتی‌گراد جوانه‌دار شدند. بذرهای جوانه‌زده به محیط کشت هیدروپونیک در گلخانه با فتوپریود ۱۶ ساعت و دمای ۲۸/۲۵ (شب/روز) انتقال یافتند. تا ۲ روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها از آب مقطر استفاده شده و سپس محلول غذایی یوشیدا به ظرف‌ها اضافه و هر ۷ روز تعویض گردید (یوشیدا، ۱۹۷۶). دو هفته پس از کاشت تیمارهای دمایی اعمال شد. به منظور اعمال تنش هوای سرد گیاهچه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در اتاقک رشد با دمای ۸ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفته و گیاهچه‌های شاهد نیز در شرایط گلخانه نگهداری شدند. پس از اعمال تنش سرما صفات مورفولوژیک از جمله ارتفاع گیاه، طول ساقه، قطر ساقه، سطح برگ و وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه اندازه‌گیری گردید و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی 19 تجزیه خوشه‌ای به روش Ward در دو سطح شاهد و تنش هوای سرد انجام شده و شناسایی ارقام متحمل و حساس صورت گرفت.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در آزمایش

شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ
۱	گوهر(SA13)	۱۰	لاین ۰۸(IR75479-199-3-3)	۱۹	CT 19541-13-2-3-4P-2P
۲	خزر	۱۱	لاین ۴۵	۲۰	RI 1812084-90-1-1
۳	طارم هاشمی	۱۲	۰۱۰	۲۱	RI 1812084- 96-1-1
٤	شفق	۱۳	۰۱۱	۲۲	RI 1812084-95-1-1
٥	شیرودی	١٤	۰۱۵	۲۳	CT 19541-13-3-1-2P-2P
٦	فجر	١٥	۰۱۶	٢٤	PSB RC64 (IR56552-21-3-2-2)
۷	کوهسار	١٦	۰۲	٢٥	IR64
۸	لاین ۸۴۳	۱۷	۰۳		
۹	لاین ۰۱۵(IR70422-95-1-1)	۱۸	۰۵		

نتایج و بحث

در تجزیه کلاستر ۲۵ ژنوتیپ مورد بررسی برنج، از ۱۵ صفت استفاده شد و با برش دندوگرام حاصل، ژنوتیپ‌ها در ۳ کلاستر گروه‌بندی شدند. تفکیک صفات در سطح شاهد نشان داد که ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۴،۵، ۶ و لاین‌های شماره ۱۲،۱۰، ۱۹ و ۲۳ در کلاستر I قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های این خوشه از نظر رشد رویشی ضعیفتر از سایر خوشه‌ها بودند چرا که میانگین تمامی صفات مورد مطالعه، در این خوشه نسبت به دو خوشه دیگر پایین‌تر بود (داده‌ها نشان داده نشده است). علاوه بر آن ژنوتیپ‌های شماره ۳، ۷، ۱۳، ۱۶، ۱۷، ۲۰، ۲۱، ۲۲ و ۲۵ در کلاستر II و لاین‌های شماره ۸، ۹، ۱۱، ۱۴ ۱۵و ۱۸ در کلاستر III قرار گرفتند. خوشه II در تمامی صفات مورد مطالعه به‌جز طول ریشه، بالاترین مقادیر صفات را به خود اختصاص داد که بیانگر رشد رویشی سریع‌تر و بیشتر این ژنوتیپ‌ها نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها می‌باشد، که ارقام محلی طارم هاشمی و کوهسار نیز در این گروه قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های کلاستر III نیز از نظر رشدی حد وسط دو خوشه قبل بودند (شکل ۱).

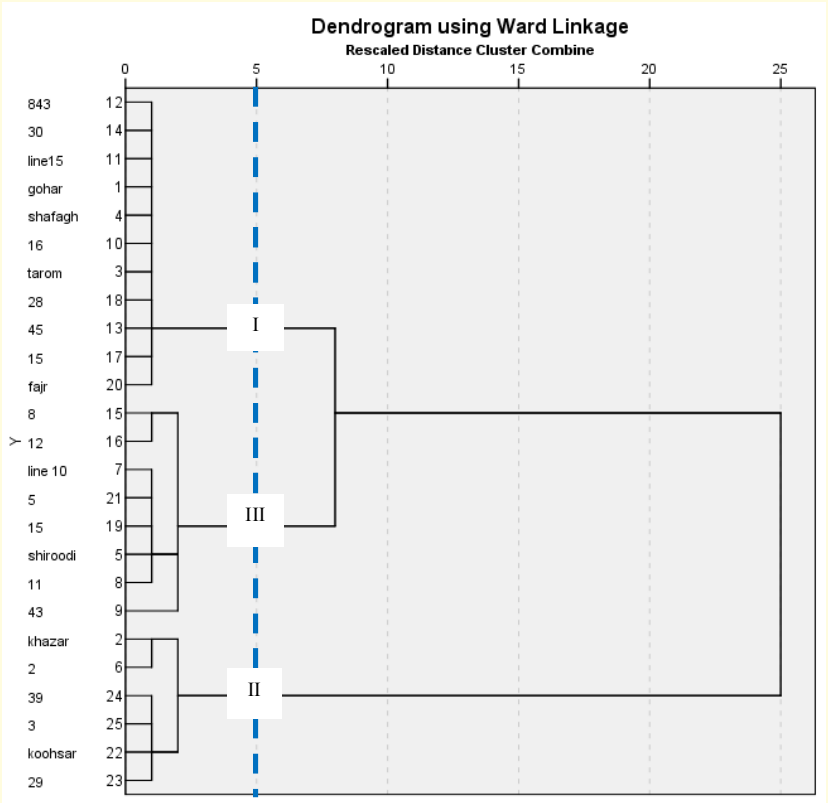


شکل ۱ – دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۵ ژنوتیپ مورد مطالعه برنج به روش Ward در تیمار شاهد

نتایج تجزیه کلاستر در تنش هوای سرد (شکل ۲) نیز نشان داد که ارقام ۱، ۳، ۴، ۶ و لاین‌های ۸، ۹، ۱۱، ۱۴، ۱۵، ۲۰ و ۲۱ در کلاستر I و شماره‌های ۲، ۷، ۱۶، ۱۷، ۲۲ و ۲۵ در کلاستر II و ژنوتیپ‌های ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۸، ۲۳، ۲۴ و ۱۹ نیز در کلاستر III گروه‌بندی شدند. که این کلاستر از نظر تمامی صفات مورد بررسی نسبت به دو کلاستر دیگر

برتری داشته است. بنابراین می‌توان ژنوتیپ‌های این گروه را به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش سرما تلقی نمود. ژنوتیپ‌های ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۸، ۱۹، ۲۳ و ۲۴ نیز در کلاستر III گروه‌بندی شدند. که بر اساس میانگین صفات مورد بررسی، اعضای این گروه ضعیف‌ترین ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش سرما بودند که رقم شیرودی که یکی از ارقام محلی مورد کشت در منطقه جزء این ژنوتیپ‌ها بود (شکل ۲). قربانی و همکاران (۱۳۹۰) نیز نشان دادند که تحت تنش سرمایی صفات وزن خشک، طول اندام هوایی و ریشه در رقم اوندا و طارم دم‌سیاه کاهش معنی‌داری پیدا کردند.

در مطالعه‌ی حاضر ژنوتیپ‌های کوهسار و لاین‌های شماره ۱۶، ۱۷، ۲۲ و ۲۵ هم در تیمار شاهد و هم تنش هوای سرد در کلاستر II قرار داشتند که به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به سرمای هوا در مرحله گیاهچه‌ای شناسایی گردیدند. ولی رقم خزر در شرایط شاهد در کلاستر I حضور داشت که با اعمال تنش هوای سرد به کلاستر II منتقل گردید. به عبارت دیگر علیرغم رشد رویشی کم خود در شرایط مطلوب رشدی، در شرایط تنش از رشد مناسبتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها برخوردار بوده است، بنابراین نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها حساسیت کمتری به تنش هوای سرد داشت. رادفر (۱۳۸۳) نیز با بررسی تحمل به سرمای بیست رقم بومی برنج در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای نشان داد که در این مرحله یکسری از ارقام مورد مطالعه نظیر گرده محلی، کوهرنگ، سازندگی، زاینده‌رود و رقم اوندا تحمل بالایی نسبت به تنش سرما دارند.



شکل ۲ – دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۵ ژنوتیپ مورد مطالعه برنج به روش Ward در تیمار هوای سرد

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی با توجه به اینکه ژنوتیپ‌های کوهسار، خزر و لاین‌های شماره ۱۶، ۱۷، ۲۲ و ۲۵ تحمل بالایی را در برابر سرما از خود نشان دادند جهت کاشت در مناطقی که با کاهش دما به‌ویژه در اوایل فصل بهار مواجه هستند مطلوب بوده و قابل توصیه می‌باشد.

سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان به‌خاطر حمایت‌های مالی تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

حسیبی پ، نبی پور م، مرادی ف، ۱۳۸۹. بررسی نقش برخی محافظت کننده‌های سرمایی در القای تحمل تنش دمای پایین به گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa* L.)، مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی، شماره ۲، ۵۶-۳۹.

رادفر ح، ۱۳۸۳، ارزیابی تنش سرما روی مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای برنج تحت شرایط کنترل شده در منطقه مازندران، پایان نامه کارشناسی ارشد، ۱۸۲ صفحه.

شریفی پ،۱۳۹۰. ارزیابی مقاومت به سرمای رشد ساقه‌چه در برخی از ارقام برنج در مرحله جوانه‌زنی، پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، شماره ۹، ۱۲۱- ۱۰۸.

قربانی، ا.، زرین کمر، ف.، فلاح، ا،۱۳۹۰. اثر تنش سرما بر صفات تشریحی و مورفولوژی در دو رقم مقاوم و حساس برنج در مرحله جوانه زنی، مجله سلول و بافت، جلد ۲، شماره ۳، ۲۴۴ - ۲۳۵.

محسن‌زاده س، کریمی‌اندانی ج، محبت‌کار ح، ۱۳۸۹. مطالعه پاسخ‌های فیزیولوژیکی و توالی یکی از ژن پاسخ دهنده به تنش سرما در چهار رقم گندم حساس و مقاوم، مجله علوم گیاهان زراعی ایران، شماره ۳، ۶۲۱ -۶۱۳ .

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

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

Yoshida S, Forno D.A, Cock J.H, Gomez K.A, 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice, International Rice Research Institute Los Babos, Philippines, pp 83.