

بررسی اثر محیط غرقاب و خشک بر ظهور نواحی ژنی کنترل کننده صفات گیاهچه‌های برنج (*Oryza sativa* L.) با استفاده از نشانگرهای SSR

بهاره قاسمی مرزبالی^۱، حسین صبوری^{۱*}، حسین حسینی مقدم^۱، عباس بیابانی^۱

محمدجواد شیخ‌زاده^۲

^۱گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

^۲گروه کامپیوتر، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۳۰

چکیده

شناسایی ژن‌های مرتبط با تحمل به تنش‌ها و مکانیسم‌های تحمل به آن‌ها یک عامل مهم برای ایجاد مقاومت در گیاهان است. به همین منظور؛ آزمایشی با استفاده از ۹۹ ژنوتیپ برنج در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط غرقاب و تنش خشکی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. در شرایط غرقاب در طول دوره رشد گیاه آبیاری انجام شد. برای اعمال تنش خشکی، آبیاری از مرحله سه برگگی قطع شد. با توجه به منحنی رطوبت، میزان تنش ۲ درصد رطوبت وزنی معادل ۰/۵۵- مگا پاسکل تخمین زده شد. صفات ارزیابی شده در هر دو شرایط کشت تفاوت معنی داری با هم داشتند. تجزیه ارتباط اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های مولکولی و بررسی‌های فنوتیپی در شرایط غرقاب نشان‌دهنده این موضوع بود که از میان آلل‌ها، آلل RM129A با وزن تر ساقه و طول ریشه و آلل RM129G با وزن تر ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ و آلل RM129B با وزن خشک ریشه و طول بزرگ‌ترین برگ و آلل RM1029I با وزن خشک ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ و در شرایط تنش خشکی آلل RM1029G با وزن خشک ساقه، حجم ریشه و تعداد ریشه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفات مورد ارزیابی در آزمایش بودند. پرایمر RM1029 یکی از پرایمرهای مهم در مرحله گیاهچه شناسایی شد. از نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان در جهت افزایش تحمل به خشکی ارقام برنج استفاده نمود.

واژه کلیدی: برنج، تجزیه ارتباط، تنش خشکی، تنوع ژنتیکی، گیاهچه.

مقدمه

موفق محصولات زراعی به‌خصوص برنج در جهان است که می‌تواند در هر زمان طی فصل رشد رخ دهد. برنج سازگاری نسبتاً کمی به شرایط محدودیت آبی دارد و به‌شدت به کمبود آب حساس است (Lafitte et al., 2004). از این‌رو یکی از چالش‌های اصلی در کشاورزی تولید غذای بیش‌تر با آب کم‌تر می‌باشد (Tuyen and Prasad, 2008). تنش خشکی تا حدودی در ۵۰ درصد از اراضی تولید برنج جهان رخ می‌دهد (Ndjondjop et al., 2010). مرحله

برنج، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی دنیا، در بخش‌های وسیعی از سراسر جهان کشت می‌شود و غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان است (Park et al., 2014). واژه تنش به هر عاملی که روی گیاه تأثیر منفی گذاشته و از بیان کامل پتانسیل ژنتیکی یک یا چند صفت جلوگیری می‌کند، اطلاق می‌شود. خشکی عمده خطرات جدی برای تولید

*نویسنده مسئول: hos.sabouri@gmail.com

نشانگرهای ریزماهواره و تجزیه ارتباط بین آلل‌های نشانگرهای مورد استفاده و صفات اندازه‌گیری شده تحت تنش خشکی به منظور شناسایی نشانگرهای ریزماهواره آگاهی بخش بود.

مواد و روش‌ها

ارزیابی‌های فنوتیپی: به منظور بررسی واکنش ژنوتیپ‌های برنج به تنش خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۷ بررسی شدند. این آزمایش با ۹۹ ژنوتیپ برنج دریافت شده از مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج در قالب تفاهم مشترک دانشگاه گنبد کاووس و آن مؤسسه انجام شد. برای ارزیابی‌های فنوتیپی از سینی‌های پلاستیکی استفاده شد. در هر سینی ۷۲ سلول (خانه) برای کشت وجود داشت. ابتدا بذره‌های سالم و کامل از هر ژنوتیپ انتخاب گردید و پس از ضدعفونی با محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم و شست‌شو با آب مقطر، به تعداد ۵ عدد بذر در هر خانه سینی‌های کشت در هر تکرار قرار داده شد و تا مرحله سه برگگی تکرارهای غرقاب و تنش تحت شرایط یکسان و به صورت غرقاب آبیاری شدند. برای اعمال تنش خشکی، آبیاری از مرحله سه برگگی قطع شد. با توجه به منحنی رطوبت خاک متناسب با مزرعه تحقیقاتی که خاک از آن جمع‌آوری شده بود، با فاصله ۳ روز اقدام به نمونه برداری شد و رطوبت خاک به ترتیب ۱۵، ۱۲، ۹ و ۴ و ۲ درصد رطوبت وزنی معادل ۰/۲۵، ۰/۱۳، ۰/۳۶ و ۰/۵۵ - مگا پاسکل تخمین زده شد.

جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای در انتخاب گیاهان مقاوم در مناطق تحت شوری و خشکی همواره مد نظر بوده است (Karamanos and Papatheohari, 1999). بنابراین انتخاب گیاهان مقاوم به تنش‌های محیطی در مرحله جوانه‌زنی بذر اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا ژنوتیپ‌هایی که توانایی جوانه‌زنی بیش‌تری دارند، در مرحله گیاهچه‌ای، سیستم ریشه‌ای قوی‌تری دارند و به علت استقرار سریع‌تر پوشش گیاهی برای تولید مواد فتوسنتزی، از عملکرد بهتری نیز برخوردارند (Anbumalarmathi and Mehta, 2013). گیاهان برای سازگار شدن با شرایط کم‌آبی، مکانیسم‌های گوناگونی را توسعه داده‌اند. جنبه‌های ژنتیک مولکولی، امکان پاسخ مناسب و سازگاری با تنش خشکی را به آن‌ها داده است. برای استفاده مناسب از این سرمایه عظیم، اطلاع از ماهیت و میزان تنوع موجود در ژرم‌پلاسما، از اهمیت زیادی در برنامه‌های به‌نژادی برخوردار است. والدینی که از لحاظ ژنتیکی متفاوت هستند، هیبریدهای با هتروزیس بیش‌تر تولید می‌کنند و احتمال وجود تفرق یافته برتر را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر تعیین مشخصات و گروه‌بندی ژرم‌پلاسما به اصلاح‌گران امکان می‌دهد تا از دوباره‌کاری در نمونه‌گیری از یک جمعیت خودداری نمایند (Soroush et al., 2005). موفقیت هر به‌نژادگر به تعیین تنوع ژنتیکی و استفاده از آن در برنامه‌های اصلاحی بستگی دارد. لذا ضروری است که تنوع موجود در جمعیت گیاهی مورد مطالعه، به دقت بررسی و از آن استفاده شود (Aghazadeh et al., 2004).

با توجه به اهمیت برنج، شناخت ارقام متحمل به تنش خشکی ضروری می‌رسد. هدف از این پژوهش، بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج از لحاظ

جدول ۱: ژنوتیپ‌های مورد بررسی (منشاء تمام لاین‌ها IRRI است).

شماره	ژنوتیپ	شماره	ژنوتیپ	شماره	ژنوتیپ
۱	IRRI 133	۳۹	IR13F589	۷۷	IR 09N127
۲	IR 09L324	۴۰	IR13F228	۷۸	IR14L260
۳	IR 11A506	۴۱	IRRI 132	۷۹	IR 09L204
۴	IRRI 153	۴۲	IR14L160	۸۰	IR06A145
۵	BP 11820-5F-KN-10-2	۴۳	HHZ 10-DT5-LI1-LI1	۸۱	IR 10A227
۶	HHZ 2-SUB2-DT1-DT1	۴۴	IRBLSH-S	۸۲	IRBLK-KU
۷	IR14L248	۴۵	IR12L159	۸۳	HHZ 4-SAL5-LI1-LI1
۸	IR14L110	۴۶	B11598C-TB-2-1-B-7	۸۴	IR 05A272
۹	IR13L400	۴۷	IR13L382	۸۵	IRRI 103
۱۰	IRBLKH-K3	۴۸	IR09N516	۸۶	IRRI 146
۱۱	IR 10A199	۴۹	HHZ 4-SAL5-Y2-Y1	۸۷	IRRI 154
۱۲	HHZ 4-SAL12-LI1-LI1	۵۰	IR14L262	۸۸	IRBLZT-IR56
۱۳	HHZ 22-Y3-DT1-Y1	۵۱	IR14L235	۸۹	HHZ 10-DT8-DT1-DT1
۱۴	IR13L406	۵۲	IR13L137	۹۰	HHZ 14-SAL19-Y1
۱۵	HHZ 1-DT7-LI2-LI1	۵۳	CT 18614-4-1-2-3-2	۹۱	HHZ 15-DT7-SAL2
۱۶	IR 10A237	۵۴	IR 64	۹۲	IR 04A216
۱۷	IR 11A581	۵۵	IR12L356	۹۳	IRBLZ5-CA[CO]
۱۸	IR 10A314	۵۶	HHZ 15-SAL13-Y1	۹۴	HHZ 16-SAL13-LI1-LI1
۱۹	HHZ 4-DT3-Y1-Y1	۵۷	HHZ 26-SAL12-Y1-Y1	۹۵	IR 09L324
۲۰	IR 11A501	۵۸	IR12L369	۹۶	IRBLSH-IS
۲۱	IR 10F221	۵۹	HHZ 3-SAL6-Y1-Y1	۹۷	HHZ 1-DT4-LI1-LI1
۲۲	HHZ 21-SAL13-Y1-Y1	۶۰	HHZ 1-DT3-Y1-Y1	۹۸	IRBLKS-CO
۲۳	IR 09N251	۶۱	HHZ 4-DT6-LI2-LI1	۹۹	IR08L216
۲۴	HHZ 23-DT16-DT1-DT1	۶۲	IR14L121	۱۰۰	IRBLTA2-IR64
۲۵	IRRI 104	۶۳	IRBLT-K59	۱۰۱	IRBLTA-ME
۲۶	IR14L101	۶۴	IR 11N121	۱۰۲	IRBLKM-TS
۲۷	IR12L353	۶۵	HHZ 6-DT1-LI1-LI1		
۲۸	HHZ 3-SAL4-Y1-Y1	۶۶	IR 11C123		
۲۹	SAKHA 105	۶۷	IR08L217		
۳۰	HHZ 21-Y4-Y2-Y1	۶۸	IR10A121		
۳۱	IR 11A410	۶۹	IR14L256		
۳۲	IR14L240	۷۰	IR12L357		
۳۳	IR14L247	۷۱	HHZ 18-Y3-Y1-Y1		
۳۴	HHZ 15-SAL13-Y3	۷۲	HHZ 24-DT11-LI1-LI1		
۳۵	IR10L139	۷۳	IR14L238		
۳۶	B 40	۷۴	IR 11N137		
۳۷	IR13L397	۷۵	HHZ 3-SAL13-Y2-DT1		
۳۸	IR12L201	۷۶	IR13L268		

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز SSR، برنامه حرارتی تاج داون برای تکثیر نشانگرها در (جدول ۲ و ۳) آمده است از نشانگرهای ریز ماهواره 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 امید ۶ درصد انجام گرفت. جهت نمایان‌سازی باندها با روش موسوم به روش سریع رنگ‌آمیزی با نیترات نقره An و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد.

ارزیابی ژنوتیپی: برای استخراج DNA، برگ‌های جوان عاری از هر گونه آلودگی از هر ژنوتیپ را به‌وسیله نیتروژن مایع طبق روش CTAB Saghi Maroof و همکاران (۱۹۹۷) استخراج و به تیوپ‌های ۱/۵ منتقل شدند. برای اطمینان کار تمام وسایل لازم در این پژوهش با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. برای تعیین کیفیت DNA استخراجی با استفاده از الکتروفورز افقی (ژل آگارز ۸ درصد) که روش سریع و ساده برای تعیین کیفیت DNA می‌باشد، استفاده شد. مواد مورد استفاده و میزان مقدار مورد استفاده در

جدول ۲: مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز SSR

غلظت مواد	مقدار مواد (میکرولیتر)	اجزای واکنش
1X	۱	بافر pcr10X
۵۰ میلی‌مولار	۰/۴۸	MgCl ₂
۱۰ میلی‌مولار	۰/۶	dNTP
	۰/۱۲	آنزیم Taq DNA پلی‌مراز
۶۰ نانوگرم	۱/۵ میکرولیتر	آغازگر
۰/۷۵-۰/۵ نانوگرم	۲/۵ میکرولیتر	DNA رقیق شده
	۳/۸ میکرولیتر	H ₂ O
	۱۰ میکرولیتر	حجم نهایی

جدول ۳: برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های SSR

تعداد چرخه	زمان (دقیقه) و (ثانیه)	دما (درجه سانتی‌گراد)	مرحله واکنش
۱	۴۵"	۹۵	واسرشته سازی اولیه DNA
۱۰	۴۵"	۹۵	واسرشته سازی DNA
	۴۵"	-	اتصال آغازگرها
	۴۵"	۷۲	ستنز
۲۵	۴۵"	۹۵	واسرشته سازی DNA
	۴۵"	-	اتصال آغازگرها
	۴۵"	۷۲	ستنز
۱	۵'	۷۲	تکثیر نهایی

حاصل از نشاگرهای SSR با استفاده از روابط رگرسیون و به کمک نرم افزار SPSS 22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته شد.

جهت تجزیه داده‌های فنوتیپی (تجزیه واریانس و مقایسه میانگین) از نرم افزار SAS 9.2 استفاده شد. رابطه بین هر کدام از صفات ثابت شده با اطلاعات

جدول ۴: اطلاعات نشانگرهای SSR مورد مطالعه

نشانگر	کروموزوم	آغازگر همسو	آغازگر معکوس	منبع
RM530	2	GCACTGACCACGACTGTTT G	ACCGTAACCCGGATCTAT CC	(Vikram <i>et al</i> 2011) (Donde <i>et al.</i> , 2019)
RM127	4	GTGGGATAGCTGCGTCGCG TCG	AGGCCAGGGTGTGGCAT GCTG	(Lanceras <i>et al.</i> , 2004)
RM129	1	TCTCTCCGGAGCCAAGGCG AGG	CGAGCCACGACGCGATGT ACCC	(Prasad <i>et al.</i> , 2016)
RM216	10	GCATGGCCGATGGTAAAG	TGTATAAAACCACACGGC CA	(Dixit <i>et al.</i> , 2014), (Vikram <i>et al.</i> , 2011) (Diwan <i>et al.</i> , 2013), (Tabkhkar <i>et al.</i> , 2018) (sabouri <i>et al.</i> , 2019)
RM231	3	CCAGATTATTTCTGAGGT C	CACTTGCATAGTTCTGCA TTG	(Sandhu and Kumar, 2017); (kumar <i>et al.</i> , 2014)
RM236	2	GCGCTGGTGAAAATGAG	GGCATCCCTCTTTGATTC CTC	(Donde <i>et al.</i> , 2019), (Vikram <i>et al</i> 2011)
RM22	3	GGTTTGGGAGCCATAATC T	CTGGGCTTCTTTCACCTCG TC	(Donde <i>et al.</i> , 2019), (Vikram <i>et al</i> 2011)
RM60	3	AGTCCCATGTTCCACTTCC G	ATGGCTACTGCCTGTACT AC	(Donde <i>et al.</i> , 2019), (Vikram <i>et al</i> 2011)
RM12091	1	CTGCAAATGCACAGGAATC AGG	TCCTCTCGCCTTCTTTCT CTCC	(Vikram <i>et al.</i> , 2011)
RM263	2	CCCAGGCTAGCTCATGAAC C	GCTACGTTTGAGCTACCA CG	(Vikram <i>et al.</i> , 2011)
RM520	3	AGGAGCAAGAAAAGTTCCC C	GCCAATGTGTGACGCAAT AG	(Venuprasad <i>et al.</i> , 2009)
RM511	12	CTTCGATCCGGTGACGAC	AACGAAAAGCGAAGCTGT CTC	(Bernier <i>et al.</i> , 2007)
RM157	3	CCTCCTCCTCACGAATCCC GCC	GGGCTTCTTCTCCGCCGG CTTC	(Prasad <i>et al.</i> , 2016);(Hussain <i>et al.</i> , 2011)
RM1029	1	GATTTCTGCGAATGAGAG AAGG	GACTTCAGGGACAAGCA GTCC	(Kumar <i>et al.</i> , 2017)
RM304	10	TCAAACCGGCACATATAAG AC	GATAGGGAGCTGAAGGA GATG	(Swamy <i>et al.</i> , 2017); (Kumar <i>et al.</i> , 2017)

نتایج

۵) و نشان دهنده رفتار متفاوت ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف شرایط کشت از نظر صفات مورد مطالعه بود. نظر به معنی دار شدن اثر متقابل رقم و شرایط کشت، آزمایش فاکتوریل به دو تجزیه جداگانه غرقاب و تنش برش‌دهی شد. تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط غرقاب در مرحله گیاهچه در تمامی صفات در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند. کم‌ترین ضریب تغییرات در شرایط غرقاب صفت تعداد ریشه می‌باشد با مقدار ۱۳/۸۶۷ و بیش‌ترین

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس 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 ریشه، طول ساقه، طول بزرگ‌ترین برگ، عرض بزرگ‌ترین برگ، تعداد ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، حجم ریشه، وزن خشک ریشه و وزن ساقه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول

ظریب تغییرات برای صفت وزن تر ساقه به مقدار ۳۹/۴۸۰ می‌باشد (جدول ۶).

تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در شرایط تنش خشکی در مرحله گیاهچه در تمامی صفات در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند و کم‌ترین ضریب تغییرات در شرایط تنش خشکی برای صفت تعداد ریشه با مقدار ۸/۸۸۶ و بیش‌ترین ضریب تغییرات برای صفت حجم کل ریشه با مقدار ۲۶/۵۱۳ می‌باشد (جدول ۷).

مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها در شرایط غرقاب نشان داد که در صفت طول ساقه ژنوتیپ ۲۶ با مقدار ۹/۷۵ بیش‌ترین، در صفت طول ریشه ژنوتیپ ۷ با مقدار ۱۰/۸۲، در صفت طول بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ ۴ با مقدار ۲۹/۵۰، در صفت عرض بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ ۴۳ با مقدار ۹/۴۱۶، در صفت تعداد ریشه ژنوتیپ ۱۶ با مقدار ۷/۷۵۰ و برای صفات وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، حجم ریشه، وزن خشک ساقه، وزن خشک ریشه به ترتیب ژنوتیپ‌های ۶۵، ۲۷، ۹، ۴ می‌باشند (جدول ۸). مقایسه میانگین برای شرایط تنش نشان داد که طول ساقه، طول ریشه، طول بزرگ‌ترین برگ، عرض بزرگ‌ترین برگ، تعداد ریشه،

وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، حجم ریشه، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه به ترتیب شامل ژنوتیپ‌های ۴۶، ۴۷، ۱۰۱، ۹۵، ۹۳، ۸۳، ۱۰۱، ۵، ۱۰۱، ۵ — بیش‌ترین مقدار می‌باشند. در تنش خشکی ژنوتیپ ۵ در صفات طول ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ و ژنوتیپ ۱۰۱ در صفات طول ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ و حجم کل ریشه دارای بالاترین مقدار هستند و این نشان‌دهنده تحمل بالای این دو ژنوتیپ به تنش خشکی می‌باشد (جدول ۹). مقایسه میانگین مرحله گیاهچه در شرایط غرقاب و تنش خشکی نشان داد که در صفت طول ساقه ژنوتیپ ۱۶، طول ریشه ژنوتیپ ۹، طول بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ‌های ۳۵، ۲۷، ۲۶، در صفت عرض بزرگ‌ترین برگ ژنوتیپ ۱۰۱، در صفت تعداد ریشه ژنوتیپ‌های ۷، ۲۵، در صفت وزن تر ساقه ژنوتیپ‌های ۲۷، ۷۲، ۳۵، ۶۹، در صفت وزن تر ریشه ژنوتیپ‌های ۵۵، ۲۷، ۷۲، در صفت حجم ریشه ژنوتیپ‌های ۷۲، ۱۶، ۱۲، در صفت وزن خشک ساقه ژنوتیپ‌های ۹۴، ۲۷، ۸۱، ۳۵ و در صفت وزن خشک ریشه ژنوتیپ‌های ۳۹، ۹۴ مشترکاً در شرایط تنش و غرقاب جز ده درصد برتر می‌باشند.

جدول ۵: تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل

میانگین مربعات						
منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	طول ریشه	طول بزرگ‌ترین برگ	عرض بزرگ‌ترین برگ	تعداد ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۳/۶۳۹**	۴/۶۳۲**	۲۶۰۱/۱۳۲**	۱۲۸/۷۵۷**	۱۷۶/۱۱۱**
تنش	۱	۱۲۲۴/۲۴۰**	۱۲۶۱/۳۹۶**	۶۱۳۶/۲۱۱**	۱۸۵/۲۶۹**	۱۰۸/۳۵۴**
ژنوتیپ × تنش	۹۸	۲/۸۳۹**	۳/۶۵۱**	۱۷۷۵/۵۲۶**	۱۱۴/۰۹۵**	۱۰۸/۲۱۴**
خطا	۳۹۶	۰/۳۳۴	۰/۷۰۳	۲/۶۶۳	۰/۳۴۹	۰/۳۰۲۸۷۳۶۶
ضریب تغییرات		۱۶/۹۹۰	۲۲/۳۳۶	۲۲/۶۵۱	۲۴/۵۳۷	۱۲/۱۴۰

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

ادامه جدول ۵:

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۰/۰۱۶**	۱/۸۲۶**	۳۶/۶۵۴**	۰/۰۲۰**	۰/۰۲۶**
تنش	۱	۰/۹۵۵**	۰/۶۶۲**	۴۷/۲۱۹**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
ژنوتیپ × تنش	۹۸	۰/۰۱۷**	۱/۸۰۳**	۳۲/۴۴۵**	۰/۰۱۴**	۰/۰۱۹**
خطا	۳۹۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۴۴/۶۵۱	۱۸/۲۹۹	۲۵/۱۱۵	۲۲/۴۵۶	۲۴/۱۴۳

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۶: تجزیه واریانس در شرایط غرقاب

میانگین مربعات												
منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	طول ریشه	طول برگ	طول بزرگترین برگ	عرض بزرگترین برگ	تعداد ریشه	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۵/۷۸۰**	۷/۴۲۳**	۴۱/۳۱۵**	۱/۹۷۲**	۲/۲۷۱**	۰/۰۳۰**	۰/۰۳۰**	۰/۰۳۶**	۰/۶۹۷**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
خطا	۱۹۸	۰/۵۴۲	۱/۲۰۴	۱/۹۸۴	۰/۶۱۲	۰/۴۷۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۱۵/۲۱۸	۲۱/۰۵۸	۲۱/۴۲۶	۲۶/۳۸۴	۱۳/۸۶۷	۳۹/۴۸۰	۱۵/۳۱۹	۱۹/۵۰۶	۲۴/۰۶۴	۲۴/۹۴۲	۲۴/۹۴۲

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۷: تجزیه واریانس در شرایط تنش خشکی

میانگین مربعات												
منابع تغییر	درجه آزادی	طول ساقه	طول ریشه	طول برگ	طول بزرگترین برگ	عرض بزرگترین برگ	تعداد ریشه	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	حجم ریشه	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
ژنوتیپ	۹۸	۰/۶۹۷**	۰/۸۵۹**	۳/۳۴۴**	۰/۰۸۵**	۰/۶۲۹**	۰/۰۰۳**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۷**	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۱**
خطا	۱۹۸	۰/۱۲۶	۰/۲۰۱	۰/۳۴۳	۰/۵۰۵	۰/۱۳۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات		۱۸/۰۶۶	۱۹/۵۶۵	۱۴/۶۷۹	۱۵/۸۲۳	۸/۸۶۷	۱۷/۵۹۱	۱۹/۹۷۵	۲۶/۵۱۳	۲۰/۴۶۹	۲۲/۹۲۰	۲۲/۹۲۰

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

ساقه و حجم ریشه با ۴ آلل و صفت وزن تر ریشه با ۳ آلل و صفات وزن خشک ریشه و طول ساقه با ۲ آلل و صفات عرض بزرگترین برگ و وزن خشک ساقه با ۱ آلل در ارتباط بود. از میان آلل‌ها، آلل RM129A با مرتبط بودن با صفات وزن تر ساقه و طول ریشه و آلل RM129G با مرتبط بودن با صفات وزن تر ریشه و عرض بزرگترین برگ و آلل RM129B با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ریشه و طول بزرگترین برگ و آلل RM1029I با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ساقه و طول بزرگترین برگ دارای بیشترین ارتباط با صفات مورد ارزیابی در آزمایش بودند.

تجزیه ارتباط: تجزیه ارتباط اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های مولکولی و اطلاعات به دست آمده از بررسی‌های فنوتیپی در شرایط غرقاب نشان‌دهنده این موضوع بود که صفت تعداد ریشه با ۱۰ آلل RM127A, RM231G, RM157BB, RM263E, RM60E, RM129E, RM1029D, RM1029C, RM520A و RM129H در ارتباط بوده و این صفت بیشترین ارتباط با آلل‌ها را در بین تمام صفات‌های فنوتیپی که اندازه‌گیری شده‌اند از خود نشان می‌دهد. بعد از تعداد ریشه، دو صفت طول بزرگترین برگ و طول ریشه با در ارتباط بودن با ۶ آلل بیشترین ارتباط را با آلل‌ها دارند (جدول ۱۰). صفات وزن تر

صفت طول ساقه با ۴ آلل و حجم ریشه و طول بزرگ‌ترین برگ و طول ریشه با ۲ آلل و صفت عرض بزرگ‌ترین برگ و وزن تر ساقه با ۱ آلل در ارتباط بود. از میان آلل‌ها، آلل RM1029G با مرتبط بودن با ۳ صفت وزن خشک کل ساقه و حجم کل ریشه و تعداد ریشه و آلل RM216E با مرتبط بودن با ۲ صفت وزن خشک ساقه و حجم ریشه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. پرایمر RM1029 یکی از پرایمرهای مهم در مرحله گیاهچه شناسایی شد، چون در بیش‌تر صفات در شرایط غرقاب و شرایط تنش خشکی دیده شد.

تجزیه ارتباط اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های مولکولی و اطلاعات به‌دست آمده از بررسی‌های فنوتیپی در شرایط تنش خشکی نشان‌دهنده این موضوع بود که صفت تعداد ریشه با ۷ آلل RM231B RM127D, RM157BF, RM12091B RM511A, RM1029A و RM1029G در ارتباط بوده و این صفت بیش‌ترین ارتباط با آلل‌ها را در بین تمام صفت‌های فنوتیپی که اندازه‌گیری شده‌اند از خود نشان می‌دهد. بعد از تعداد ریشه، صفت وزن خشک ریشه با در ارتباط بودن با ۶ آلل بیش‌ترین ارتباط را با آلل‌ها دارند (جدول ۱۱). صفات وزن تر ریشه با ۵ آلل و

جدول ۱۰: نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزوماهواره و صفات گیاهچه‌ای در شرایط غرقاب

F	خطای استاندارد	B	آلل	عرض از مبدأ	صفت		
۲۳/۶۰**	۰/۱۰۶	۰/۵۱۸**	RM530D	۴/۲۰۷	طول ساقه		
۱۳/۱۳**	۰/۴۱۳	۱/۴۹۷**	RM231D				
۹۵/۱۶**	۰/۱۹۷	-۱/۹۲۲**	RM60D	۴/۶۸۷	طول ریشه		
۱۰۱/۹۶**	۰/۲۶۲	۲/۶۴۶**	RM263A				
۴۵/۹۴**	۰/۲۰۴	-۱/۳۸۳**	RM304G				
۱۴۷/۳۴**	۰/۲۶۱	-۳/۱۷۶**	RM231F				
۷۸/۷۷**	۰/۲۸۵	۲/۵۳۴**	RM129A				
۳۶/۹۰**	۰/۲۰۹	۱/۲۷۱**	RM129C				
۵۱/۴۹**	۰/۹۲۴	۶/۶۳۳**	RM263E				
۸۱/۶۶**	۰/۸۰۸	-۷/۳۱۰**	RM231F				
۲۴۴/۲۷**	۱/۴۱۱	۲۲/۰۶۲**	RM127B	۱۰/۵۴۶	طول بزرگ‌ترین برگ		
۳۲/۱۳**	۰/۵۹۲	-۳/۳۵۸**	RM129B				
۲۱/۵۴**	۰/۴۷۹	۲/۲۲۶**	RM511C				
۸۸/۳۳**	۱/۷۰۲	-۱۵/۹۹۶**	RM1029I	۲/۹۴۴	عرض بزرگ‌ترین برگ		
۶/۴۱*	۰/۲۳۷	-۰/۶۰۲*	RM129G				
۲۴۹۳/۲۹**	۰/۰۴۵۵	۲/۲۷۴**	RM60E				
۳۳۸۸/۹۵**	۰/۰۴۵۹	۲/۶۷۲**	RM263E				
۲۰۸/۸۵**	۰/۰۴۸۸	-۰/۷۰۶**	RM157B				
۴۸۲/۴۶**	۰/۰۶۲	-۱/۳۸۱**	RM231G				
۳۴۶/۶۰**	۰/۰۵۴	۱/۰۱۳**	RM127A				
۱۹۹۲/۳۰**	۰/۰۳۴۸	-۱/۵۵۴**	RM129E			۴/۳۱۱	تعداد ریشه
۳۰۳/۵۱**	۰/۰۵۰۳	۰/۸۷۶**	RM129H				
۱۱۸۳/۷۷**	۰/۰۸۰	-۲/۸۶۷**	RM520A				
۸۳۴/۲۶**	۰/۰۵۳۳	۱/۵۴۰**	RM1029C				
۲۷۴/۹۷**	۰/۰۴۵۱	۰/۷۴۸**	RM1029D				

ادامه جدول ۱۰: نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزوماهواره و صفات گیاهیچه‌ای در شرایط غرقاب

F	خطای استاندارد	B	آل	عرض از مبدأ	صفات
۳۰/۶۴**	۰/۰۵۸۲	۰/۳۲۲**	RM60F		
۲۱/۷۶**	۰/۰۳۹۷	۰/۱۸۵**	RM231G	۰/۰۵۸۵	وزن تر ساقه
۱۶۰/۹۴**	۰/۰۵۵۴	۰/۷۰۳**	RM127B		
۱۷/۳۳**	۰/۰۳۵۴	۰/۱۴۷**	RM129A		
۴۴/۷۰**	۰/۰۲۲۵	۰/۱۵۰۷**	RM231D		
۱۷/۶۰**	۰/۰۳۳۵	۰/۱۴۰۷**	RM129G	۰/۰۴۰۳	وزن تر ریشه
۱۸/۰۸**	۰/۰۲۷۹	-۰/۱۱۸**	RM511F		
۵۶/۹۵**	۰/۰۹۵۱	۰/۷۱۷**	RM12091C		
۱۹/۱۷**	۰/۰۷۱۳	۰/۳۱۲**	RM530E	۰/۱۹۰۶	حجم ریشه
۲۳/۴۶**	۰/۰۸۳۴	۰/۴۰۴**	RM216E		
۲۸/۰۶**	۰/۰۷۸۲	۰/۴۱۴**	RM231D		
۷/۲۴**	۰/۰۰۶۴	۰/۰۱۷۴**	RM1029I	۰/۰۱۳۱	وزن خشک ساقه
۷/۷۳**	۰/۰۰۴۱۴	۰/۰۱۱۵**	RM231G	۰/۰۱۱۹	وزن خشک ریشه
۷/۶۸**	۰/۰۰۲۲۷	۰/۰۰۶۲۹**	RM129B		

جدول ۱۱: نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزوماهواره و صفات گیاهیچه‌ای در شرایط تنش خشکی

F	خطای استاندارد	B	آل	عرض از مبدأ	صفت
۴۳/۰۶**	۰/۱۳۸	۰/۹۰۹**	RM263E		
۹۲/۱۸**	۰/۱۱۳	-۱/۰۹۲**	RM129E	۱/۷۷۰	طول ساقه
۵۰/۹۴**	۰/۰۹۱۸	۰/۶۵۵**	RM511F		
۱۰۰/۰۳۰**	۰/۱۲۴	۱/۲۵۰**	RM1029C		
۱۳/۰۵**	۰/۱۲۳	۰/۴۴۶**	RM12091E	۲/۱۳۹	طول ریشه
۵/۸۵*	۰/۲۷۳	۰/۶۶۲*	RM1029E		
۲۰/۴۷**	۰/۳۵۲	۱/۵۹۶**	RM511F	۳/۵۸۵	طول بزرگ‌ترین برگ
۱۰/۸۴**	۰/۴۲۰	۱/۳۸۴**	RM1029C		
۸/۹۴**	۰/۱۴۷	-۰/۴۴۰**	RM511E	۱/۸۷۸	عرض بزرگ‌ترین برگ
۱۹/۵۶**	۰/۰۲۶۵	-۰/۱۱۷**	RM12091B		
۴۳/۴۸**	۰/۰۸۵۶	-۰/۵۶۴**	RM157F		
۲۵/۳۳**	۰/۱۱۲	۰/۵۶۷**	RM231B		
۵۰/۴۹**	۰/۱۰۸	۰/۷۶۸**	RM127D	۴/۱۷۲	تعداد ریشه
۲۸/۰۱**	۰/۱۲۸	-۰/۶۷۷**	RM511A		
۳۶/۶۳**	۰/۲۱۷	-۱/۳۱۹**	RM1029A		
۴۹/۴۷**	۰/۱۴۲	۱/۰۰۰۱۵**	RM1029G		
۱۸/۲۳**	۰/۰۰۷۸۷	۰/۰۳۳۶**	RM1029A	۰/۰۲۱۸	وزن تر ساقه
۲۳/۴۲**	۰/۰۰۲۸۷	-۰/۰۱۳۹**	RM12091D		
۲۱۴/۶۴**	۰/۰۰۳۵	۰/۰۸۹۳**	RM530G	۰/۰۱۸۲	وزن تر ریشه
۷۴/۹۸**	۰/۰۰۵۹	۰/۰۳۱۰**	RM127E		

۱۱۲/۷۶**	۰/۰۰۴۶	-۰/۰۶۳۳**	RM236A		
۲۰/۷۱**	۰/۰۰۳۹	-۰/۰۲۱۱۸**	RM236F		
۷/۸۴**	۰/۰۱۵۳	۰/۰۴۳۰۳**	RM216E	۰/۰۴۳۰۱	حجم ریشه
۸/۳۷**	۰/۰۲۸۳	۰/۸۱۹۸**	RM1029G		
۷/۸۴**	۰/۰۱۵۳	۰/۰۴۳۰**	RM216E	۰/۰۱۳۸	وزن خشک ساقه
۸/۳۷**	۰/۰۲۸۳	۰/۰۸۱۹**	RM1029G		

ادامه جدول ۱۱: نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزوماهواره و صفات گیاهچه‌ای در شرایط تنش خشکی

F	خطای استاندارد	B	آل	عرض از مبدأ	صفت
۹۹/۸۸**	۶/۱۱۴	-۶۱/۴۰۸**	RM263F		
۴۷/۱۷**	۴/۰۷۲	۲۷/۹۷۰**	RM304A		
۵۱/۶۸**	۴/۳۲۶	۳۱/۱۰۴**	RM304D	۲/۳۸۷	وزن خشک ریشه
۸۵/۱۴**	۸/۴۶۳	۷۸/۰۹۶**	RM157G		
۱۲۶/۶۷**	۷/۹۹۴	۸۹/۹۷۸**	RM129I		
۸۰/۳۳**	۴/۶۲۸	-۱۴/۴۸۰**	RM1029D		

بحث

خشکی) به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارقام از لحاظ عملکرد و اجزای عملکرد هر رقم در دو محیط معنی‌دار بود (Golsharkhi et al., 2015). ریزوماهواره‌ها یا توالی‌های تکراری ساده (SSR) در تشخیص تنوع موجود در گونه‌های گیاهی مهم هم‌چون پنبه، برنج، گندم، ذرت و غیره نقش به‌سزایی داشتند. نشان‌گرها بر ریزوماهواره شامل واحدهای یک تا شش تایی تکرار شونده‌اند که در ژنوم بیش‌تر یوکاریوت‌ها پراکنده‌اند به‌طوری که در هر ۱۰۰۰۰ جفت باز در طول DNA دست‌کم یک ردیف ریزوماهواره با دو ردیف منحصر به‌فرد در دو طرف آن دیده می‌شود (Skaria et al., 2011).

Youssef و همکاران (۲۰۱۰) با به کارگیری دو نشانگر مولکولی، شامل چندشکلی قطعات تکثیر شده تصادفی DNA (RAPD) و ریزوماهواره های SSR پیوسته با مقاومت به خشکی، در بررسی تنوع ۴ رقم حساس و ۶ لاین برنج متحمل به خشکی مشاهده کردند که از ۱۶ آغازگر RAPD مورد آزمایش، تنها ۵

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه وجود دارد. در پژوهشی Sabouri و Karim koshteh (۲۰۱۵) به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های برنج متحمل به شرایط تنش خشکی، ۱۴ ژنوتیپ برنج در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دو شرایط غرقاب و تنش خشکی در سال زراعی ۹۰-۹۱ مورد آزمایش قرار دادند. تفاوت بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد مطالعه وجود داشت که بیان‌گر وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها بود. واکنش متفاوت ژنوتیپ‌های برنج بین محیط غرقاب و تنش خشکی توسط تعدادی از محققین مختلف نیز بررسی شد که می‌توان به Lanceras و همکاران (۲۰۰۴) اشاره کرد. در پژوهشی به‌منظور روابط بین صفات زراعی برنج در شرایط غرقاب و تنش خشکی ژنوتیپ‌های برنج (۶ رقم متحمل به تنش خشکی و ۱ رقم بومی) در دو آزمایش جداگانه (غرقاب و

آغازگر چند شکل بودند و میزان چند شکلی ۷۳/۰۲ درصد بود. تجزیه خوشه‌ای تمام ارقام و لاین‌های جدید را در دو گروه جدا کرد و آغازگرهایی که در DNA ژنومی لاین‌های متحمل به خشکی وجود داشتند، در ارقام حساس غایب بودند که می‌توان آن‌ها را به عنوان نشانگرهای مقاومت به خشکی در نظر گرفت.

تجزیه ارتباط روشی است که با استفاده از آن می‌توان نشانگرهای مولکولی مثبت و معنی‌دار که بخش قابل توجهی از تغییرهای فنوتیپی صفت را توجیه می‌نمایند، شناسایی می‌کند (Sabouri et al., 2013). در این روش همانند تمامی روش‌های مولکولی از عدم تعادل پیوستگی بین مکان‌های ژنومی برای شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفت‌های کمی استفاده می‌شود (Raiesi and Sabouri, 2015). در این پژوهش در شرایط غرقاب از میان آل‌ها، آل RM129A با مرتبط بودن با صفات وزن تر ساقه و طول ریشه و آل RM129G با مرتبط بودن با صفات وزن تر ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ و آل RM129B با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ریشه و طول بزرگ‌ترین برگ و آل RM1029I با مرتبط بودن با صفات وزن خشک ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. در شرایط تنش خشکی در این آزمایش از میان آل‌ها، آل RM1029G با مرتبط بودن با ۳ صفت وزن خشک کل ساقه و حجم کل ریشه و تعداد ریشه و آل RM216E با مرتبط بودن با ۲ صفت وزن خشک ساقه و حجم ریشه دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. تجزیه ارتباط ۱۲۸ ژنوتیپ برنج و ۱۱ صفت زراعی در طول دو سال مورد بررسی قرار

گرفت. جمعیت با استفاده از ۱۲۵ نشانگر ریزماهواره که سراسر ژنوم را پوشش می‌دادند، انجام شد. در کل ۱۶ نشانگر ارتباط معنی‌داری با صفت مختلف نشان دادند که محققین بیان داشتند که استفاده از تجزیه ارتباط برای بررسی ژنوتیپ‌های مختلف برنج در روند برنامه‌های اصلاحی مفید و کارآمد است (Zhou et al., 2012). در پژوهشی تجزیه ارتباط برای صفات ریشه برنج را در شرایط تنش خشکی روی ۱۹۲ لاین به‌دست آمده از تلاقی ارقام عنبربو و سپیدرود با استفاده از نشانگرهای AFLP مطالعه کردند. نتایج بررسی آن‌ها نشان داد که نشانگر E110-M140-9 برای صفت طول کل ریشه‌ها، نشانگر E060-M160-11 برای وزن خشک ریشه‌ها و نشانگر E110-M160-8 برای تعداد ریشه‌ها (به ترتیب با توجیه ۶۷/۲، ۳۴/۵ و ۲۷/۹ درصد از تنوع فنوتیپی) به‌عنوان نشانگرهای مهم شناسایی شدند (Mohammad Allagh et al., 2014).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کلیه صفات بررسی شده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه دارای تفاوت معنی‌داری بودند و نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بعضی از ژنوتیپ‌ها هم در شرایط تنش و هم در شرایط غرقاب بهترین رشد را نشان دادند که می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد. نتایج تجزیه ارتباط در شرایط غرقاب و هم در شرایط تنش خشکی در مرحله گیاهچه پرایمر RM1029 به‌عنوان پرایمر مهم شناسایی نمود، لذا از این پرایمر می‌توان در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

References

- Aghazadeh, R., Gharayazi, B., Nematzadeh, B.C. and Babaeian, N. (2004).** Classification of Iranian rice germplasm by RAPD markers. *Journal of Agricultural Science*. 3: 757-767.
- 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.
- Anbumalarmathi, J. and Mehta, P. (2013).** Effect of Salt Stress on germination of indica rice varieties. *Electronical Journal of Biotechnology Science*. 6(1): 1-6.
- Bernier, J., Kumar, A., Ramaiah, V., Spaner, D. and Atlin, G. (2007).** A large-effect QTL for grain yield under reproductive-stage drought stress in upland rice. *Journal of Crop Science*. 47(2): 507-518.
- Diwan, J.M., Channbyregowda, V., Shenoy, P. and Salimath, B., Hat, R. (2013).** Molecular mapping of early vigor related QTLs in rice. *Research Journal of Biological*. 1: 24-30.
- Dixit, S., Singh, A. and Kumar, A. (2014).** Rice breeding for high grain yield under drought: a strategic solution to a complex problem *International Journal of Agronomy*. 14:1-15.
- Donde, R., Kumar, J., Gouda, G., KumarGupta, M., Mukherjee, M., YasinBaksh, Sk., Mahadani, P., KumarSahoo, K., Behera, L. and KumarDash, S. (2019).** Assessment of Genetic Diversity of Drought Tolerant and Susceptible Rice Genotypes Using Microsatellite Markers. *Rice Science*. 26(4): 239-247.
- Hussain, Z., Othman, A.M., and Othman, A.S. (2011).** Association of Commercial Rice Varieties with Weedy Rice Accessions (*Oryza sativa*) in Pulau Pinang's Rice Granary Area. *Tropical Life Sciences Research*. 22(2): 1-11.
- Karamanos, A.J. and Papatheohari, A.Y. (1999).** Assessment of drought resistance of crop genotypes by means of the water potential index. *Crop Science*. 39: 1792-1797.
- Khodabandeh, N. Cereals. (1995).** Tehran University Press.
- Kumar, A., Basu, S., Ramegowda, V. and Pereira, A. (2017).** University of Arkansas, USA. Mechanisms of drought tolerance in rice. University of Arkansas, USA, pp:131-163.
- Kumar, A., Dixit, S., Ram, T., Yadaw, R.B., Mishra, K.K. and Mandal, N.P. (2014).** Breeding highyielding drought-tolerant rice: genetic variations and conventional and molecular approaches. *Journal of Experimental Botany*. 65 (21): 6265-78.
- Lafitte, H R., Ismail, A. and Bennet, J. (2004).** Abiotic stress tolerance in rice for Asia: progress and the future, in *New directions for a diverse planet: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress*, Brisbane. Australia
- Lanceras, J.C., Pantuwan, G., Jongdee, B. and Toojinda, T. (2004).** Quantitative trait loci associated with drought tolerance at reproductive stage in rice. *Plant Physiology*. 135: 384-99.
- Mohammad Alagh, Sh., Sabouri, H. and Dadars, A.R. (2014).** Relationship analysis for rice root characteristics in drought stress conditions, 16th national conference of rice, Sari, Genetics and biotechnology and agriculture research center of Tabarestan, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari.
- Mohammad Allagh, Sh., Sabouri, H. (2014).** Relationship analysis for rice root characteristics in drought stress conditions. *Proceedings of the Sixteenth National Conference on Rice*. Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Genetics and Agricultural Technology Biotechnology Research Center, Tabarestan.
- Ndjiondjop, M.N., Cisse, F., Futakuchi, K., Lorieux, M., Manneh, B., Bocco, R. and Fatondji, B. (2010).** Effect of drought on rice (*Oryza spp.*) genotypes according to their drought tolerance level. *Innovation and Partnerships to Realize Africa's Rice Potential*, Second Africa Rice Congress, Bamako, Mali, 22-26.

- Park, G.H., Kim, J.H. and Kim, K.M. (2014).** QTL analysis of yield components in rice using a cheongcheong/nagdong doubled haploid genetic map. *American Journal of Plant Sciences*. 5: 1174-1180.
- Raiesi, T., and Sabouri, A. (2015).** Validation and association analysis of microsatellite markers related to drought and salinity tolerance in aerobic and Iranian rice under osmotic stress. *Crop Biotechnology*. 10: 57-72.
- Sabouri, A., Dadras, A.R., Khoshchehreh, H., Vatanparast, A., and Aflatouni, H. (2019).** Investigation of rice recombinant inbred lines based on drought tolerance using tolerance indices and SSR markers. *Iranian Journal Field Crop Science*. 4: 13-24.
- Sabouri, A., Sabouri, H., and Dadras, A.R. (2013).** Association analysis of closely linked markers to major QTLs Saltol and SKC1 and salt tolerance-related traits in rice varieties. *Cereal Research*. 3(1): 53-68.
- Sabouri, H., Gilaki, J., Jafarzadeh, M.R. and Sabouri, A. (2011).** Investigation of adaptation of rice varieties tolerant to drought stress in the Gonbad. *Proceedings of the First National Congress on Science and Technology of Agriculture*. September 10-12, Zanjan University, Zanjan, Iran. pp: 290-293.
- Saghi Maroof, M.A., Biyaoshev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. and Allard, R.W. (1994).** Extra ordinarily polymorphic microsatellites DNA in barley species diversity, chromosomal location, and population dynamics. *Processing of the academy of sciences, USA*, 91: 4566-5570. *Science*. 6 (12): 355- 363
- Sandhu, N. and Kumar, A. (2017).** Bridging the Rice Yield Gaps under Drought: QTLs, Genes, and Their Use in Breeding Programs. *Agronomy*. 7-27.
- Skaria, R., Sen, S. and Muneer, P. (2011).** Analysis of genetic variability in rice varieties (*Oryza sativa* L.) of Kerala using RAPD marker. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal*. 10: 1-9.
- Soroush, R., Mesbah, H., Hossein-Zadeh, H. and Bozorgypoor, A. (2005).** Study of Phenotypic and genetic variation for quantitative and qualitative trait in rice. *Seed and Plant*. 20: 167-182.
- Swamy, B.P.M., Shamsudin, N.A.A., Rahman, S.N.A., Mauleon, R., Ratnam, W., Teresa Sta, M., Kumar, C. and Kumar, A. (2017).** Association Mapping of Yield and Yieldrelated Traits Under Reproductive Stage Drought Stress in Rice (*Oryza sativa* L.). *Rice*. 10:21.
- Tabkhkar, N., Rabiei, B., Samizadeh Lahiji, H. and Hosseini Chaleshtori, M. (2018).** Genetic Variation and Association Analysis of the SSR Markers Linked to the Major Drought-Yield QTLs of Rice. *Biochemical Genetics*. 56(4): 356-374.
- Tuyen, D.D. and Prasad, D.T. (2008).** Evaluating difference of yield treat among rice genotypes (*Oryza sativa* L.) under low moisture condition using candidate gene markers. *Omonrice*. 16: 24-33.
- Venuprasad, R., Dalid, CO., Del Valle, M., Zhao, D., Espiritu, M., Sta Cruz, M.T., Amante, M., Kumar, A. and Atlin, G.N. (2009).** Identification and characterization of large-effect quantitative trait loci for grain yield under lowland drought stress in rice using bulk-segregant analysis. *Theoretical and Applied Genetics*. 120:177-190.
- Vikram, P., Swamy, M. B.P., Dixit, S.H., Ahmed, H.U., Cruz1, M.T.S., Kumar Singh, A. and Kumar, A. (2011).** qDTY1.1, a major QTL for rice grain yield under reproductive-stage drought stress with a consistent effect in multiple elite genetic backgrounds. *BMC Genetics*. 12(89):1-15.
- Youssef, M.A., Mansour, A. and Solliman, S. (2010).** Molecular markers for new promising drought tolerant lines of rice under drought stress via RAPD-PCR and ISSR markers. *Journal of American Science*. 6(12):355-363.
- 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.
Golsharkhi, M., Biabani, A., Sabouri, H., Mohammad Esmaili, M. (2015). Studying the relationship between

agronomic Traits of rice under flooding and drought stress. Environmental Stresses in Agricultural Sciences. 2(8):204-191.