

تنوع ژنتیکی و شناسایی آلل‌های ریزماهواره حاوی اطلاعات در گیاهچه‌های برنج تحت شرایط نرمال و تنش شوری

بهاره قاسمی مرزبانی^۱، حسین صبوری^{۲*}، حسین حسینی مقدم^۳، عباس بیابانی^۴، محمدجواد شیخ‌زاده^۵

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

۲. دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

۳. استادیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

۴. مربی، بخش دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۵/۱)

Genetic diversity and identification of informative microsatellite alleles in rice seedlings under normal conditions and salinity stress

Bahareh Ghasemi Marzbani¹, Hossein Sabouri^{2*}, Hossein Hosseini Moghadam³, Abbas Biabani², Mohammad Javad Sheikhzadeh⁴

1- Graduate Student, Department of Plant Production, Collage of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

2- Associate Professor, Department of Plant Production, Collage of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

3- Assistant Professor, Department of Plant Production, Collage of Agriculture Science and Natural Resource, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran.

4- Instructor, Department of Basic Sciences and Technology Engineering, University of Gonbad Kavous, Gonbad Kavous, Iran.

(Received: Jul. 23, 2019 - Accepted: Dec. 29, 2018)

Abstract

Genetic diversity is of great importance for breeding programs. In order to study the genetic diversity of 102 different rice genotypes based on seedling traits and molecular experiments, an experiment was conducted in a Completely Randomized Design with three replications. The studied traits including Plumule length, radicle length, length of the largest leaf, width of the largest leaf, number of root, fresh shoot weight, fresh weight of root and root volume, and dry weight of shoot, dry weight of root were measured. The average of the Polymorphic of information content (PIC) was estimated to be 0.2716, indicating RM1029 with the of least 0.175 and the RM216 with the highest of 0.435 (PIC). The results of Association analysis between microsatellite marker and seeding traits at normal condition indicated that the RM60B allele for root length, RM127A allele for root, RM231G allele for the fresh weight of the stem explained high percentage of variations. In saline condition, RM129H allele for stem length trait, RM12091 B allele for root attribute, RM263G allele for stem fresh weight, RM127C allele for width of largest leaf explained high percentage of phenotypic variations and were identified as important markers. The results of this experiment can be used in breeding programs.

Keywords: Rice, Association Analysis, Markers, Salinity.

چکیده

تنوع ژنتیکی به‌منظور اصلاح گیاهان زراعی و ارتقای سطح مدیریت منابع ژنتیکی از اهمیت زیادی در برنامه‌های اصلاحی برخوردار است. به‌منظور مطالعه تنوع ژنتیکی ۱۰۲ ژنوتیپ مختلف برنج بر اساس صفات گیاهچه‌ای و آزمایش‌های مولکولی، آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. صفاتی نظیر طول ساقه، طول ریشه، طول بزرگ‌ترین برگ، عرض بزرگ‌ترین برگ، تعداد ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه و حجم کل ریشه مورد بررسی قرار گرفته و سپس، وزن خشک ساقه و وزن خشک ریشه پس از قرارگیری در آون اندازه‌گیری شدند. میانگین محتوای اطلاعات چند شکل، ۰/۲۷۱۶ برآورد شد که نشانگرهای RM1029 با ۰/۱۷۵ کم‌ترین و RM216 با ۰/۴۳۵ بیش‌ترین محتوای اطلاعات چند شکل را نشان دادند. نتایج تجزیه ارتباط بین نشانگرها و صفات مورد بررسی در شرایط نرمال نشان دادند که آلل RM60B برای صفت طول ریشه، آلل RM127A برای صفت تعداد ریشه، آلل RM231G برای صفت وزن تر ساقه درصد بالایی از تنوع فنوتیپی را توجیه نمودند. در شرایط تنش شوری آلل RM129H برای صفت طول ساقه، آلل RM12091B برای صفت تعداد ریشه، آلل RM263G برای صفت وزن تر ساقه، آلل RM127C برای صفت عرض بزرگ‌ترین برگ درصد بیش‌تری از تنوع فنوتیپی را توجیه نمودند و به‌عنوان نشانگرهای مهم شناسایی شدند. از نتایج این آزمایش می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی برنج استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه ارتباط، نشانگرها، شوری.

مقدمه

برنج از گیاهان زراعی مهم اغلب کشورهای آسیایی و از جمله ایران است (Moradi & Younesi, 2009). برنج پس از گندم و ذرت مهم‌ترین غله تأمین‌کننده غذا در جهان می‌باشد. به طوری که غذای بیش از نیمی از جمعیت جهان را فراهم می‌کند. قدرت جوانه‌زنی یا توانایی گیاه برای رشد سریع بیش‌تر یکی از صفات مفید برای گیاه در شرایط عادی و تنش می‌باشد (Redona, 1996). اثرات اسمزی و سمی شوری می‌تواند موجب کاهش آماس سلولی، کاهش فعالیت آنزیم‌ها، جلوگیری از فتوسنتز و باعث افزایش استفاده از انرژی متابولیکی در فرآیندهای غیر رشدی مرتبط با سازوکار تحمل گیاه گردند (Meybodi & Gharayazi, 2002; Postini, 1995).

برنج به شوری نسبتاً حساس است (Gregorio, 2001; Lang et al., 1997). تنش شوری رشد گیاهچه و سرعت جوانه‌زنی را کاهش می‌دهد و ارزیابی تنش شوری روی طول ریشه و اندام هوایی، روشی برای بررسی تحمل به شوری در اکثر محصولات زراعی است (Munns, 2002). شوری رشد گیاه برنج را در مراحل مختلف رشد از جوانه‌زنی تا رسیدن کامل به درجات مختلف تحت تأثیر قرار می‌دهد (Lang et al., 2001). بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی در سرتاسر جهان با مشکل شوری (۳۹۷ میلیون هکتار) و یا قلیائیت (۴۳۴ میلیون هکتار) روبرو می‌باشند. این مقدار برابر با ۲۰ درصد اراضی قابل کشت و ۵۰ درصد اراضی آبی جهان می‌باشد (Nakhoda et al., 2012). تلاش برای کاهش شوری خاک با استفاده از روش‌های مکانیکی و اصول به‌زراعی مانند آبیاری، زهکشی و اصلاح خاک به‌طور معمول کاربردی نبوده و از لحاظ اقتصادی مقرون به‌صرفه نمی‌باشد و برای تداوم زراعت برنج در این نواحی به وارسته‌های مقاوم با توانایی بیش‌تر در برابر تنش شوری نیاز می‌باشد (Kavousi, 2001). جوانه‌زنی یکی از بحرانی‌ترین

مراحل رشد گیاه در شرایط تنش شوری می‌باشد. بررسی و بازبینی مراحل جوانه‌زنی و گیاهچه برای مشخص کردن تحمل گیاهان به شوری مؤثر و کاربردی‌تر بوده و مرحله مناسبی برای شناسایی گیاهان متحمل به شوری است (Greenway & Munns, 1980; Blum, 1988).

تحمل به شوری مانند سایر تنش‌های محیطی در گیاهان عالی یک صفت پیچیده ژنتیکی و فیزیولوژیکی است. بیش‌تر فرآیندهای گیاهی که در تحمل به شوری مهم هستند، دارای توارث کمی بوده و تنوع پیوسته نشان می‌دهند و تحت تأثیر شرایط محیطی نیز هستند (Koyama et al., 2001). تحقیقات نشان داده‌اند که برنج در مرحله جوانه‌زنی نسبت به شوری مقاوم است اما در مرحله ۱ تا ۲ برگی بسیار حساس می‌باشد و مقاومت برنج در طول دوره رویشی (پنجه‌زنی و طویل شدن ساقه) افزایش و در مرحله گرده افشانی و لقاح کاهش یافته و در مرحله رسیدگی مجدداً افزایش می‌یابد (Clarkson & Hanson, 1980; Zheng et al., 1996; Lee et al., 2003; Moradi, 2002; Yan et al., 1999; Isfahani, 1990). در پژوهشی نشان دادند که اجزای عملکرد در برنج، به‌شدت تحت تأثیر تنش شوری واقع می‌شوند. همچنین طول خوشه، تعداد گلچه‌های هر خوشه و وزن دانه، وزن دانه هر بوته، وزن دانه‌های هر خوشه، تعداد خوشه، باروری و شاخص برداشت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرند (Flowers, 1990; Akbar et al., 1986). در پژوهشی با بررسی اثر شوری روی گیاهچه‌های برنج نشان دادند که لاین‌های متحمل دارای نسبت ریشه به ساقه بالاتری هستند. آن‌ها نسبت ریشه به ساقه را ویژگی مهمی در گزینش ارقام برای تحمل به تنش شوری معرفی نمودند (Ali & Avon, 2004).

تلاش‌های به‌نژادگران گیاهی با استفاده از نشانگرهای مولکولی برای افزایش تحمل به تنش شوری شتاب بیش‌تری به‌خود گرفته و یکی از

صفات عملکرد، تعداد دانه پر و پوک، درصد زنده‌مانی دانه گرده و همچنین در مرحله رویشی از نظر کد ژنوتیپی مورد بررسی فنوتیپی قرار دادند. آن‌ها پس از تعیین ژنوتیپ ارقام با استفاده از نشانگرهای پیوسته به *Saltol* دو نشانگر RM10745 و RM8094 را در ۱۶ هاپلوتایپ شناسایی نمودند که توانسته بودند تفکیک مناسب و مؤثری بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ تحمل به شوری در مرحله زایشی ایجاد نمایند (Mohammadi-Nejad *et al.*, 2010).

در پژوهشی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره از یک جمعیت برنج شامل ۱۶۴ بوته F₂ حاصل از تلاقی K81 (مقاوم به جوانه‌زنی پیش از برداشت) و G64B (حساس به جوانه‌زنی پیش از برداشت)، سه QTL برای کنترل جوانه‌زنی پیش از برداشت شناسایی کردند. در بین QTL‌های شناسایی شده، qPSR8 را که به ترتیب در فاصله نشانگرهای RM447 و RM3754 روی کروموزوم شماره ۸ با توجیه ۴۳/۰۴ درصد قرار داشت، به‌عنوان QTL بزرگ‌اثر، معرفی شد (Gao *et al.*, 2013). هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی تنوع مولکولی و مورفولوژیک بین تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج تحت شرایط نرمال و تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای و شناسایی نشانگرهای حاوی اطلاعات هر یک از صفات مورد مطالعه بود.

مواد و روش‌ها

ارزیابی فنوتیپی

این پژوهش به‌منظور بررسی واکنش رقم‌های برنج به تنش شوری به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۷ اجرا شد. این آزمایش با ۱۰۲ ژنوتیپ برنج دریافت‌شده از مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج در قالب تفاهم مشترک دانشگاه گنبد کاووس و آن مؤسسه انجام شد (جدول ۱).

پیشرفت‌های بزرگ در این زمینه شناسایی یک ناحیه کروموزومی بزرگ‌اثر بود که در تنظیم جذب سدیم، جذب پتاسیم، نسبت سدیم به پتاسیم و تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای در برنج مؤثر است (Gregorio, 1997). در پژوهشی ۳۳ ژنوتیپ را به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی از نظر تحمل به شوری، با کمک نشانگرهای ریزماهواره مورد آزمون قرار دادند. ۱۲۳ آلل در بین ژنوتیپ‌ها تکثیر شدند. از بین نشانگرهای مورد استفاده OSR12 کم‌ترین و OSR2 بیش‌ترین تعداد آلل را تکثیر نمودند. محتوای اطلاعات بین ۰/۰۸ تا ۰/۸۵ متغیر بود. آن‌ها همچنین بیان کردند که تحمل برنج به شوری در هر ژنوتیپ به زمینه ژنتیکی آن‌ها بستگی دارد (Zeng *et al.*, 2004).

در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی بین ۷۵ ژنوتیپ برنج پاکستان با استفاده از ۳۵ نشانگر ریزماهواره و تأثیر آن روی صفات زراعی را بررسی نمودند. از بین نشانگرهای مطالعه شده، ۳۲ نشانگر در مجموع ۱۴۲ آلل چند شکل تولید کردند، در حالی که ۳۰ نشانگر یک‌شکل بودند. تعداد آلل‌های تولیدشده توسط نشانگرهای فوق از ۲ تا ۱۳ آلل متغیر بود و به طور متوسط ۴/۴ آلل برای هر جایگاه مشاهده شد. محتوای اطلاعات چند شکل از ۰/۱۲۴ تا ۰/۸۳۶ و میانگین آن ۰/۵۶۹ بود. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای از ناحیه میزان ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۴ ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه تقسیم کرد. هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی تنوع مولکولی و مورفولوژیک و بررسی رابطه بین تنوع مورفولوژیک و مولکولی و شناسایی نشانگرهای حاوی اطلاعات هر یک از صفات مورد مطالعه بود (Pervaiz *et al.*, 2010).

در پژوهشی برای هاپلوتایپینگ ۳۰ ژنوتیپ برنج شامل ارقام اصلاح‌شده و بومی فیلیپین در مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج فیلیپین از نشانگرهای پیوسته به ناحیه *Saltol* استفاده کردند و ژنوتیپ‌ها را از نظر مقاومت به شوری در مرحله زایشی با ارزیابی

تحت آبیاری با محلول نمک NaCl با غلظت ۸ دسی‌زیمنس قرار گرفتند. بعد از گذشت ۱۴ روز، صفات طول ساقه، طول ریشه، طول بزرگ‌ترین برگ، عرض بزرگ‌ترین برگ، تعداد ریشه، وزن تر کل ساقه، وزن تر کل ریشه و حجم کل ریشه اندازه‌گیری شد و صفات وزن خشک کل ساقه، وزن خشک کل ریشه پس از قرار گرفتن نمونه‌ها در آون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت ثبت شد.

ژنوتیپ‌های مذکور شامل ارقام سوپر گرین (متحمل به تنش‌های شوری و خشکی) و ژنوتیپ‌های اصلاح-شده برای مناطق کم آب بودند. سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر کلرید سدیم در نظر گرفته شد. ابتدا بذره‌های سالم از هر ژنوتیپ شسته و پس از ضد عفونی با محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم و شست‌وشوی مجدد با آب مقطر، به تعداد پنج عدد بذر در هر ظرف قرار داده شد. تا مرحله سه برگی تکرارهای تیمار شاهد و تنش تحت شرایط یکسان آبیاری شدند و از سه برگی به بعد تکرارهای تنش

جدول ۱. شماره و نام ژنوتیپ‌های مورد بررسی

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

کاهش یک درجه دمای اتصال آغازگرها در هر دور تا رسیدن به دمای واقعی اتصال) برنامه‌ریزی شد (جدول ۲ و ۳).

تجزیه‌های آماری

پارامترهای تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه مانند شاخص اطلاعات شانون، نی و محتوای چندشکلی اطلاعات با استفاده از نرم‌افزار POPGENE ver32 و Powe marker محاسبه گردید. همچنین جهت رابطه بین هر کدام از صفات ثابت‌شده با اطلاعات حاصل از نشانگرهای SSR با استفاده از روابط رگرسیون و به کمک نرم‌افزار SPSS 22 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته شد.

ارزیابی ژنوتیپی

به‌منظور استخراج DNA، بذور کلیه ژنوتیپ‌های مورد بررسی در گلدان‌های ۰/۵ لیتری در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشگاه گنبد کاووس کشت شدند و پس از رشد در مرحله چند برگگی، نمونه‌های برگگی هر ژنوتیپ جدا شدند و در مرحله بعد DNA ژنومی آن‌ها به‌روش *Saghai Maroof et al.* (1994) استخراج گردید و برای تعیین غلظت و کیفیت DNA استخراج شده از الکتروفورز ژل آگارز استفاده شد و نمونه‌هایی که کیفیت DNA آن‌ها مناسب نبود، مجدداً استخراج شدند. برای انجام واکنش PCR لوله‌ها یا تیوب‌ها در دستگاه در معرض دوره‌های حرارتی بهینه‌شده قرار گرفتند و دستگاه برای ۳۶ دور واکنش به صورت دمای کاهش (با

جدول ۲. مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در نشانگرهای SSR

مقدار مواد (میکرولیتر)	غلظت مواد	اجزای واکنش
1	1X	PCR10X بافر
0.48	50 mM	MgCl ₂
0.6	10 mM	Dntp
0.12		پلی‌مراز DNA Taq انزیم
0.75	60 ng	آغازگر پیشرو
0.75	60 ng	آغازگر پسرو
2.5	0.75-0.5ng	DNA رقیق شده
3.8		H ₂ O
10		حجم نهایی

جدول ۳. برنامه حرارتی برای تکثیر جایگاه‌های SSR

مرحله واکنش	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (دقیقه) و (ثانیه)	تعداد چرخه
واسرشته‌سازی اولیه DNA	95	5'	1
واسرشته‌سازی DNA	95	45"	10
اتصال آغازگرها	-		
ستنز	72	45"	25
واسرشته‌سازی DNA	95	45"	
اتصال آغازگرها	-	45"	1
ستنز	72	45"	
تکثیر نهایی	72	5'	

جدول ۴. اطلاعات نشانگرهای SSR مورد مطالعه

نشانگر	کروموزوم	آغازگر همسو	آغازگر معکوس	منبع
RM530	2	GCACTGACCACGACTGTTTG	ACCGTAACCCGGATCTATCC	(Vikram <i>et al.</i> 2011) (Donde <i>et al.</i> , 2019)
RM127	4	GTGGGATAGCTGCGTCGCGTCG	AGGCCAGGGTGTGGCATGCTG	(Lanceras <i>et al.</i> , 2004)
RM129	1	TCTCTCCGGAGCCAAGGCGAGG	CGAGCCACGACGCGATGTACCC	(Prasad <i>et al.</i> , 2016) (Dixit <i>et al.</i> , 2014),
RM216	10	GCACTGGCCGATGGTAAAG	TGTATAAAACCACACGGCCA	(Vikram <i>et al.</i> , 2011), (Diwan <i>et al.</i> , 2013),
RM231	3	CCAGATTATTCCTGAGGTC	CACTTGCATAGTTCTGCATTG	(Tabkhkar <i>et al.</i> , 2018) (sabouri <i>et al.</i> , 2018)
RM236	2	GCGCTGGTGGAAAATGAG	GGCATCCCTCTTGATTCTC	(Sandhu and Kumar, 2017); (kumar <i>et al.</i> , 2014)
RM22	3	GGTTTGGGAGCCCATAATCT	CTGGGCTTCTTTCACTCGTC	(Donde <i>et al.</i> , 2019), (Vikram <i>et al.</i> 2011)
RM60	3	AGTCCCATGTTCCACTTCCG	ATGGCTACTGCCTGTACTAC	(Donde <i>et al.</i> , 2019), (Vikram <i>et al.</i> 2011)
RM12091	1	CTGCAAATGCACAGGAATCAGG	TCTCTCGCCTTTCTTTCTCTCC	(Vikram <i>et al.</i> , 2011)
RM263	2	CCCAGGCTAGCTCATGAACC	GCTACGTTTGAGCTACCACG	(Vikram <i>et al.</i> , 2011)
RM520	3	AGGAGCAAGAAAAGTTCCCC	GCCAAATGTGTGACGCAATAG	(Venuprasad <i>et al.</i> , 2009)
RM511	12	CTTCGATCCGGTGACGAC	AACGAAAGCGAAGCTGTCTC	(Bernier <i>et al.</i> , 2007) (Prasad <i>et al.</i> ,
RM157	3	CCTCCTCCTCACGAATCCC GCC	GGGCTTCTTCTCCGCCGGCTTC	2016); (Hussain <i>et al.</i> , 2011)
RM1029	1	GATTTCTGCGAATGAGAGAAGG	GACTTCAGGGACAAGCAGTTCC	(Kumar <i>et al.</i> , 2017)
RM304	10	TCAAACCGGCACATATAAGAC	GATAGGGAGCTGAAGGAGATG	(Swamv <i>et al.</i> , 2017); (Kumar <i>et al.</i> , 2017)

جدول ۵. مقدار ویژه و نسبت واریانس تجمعی و مطلق

عامل‌های استخراج‌شده			
مؤلفه	مقدار ویژه	واریانس تجمعی	واریانس مطلق
1	2.363	5.361	5.361
2	1.648	9.101	3.74
3	1.550	12.619	3.518
4	1.196	15.333	2.714
5	1.119	17.873	2.54
6	1.086	20.338	2.465

سودمندی نشانگرهای ریزماهواره

در مجموع در ۱۰۲ ژنوتیپ مورد بررسی بر اساس ۱۵ نشانگر ریزماهواره، ۱۳۲ آلل با میانگین ۸ آلل در هر مکان ژنی مشاهده شد (جدول ۶). نشانگر RM1۲۷ دارای بیش‌ترین تعداد آلل (۱۲) و نشانگرهای ۲۱۶ RM دارای کم‌ترین تعداد آلل (پنج) بودند. میانگین محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) ۰/۲۷۱۶ برآورد شد که نشانگرهای ۱۰۲۹ RM با ۰/۱۷۵۳ کم‌ترین و ۲۱۶ RM با ۰/۴۳۵۶ بیش‌ترین PIC نشان دادند. نشانگر ۱۰۲۹ RM با ۰/۸۹ بیش‌ترین تنوع ژنی و

نتایج و بحث

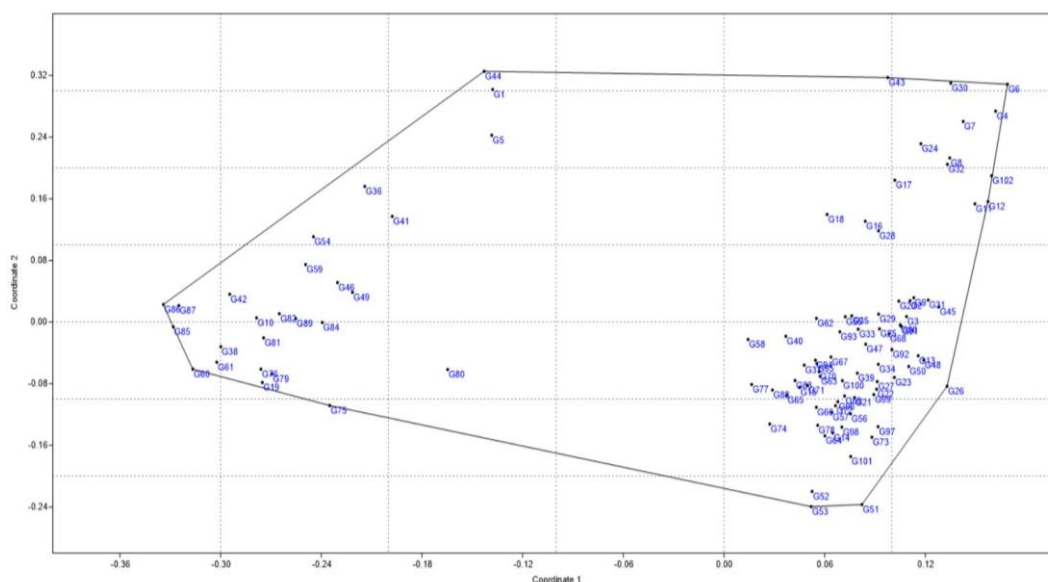
به‌منظور تعیین میزان توجیه مقادیر واریانس متغیرهای اولیه توسط چند مؤلفه اصلی اول و تعیین ژنوتیپ‌های تأثیرگذار، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد. در این بررسی ۶ مؤلفه توانستند ۲۰/۳۳۸ درصد از تغییرات را توجیه نمایند. با توجه به جدول ۵، اولین مؤلفه ۵/۳۶۱ درصد از تغییرات را توجیه کرد و مؤلفه دوم ۳/۷۴ درصد از تغییراتی که مؤلفه اول توجیه نمی‌کرد را توجیه نمود. به‌همین ترتیب روند توجیه تغییرات توسط مؤلفه‌ها ادامه داشت و در نهایت مؤلفه ششم ۲/۴۶۵ درصد از تغییراتی که توسط ۵ مؤلفه قبلی توجیه نشده بود را توجیه کرد.

ژنوتیپ‌های تأثیرگذار و بحرانی

تجزیه بای‌پلات با استفاده از نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی براساس نشانگرهای مرتبط با تنش خشکی نشان داد که ژنوتیپ‌های ۴۴، ۴۳، ۳۰، ۶، ۱۰۲، ۱۲، ۲۶، ۵۱، ۵۳، ۷۵، ۶۰، ۸۵، ۸۶ از ژنوتیپ‌های بحرانی بودند و نقش مهم‌تری در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها داشتند (شکل

مقدار PIC برای ۲۵ نشانگر ریزماهواره از ۰/۷۴ تا ۰/۹۲ متغیر بود (Grishmashah *et al.*, 2012). همان‌طور که در جدول ۶ نشان داده شده است بیش‌ترین تعداد آلل مؤثر مربوط به RM216 با مقدار ۱/۴۵۰ و بیش‌ترین شاخص نی و شاخص شانون مربوط به RM12091 به ترتیب با مقادیر ۰/۲۸۸ و ۰/۴۵۳ می‌باشد. نشانگرهایی که دارای شاخص‌هایی با تنوع بالاتری هستند از قدرت تفکیک بیش‌تری برخوردار می‌باشند.

نشانگر RM ۲۱۶ با ۰/۷۱ کم‌ترین تنوع ژنی را داشتند و متوسط تنوع ژنی ۰/۸۱ برآورد شد. نتایج و میانگین‌های بالای تعداد آلل مؤثر، ارزش PIC و تنوع ژنی مشاهده شده، در جایگاه‌های ریزماهواره بیانگر کارآمدی ریزماهواره‌های مورد استفاده برای تمایز ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج و وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد. در مطالعه‌ای ۳۰ نشانگر ریزماهواره استفاده شد که ۲۵ نشانگر چندشکل بودند و ۲۳۱ آلل تولید کردند. تعداد آلل‌ها از ۵ تا ۱۷ آلل متغیر بوده و میانگین آن ۹/۴ آلل در هر نشانگر بود.



شکل ۱. تعیین ژنوتیپ‌های بحرانی با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی توسط نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با تحمل به خشکی

جدول ۶. تنوع نشانگرهای ریزماهواره در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه

نشانگر	فراوانی آلل	تعداد آلل	تنوع ژنی	محتوای اطلاعات چند شکل (PIC)	تعداد آلل مؤثر	شاخص نی	شاخص شانون
RM12091	0.3100	6	0.7726	0.3100	1.438	0.288	0.453
RM60	0.4227	9	0.7240	0.4227	1.282	0.179	0.291
RM22	0.3100	6	0.7954	0.3100	1.375	0.257	0.418
RM263	0.1980	11	0.8525	0.1980	1.222	0.167	0.291
RM530	0.2606	8	0.8117	0.2606	1.328	0.229	0.374
RM216	0.4356	5	0.7144	0.4356	1.450	0.284	0.448
RM304	0.2017	10	0.8465	0.2017	1.253	0.187	0.321
RM157	0.2017	10	0.8465	0.2017	1.324	0.225	0.369
RM231	0.3673	7	0.7724	0.3673	1.322	0.217	0.357
RM127	0.1771	12	0.8861	0.1771	1.180	0.145	0.267
RM129	0.2105	10	0.8517	0.2105	1.248	0.186	0.323
RM236	0.2882	9	0.7962	0.2882	1.329	0.222	0.362
RM520	0.2771	8	0.8074	0.2271	1.264	0.189	0.320
RM511	0.2277	10	0.8527	0.2277	1.226	0.170	0.298
RM1029	0.1753	11	0.8911	0.1753	1.213	0.173	0.312
Mean	0.2716	8	0.8147	0.2716	1.279	0.1987	0.3349

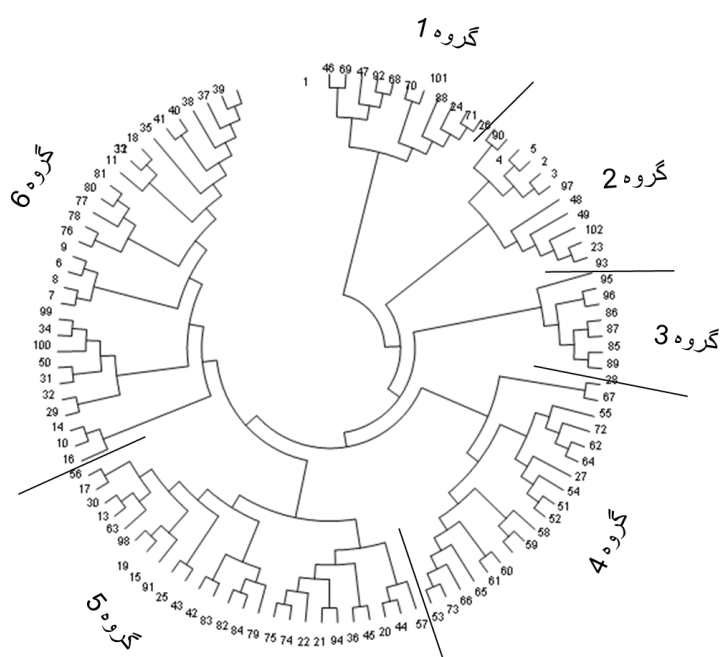
تجزیه خوشه‌ای

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با تجزیه خوشه‌ای براساس روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد و برش دندروگرام باعث گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در ۶ گروه گردید که گروه اول دارای ژنوتیپ‌های ۷۱، ۲۴، ۸۸، ۷۰، ۱۰۱، ۶۸، ۹۲، ۴۷، ۶۹، ۴۶، ۱ و گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های ۲۳، ۱۰۲، ۴۹، ۴۸، ۹۷، ۳، ۲، ۵، ۴، ۹۰، ۲۶ و گروه سوم دارای ژنوتیپ‌های ۸۹، ۸۵، ۸۷، ۸۶، ۹۶، ۹۵، ۹۳ و گروه چهارم شامل ژنوتیپ‌های ۵۷، ۵۳، ۵۳، ۶۴، ۶۶، ۶۵، ۶۱، ۶۰، ۵۹، ۵۸، ۵۲، ۵۱، ۵۴، ۲۷، ۶۲، ۶۴، ۷۲، ۶۷، ۵۵، ۲۸ و گروه پنجم شامل ژنوتیپ‌های ۵۶، ۱۷، ۳۰، ۱۳، ۹۸، ۱۹، ۱۵، ۹۱، ۲۵، ۴۳، ۴۲، ۸۳، ۸۲، ۸۴، ۷۹، ۷۵، ۷۴، ۲۲، ۲۱، ۹۴، ۳۶، ۴۵، ۲۰، ۴۴ و گروه ششم شامل ژنوتیپ‌های ۳۹، ۳۷، ۳۸، ۴۰، ۴۱، ۳۵، ۳۳، ۱۸، ۱۲، ۱۱، ۸۱، ۸۰، ۷۷، ۷۸، ۷۶، ۹، ۶، ۹۹، ۳۴، ۱۰۰، ۵۰، ۳۱، ۳۲، ۲۹، ۱۴، ۱۰، ۱۶ می‌باشند (شکل ۲). در مطالعه‌ای بیش‌ترین هتروزیگوزیستی در واریته‌های بومی نسبت به واریته‌های اصلاح شده مشاهده شد (Alvarez *et al.*, 2007). تجزیه خوشه‌ای تنوع ژنتیکی بین ارقام مورد مطالعه را بر اساس منشأ آن‌ها نشان داد و توانست

ارقام را مطابق با منشأ آن‌ها در سه گروه مختلف تقسیم کند.

تجزیه ارتباط

به‌منظور تعیین بین صفات مورفولوژیک و آلل‌های تکثیر یافته، داده‌های مولکولی روی هر کدام از صفات برداشش داده شدند. برای صفت طول ساقه در مرحله نرمال با ۲ آلل، صفت طول ریشه با ۶ آلل، صفت تعداد ریشه با ۵ آلل، طول بزرگ‌ترین برگ با ۴ آلل، صفت وزن تر ساقه، صفت وزن تر ریشه، صفت حجم ریشه، طول بزرگ‌ترین برگ، وزن خشک ریشه هر کدام با ۳ آلل رابطه مثبت و معنی‌دار داشتند. وزن خشک ساقه با یک آلل RM1029I رابطه مثبت و معنی‌دار داشت. در میان آلل‌ها، آلل RM129G با مرتبط بودن با ۳ صفت وزن خشک ریشه و وزن تر ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ دارای بیش‌ترین ارتباط با صفات‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. بعد از این آلل، آلل RM1029I با مرتبط بودن با ۲ صفت وزن خشک ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ در رتبه بعدی در دسته‌بندی آلل‌ها بر اساس تعداد ارتباط با صفات‌ها قرار می‌گیرند.



شکل ۲. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره

حجم کل ریشه با ۳ آلل، صفت وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه با ۵ آلل رابطه مثبت و معنی‌دار داشتند. در میان آلل‌ها، آلل RM129I با مرتبط بودن با ۴ صفت دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بود. بعد از این آلل، آلل‌های RM12091A، RM1291H و RM129H هر کدام با ۳ ارتباط دارای رتبه‌های بعدی در دسته‌بندی آلل‌ها بر اساس تعداد ارتباط با صفت‌ها قرار می‌گیرند.

نتایج نشان دادند که نشانگر RM60B برای صفت طول ریشه، نشانگر RM127A برای صفت تعداد ریشه، نشانگر RM231G برای صفت وزن تر ساقه با توجیه زیاد از تنوع فنوتیپی به‌عنوان نشانگرهای مهم شناسایی شدند (جدول ۷). صفت طول ساقه در مرحله تنش شوری با ۴ آلل، صفت طول ریشه با ۲ آلل، صفت طول بزرگ‌ترین برگ با ۳ آلل، صفت عرض بزرگ‌ترین برگ، تعداد ریشه، وزن تر ساقه با ۲ آلل، وزن تر ریشه با ۶ آلل، صفت

جدول ۷. تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات گیاهی در شرایط نرمال

صفت	عرض از مبدأ	آلل	B	STD	F
طول ساقه	4.207	RM530D	0.518**	0.106	23.60**
		RM231D	1.497**	0.413	13.13**
طول ریشه	4.687	RM12091E	0.399*	0.150	7.07*
		RM60B	0.937**	0.190	24.32**
		RM60D	-1.922**	0.197	95.16**
		RM263A	2.646**	0.262	101.96**
		RM304G	-1.383**	0.204	45.94**
		RM231F	-3.176**	0.261	147/34**
		RM129A	2.534**	0.285	78.77**
		RM129C	1.271**	0.209	36.90**
		RM236E	0.946**	0.180	27.2**
		RM263E	6.633**	0.924	51.49**
طول بزرگ‌ترین برگ	10.546	RM231F	7.310**	0.808	81.66**
		RM127B	22.062**	1.411	244.27**
		RM129B	-3.358**	0.529	32.13**
		RM511C	2.226**	0.479	21.54**
		RM1029I	-15.996**	1.702	88.32**
		RM129G	-0.602*	0.237	6.41*
تعداد ریشه	4.311	RM12091E	0.093*	0.0361	6.71*
		RM60E	2.274**	0.04555	2493.29**
		RM263E	2.672**	0.0459	3388.95**
		RM231G	-1.381**	0.062	482.42**
		RM127A	1.013**	0.054	346.60**
		RM129E	-1.554**	0.0348	1992.30**
		RM520A	-2.867**	0.080	1183.77**
		RM1029G	0.238**	0.0552	18.72**
وزن تر ساقه	0.0585	RM60F	0.322**	0.0582	30.64**
		RM231G	0.185**	0.0397	21.76**
		RM127B	0.703**	0.0554	160.94**
وزن تر ریشه‌چه	0.0403	RM157E	0.1075**	0.0269	15.90**
		RM231D	0.1507**	0.0225	44.70**
		RM129G	0.1407**	0.0335	17.60**
		RM511F	-0.118**	0.0279	18.08**
حجم ریشه	0.1906	RM12091C	0.717**	0.0951	56.95**
		RM216E	0.404**	0.0834	23.46**
		RM231D	0.414**	0.0782	28.06**
وزن خشک ساقه	0.0131	RM1029I	0.0174*	0.0064	7.24*
وزن خشک ریشه	0.0119	RM231G	0.0115**	0.00414	7.73**
		RM129B	0.00629**	0.00227	7.68**
		RM129G	0.00733*	0.00299	5.98*

شناسایی شدند (جدول ۸). در پژوهشی تجزیه ارتباط ۱۲۸ ژنوتیپ برنج و ۱۱ صفت زراعی در طول دو سال مورد بررسی قرار دادند. این پژوهش 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 استفاده از تجزیه ارتباط برای بررسی ژنوتیپ‌های مختلف برنج در روند برنامه‌های اصلاحی مفید و کارآمد است (Zhou *et al.*, 2012).

آل‌های RM129G و RM12091B هر کدام با ۲ ارتباط دارای رتبه‌های بعدی در دسته‌بندی قرار می‌گیرند. نتایج نشان دادند که نشانگر RM129H برای صفت طول ساقه، نشانگر RM12091B برای صفت تعداد ریشه، نشانگر RM263G برای صفت وزن تر کل ساقه، نشانگر RM127C برای صفت عرض بزرگ‌ترین برگ به ترتیب بالاترین درصد توجه از تنوع فنوتیپی به‌عنوان نشانگرهای مهم

جدول ۸. تجزیه ارتباط بین نشانگرهای ریزماهواره و صفات گیاهچه‌ای در شرایط تنش شوری

صفت	عرض از مبدأ	آل	B	STD	F
طول ساقه	403.647	RM304A	-21198.558**	2259.102	88.05**
		RM231G	891176.773**	3430.503	405994.1**
		RM129H	24916.185**	3400.245	53.70**
		RM129I	43137.704**	4556.307	89.63**
		RM520A	71119.178**	4017.134	313.43**
طول ریشه	-9016.099	RM263H	118327.125**	36483.399	10.52**
		RM129G	118326.834**	36483.399	10.52**
طول بزرگ‌ترین برگ	-1657528.84	RM263H	10221550.606**	3314010.816	9.51**
		RM304H	6795914.639*	2740174.907	6.15*
		RM1029H	14503556.050**	3802206.840	14.55**
عرض بزرگ‌ترین برگ	3.10532	RM231D	5.427**	0.619	76.86**
		RM127C	-6.405**	1.463	19.14**
		RM129I	10.514**	1.393	56.92**
تعداد ریشه	3.266	RM12091B	-0.119*	0.044	57.39*
		RM231A	-1.289**	0.174	54.40**
		RM231D	-0.936**	0.136	47.33**
		RM129H	-0.950**	0.238	15.86**
		RM236C	1.408**	0.155	81.70**
		RM511F	1.565**	0.182	73.42**
وزن تر ساقه	0.239	RM12091A	0.501**	0.084	34.88**
		RM12091B	1.047**	0.122	73.32**
		RM263G	-2.160**	0.369	34.12**
		RM1029B	-2.781**	0.551	25.43**
وزن تر ریشه	0.00054	RM12091A	0.009**	0.00037	27.10**
		RM22B	0.0115*	0.0043	7.03*
		RM263E	0.0114**	0.0031	13.56**
		RM129I	0.0241**	0.0047	25.59**
		RM511E	0.0145**	0.0030	22.47**
		RM1029J	0.0082**	0.0028	8.68**
حجم ریشه	0.0096	RM520G	0.055**	0.017	10.25**
		RM511A	0.080**	0.026	15.26**
		RM1029B	0.0998**	0.016	38.58**
وزن خشک ساقه	-0.0023	RM12091A	0.0056**	0.0013	16.09**
		RM263A	0.037**	0.010	13.92**
		RM263E	0.068**	0.010	39.57**
		RM530F	-0.023*	0.009	6.17*
		RM304G	-0.025*	0.010	6.40*
		RM129I	0.083**	0.016	25.48**
		RM511E	0.048**	0.011	35.80**
وزن خشک ریشه	0.0053	RM127I	-0.0049**	0.001	9.18**
		RM129G	0.010**	0.001	31.67**
		RM129H	0.015**	0.002	50.04**
		RM236B	0.010**	0.002	25.46**
		RM236F	0.014**	0.001	53.29**
		RM511J	0.016**	0.003	26.16**

بر اساس تعداد ارتباط با صفت‌ها قرار می‌گیرند. در میان آلل‌ها، آلل RM129I، با مرتبط بودن با ۴ صفت دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بود. بعد از این آلل، آلل‌های RM129H و RM12091A هر کدام با ۳ ارتباط و آلل‌های RM12091B و RM129G هر کدام با ۲ ارتباط دارای رتبه‌های بعدی در دسته‌بندی قرار می‌گیرند. به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که انتخاب بر اساس نشانگرهای مولکولی تأیید شده می‌تواند برای تسریع برنامه‌های اصلاح کلاسیک جهت انتخاب ژنوتیپ‌های برتر بسیار ارزشمند باشند.

نتیجه‌گیری کلی

نشانگر RM129I دارای بیش‌ترین تعداد آلل (۱۲) و نشانگرهای RM ۲۱۶ دارای کم‌ترین تعداد آلل (پنج) بودند. میانگین محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) ۰/۲۷۱۶ برآورد شد که نشانگرهای RM ۱۰۲۹ با ۰/۱۷۵۳ کم‌ترین و RM ۲۱۶ با ۰/۴۳۵۶ بیش‌ترین PIC نشان دادند. در میان آلل‌ها در شرایط نرمال، آلل RM129G با مرتبط بودن با ۳ صفت وزن خشک کل ریشه و وزن تر ریشه و عرض بزرگ‌ترین برگ دارای بیش‌ترین ارتباط با صفت‌های مورد ارزیابی در آزمایش بودند. بعد از این آلل RM1029I با مرتبط بودن با ۲ صفت وزن خشک ساقه و طول بزرگ‌ترین برگ در رتبه بعدی در دسته‌بندی آلل‌ها

REFERENCES

- Akbar M, Gunawardena IE, Ponnampereuma FN (1986) Breeding for Soil Stresses. IRRI. Los Banos. Laguna (Philippines). 971:104-167.
- Ali Y, Awan AR (2004) Influence of salinity at seedling stage and on yield and yield components of different rice lines. Int J of Bio Biotech. 1:175-179.
- Alvarez A, Fuentes JL, Puldón V, Gómez PJ, Mora L, Duque MC, Gallego G, Tohme JM (2007) Genetic diversity analysis of Cuban traditional rice (*Oryza sativa* L.) varietie based on microsatellite markers. Genet Mol Bio. 4: 1109-1117.
- Bernier J, Kumar A, Ramaiah V, Spaner D, Atlin G (2007) A large-effect QTL for grain yield under reproductive-stage drought stress in upland rice. J. Crop Sci. 47: 507-518.
- Blum A (1988) Plant breeding for stress environments. CRC Press. 163-181.
- Clarkson DT, Hanson JB (1980) The mineral nutrition of higher plant. Annu. Rev. Plant Physiol. 31: 239-250.
- Diwan JM, Channbyregowda V, Shenoy Salimath P, Bhat R (2013) Molecular mapping of early vigour related QTLs in rice. Res. J. Bio. 1: 24-30.
- Dixit S, Singh A, Kumar A (2014) Rice breeding for high grain yield under drought: a strategic solution to a complex problem. Intl. J. Agron. 1-15.
- Donde R, Kumar J, Gouda G, Kumar Gupta M, Mukherjee M, Yasin Baksh Sk, Mahadani P, Kumar Sahoo K, Behera L, Kumar Dash S (2019) Assessment of genetic diversity of drought tolerant and susceptible rice genotypes using microsatellite markers. Rice Sci. 239-247.
- Esfahani M (1999) Evaluation of molecular and physiological reaction in different rice cultivar to salinity. Ph.D. thesis. Tarbiat Modarres University.
- Flowers TJ (1990). Salt in the rice. Bio. Sci. 2: 27-30.
- Gao X, Hu CH, Li HZ, Yao YJ, Meng MJ, Dong WC, Zhao QJ, Chen XY, Li XY (2013) Factors affecting pre-harvest sprouting resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Animal

- Plant Sci. 23: 556-565.
- Greenway H, Munns R (1980) Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31: 149-190.
- Gregorio GB (1997) Tagging salinity tolerance genes in rice using Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) Ph.D. Dissertation. University of the Philippines. Los Baños. Philippines.
- Gregorio GB, Senadhira D, Mendoza RD (1997) Screening rice for salinity tolerance. IRRI Discussion. International Rice Research Institute. Philippines.
- Grishma SH, Sasidharan N, Chakraborty S, Trivedi R, Ravikiran R, Davla D (2012) Genetic diversity and molecular analysis for fertility restorer genes in rice (*Oryza sativa*. L.) for wild abortive (WA) cytoplasm using microsatellite markers. *J. Agric. Tech.* 8: 261-271.
- Hussain Z, Othman A M, Othman A S (2011) Association of Commercial Rice Varieties with Weedy Rice Accessions (*Oryza sativa* complex) in Pulau Pinang's Rice Granary Area. *Trop Life Sci. Res.* 22: 1-11.
- Kavousi M (2001). Study of interaction effects between different levels of nitrogen and potassium on rice yield. Rice Research Institute of Iran. Research Report.
- Koyama ML, Levesley A, Koebner RMD, Flowers TJ, Yeo AR (2001) Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiol.* 125: 406-422.
- Kumar A, Dixit S, Ram T, Yadaw RB, Mishra KK, Mandal NP (2014). Breeding high yielding drought-tolerant rice: genetic variations and conventional and molecular approaches. *J. Exp. Bot.* 6265-6278.
- Kumar A, Basu S, Ramegowda V, Pereira A (2017) Mechanisms of drought tolerance in rice. University of Arkansas. USA. pp131-163.
- Lanceras JC, Pantuwan G, Jongdee B, Toojinda T (2004) Quantitative trait loci associated with drought tolerance at reproductive stage in rice. *Plant Physiol.* 135: 384-99.
- Lang NT, Yanagihara S, Buu BC (2001) A microsatellite marker for a gene contributing salt tolerance on rice at the vegetative and reproductive stages. *SABRAO J. Breed. Genet.* 33: 1-10.
- Lee SY, Ahn JK, Lee SY, Ahn SY, Kwon JH (2003). Evaluation and classification of selected rice varieties for salinity tolerance at seedling stage. *Korean J. Agric. Sci.* 48: 339-344.
- Meybodi S, Gharayazi B (2002). Salt stress and physiological aspects of plant breeding. *JCPP.* 1: 1-274.
- Mohammadi-Nejad G, Singh RK, Arzani A, Rezaie AM, Sabouri H, Gregorio GB (2010) Evaluation of salinity tolerance in rice genotypes. *Intl. J. Plant Produc.* 4: 199-208.
- Moradi A, Younesi O (2009). Effects of osmo- and hydropriming on seed parameters of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Australian J. Basic Appl. Sci.* 3:1696-1700.
- Moradi F (2002) Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stages. Ph.D. thesis. University of the Philippines at Los Banos.
- Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant cell Environ.* 25: 239-250.
- Nakhoda B, Leung H, Mendioro MS, Mohammadi-Nejad G, Ismail AM (2012) Isolation, characterization, and field evaluation of rice (*Oryza sativa* L., Var. IR64) mutants with altered responses to salt stress. *Field Crops Res.* 127: 191-202.
- Pervaiz ZH, Rabbani MA, Khaliq I, Pearce S, Malik SA (2010) Genetic diversity associated with agronomic

- traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces. *Elect. J. Biotech.* 13: 1-12.
- Postini K (1995). Physiological response of two wheat cultivars to salinity. *Iranian J. Agric. Sci.* 26: 57-64.
- Redona ED, Mackill DJ (1996) Mapping quantitative trait loci for seedling vigor in rice using RFLPs. *Int. J. Plant Breed. Genet.* 92:395-402.
- Sabouri A, Dadras AR, Khoshchereh H, Vatanparast A, Aflatouni, H (2019). Investigation of rice recombinant inbred lines based on drought tolerance using tolerance indices and SSR markers. *Iranian J. Field Crop Sci.* 4: 13-24.
- Saghai Maroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barely species diversity chromosomal location and population dynamics. *PANS.* 91: 5466-5470.
- Sandhu N, Kumar A (2017) Bridging the Rice Yield Gaps under Drought: QTLs, Genes, and Their Use in Breeding Programs. *Agronomy.* 7-27.
- Swamy BPM, Shamsudin NAA, Rahman SNA, Mauleon R, Ratnam W, Teresa Sta M, Kumar C, Kumar A (2017) Association Mapping of Yield and Yield related Traits Under Reproductive Stage Drought Stress in Rice (*Oryza sativa* L.). *Rice.* 10-21.
- Tabkhkar N, Rabiei B, Samizadeh Lahiji H, Hosseini Chaleshtori M(2018) Genetic Variation and Association Analysis of the SSR Markers Linked to the Major Drought-Yield QTLs of Rice. *Biochem. Genet.* 56:356-374.
- Venuprasad R, Dalid CO, Del Valle M, Zhao D, Espiritu M, Sta Cruz MT, Amante M, Kumar A, Atlin GN (2009) Identification and characterization of large-effect quantitative trait loci for grain yield under lowland drought stress in rice using bulk-segregant analysis. *Intl. J. Plant Breed. Genet.* 120: 177-190.
- Vikram P, Swamy MBP, Dixit SH, Ahmed HU, Cruz1 MTS, Kumar Singh A, 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 Genet.* 12:89.
- Yeo AR, Yes ME, Flowers SE, Flowers TJ (1990) Screening of rice genotypes for physiological characters contributing to Salinity resistance and their relationship to overall performance. *Intl. J. Plant Breed Genet.* 79: 377-384.
- Zeng L, Kwon TR, Xuan L, Wilson C, Grieve CM, Gregorio GB (2004) Genetic diversity analyzed by microsatellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils. *Plant Sci.* 166: 1275-1258.
- Zeng L, Poss JA, Wilson C, Drez ASE, Gregorio GB, Grieve CM (2003) Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by physiological characters. *Euphytica.* 129:281-292.
- Zhang YH, Somantri IH, Tobita S, Nagamine T, Senboku T, Zhang YH (1996) Variation of Salt Tolerance at germination in cultivated rice (*Oryza Sativa* L.) varieties. *Korean J. Agric. Sci.* 28: 15-24.
- Zhou J, You A, Ma Z, Zhu L, He G (2012). Association analysis of important agronomic traits in japonica rice germplasm. *Afric. J. Biotech.* 11: 2957-2970.