

ارزیابی فراوانی آللی و چندشکلی نشانگرهای ریزماهوره پیوسته با مکان‌های ژنی کنترل‌کننده کیفیت دانه در برنج

نرجس طبخ‌کار^۱، بابک ربیعی^{۲*} و عاطفه صبوری^۳
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان
(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۶ - تاریخ تصویب: ۹۰/۲/۲۸)

چکیده

در این تحقیق، فراوانی آللی و چندشکلی ۲۷ نشانگر ریزماهوره پیوسته با مکان‌های ژنی کنترل‌کننده کیفیت دانه در بین ۴۷ رقم برنج متعلق به چهار گروه متفاوت شامل ۲۱ رقم بومی ایرانی، ۱۶ رقم اصلاح‌شده، ۷ رقم IRRI و ۳ رقم آپلند مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین شاخص اطلاعات چندشکل (PIC) و شاخص تنوع شانن به ترتیب برابر با ۰/۵۴ و ۱/۱۴ به دست آمد. بیشترین تعداد آلل‌های چندشکل، PIC و شاخص شانن در کل جمعیت مربوط به نشانگر RM276 (کروموزم ۶) بود. فراوانی آللی محاسبه شده در چهار گروه برنج مورد مطالعه، در تمامی نشانگرهای مطالعه شده تفاوت قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر داشتند. مقدار فراوانی آللی با اندازه آلل‌ها ارتباطی نشان نداد. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تطابق ساده، ارقام مورد مطالعه را به چهار گروه تقسیم کرد، به طوری که در این گروه‌بندی ارقام با کیفیت مشابه و با تشابه ژنتیکی با هم گروه‌بندی شدند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی بین کلیه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و به خصوص بین ژنوتیپ‌های بومی برنج از نظر این جایگاه‌های ریزماهوره وجود دارد، به طوری که می‌توان از تنوع موجود برای اصلاح خصوصیات کیفی دانه به ویژه در لاین‌های پرمحصول برنج استفاده نمود. به علاوه نشانگرهای ریزماهوره پیوسته با صفات کیفی دانه توانستند به خوبی ژنوتیپ‌هایی با کیفیت دانه بالا را از سایر ژنوتیپ‌ها تفکیک نمایند. از این رو استفاده از این نوع نشانگرها به ویژه آنهایی که سودمندی بالاتری داشتند برای انتخاب به کمک نشانگر توصیه می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: برنج بومی، تنوع ژنتیکی، فراوانی آللی، کیفیت دانه، نشانگر SSR.

مقدمه

مصرف‌کنندگان دارند (Fitzgerald et al., 2008). صفات کیفی دانه می‌توانند به آسانی با انتخاب لاین‌های والدینی مناسب به ارقام هیبرید منتقل شوند (Verma & Srivastava, 2005)، به طوری که اگر لاین‌های والدینی به دقت انتخاب شوند، ارقام هیبرید نیز می‌توانند کیفیتی به خوبی ارقام بومی داشته باشند (Virmani et al., 2003). انتخاب والدین از مناطق

کیفیت دانه برنج یک خصوصیت پیچیده و شامل کیفیت ظاهری، کیفیت تبدیل و کیفیت پخت و خوراک است. صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج، اهمیت زیادی در کشورهای مصرف‌کننده برنج دارند، به طوری که ارزش اقتصادی و قیمت ارقام مختلف را تعیین می‌کنند و نقش اصلی را در پذیرش ارقام جدید در بین

ژاپونیکا در مقایسه با ایندیکا تنوع ژنتیکی بیشتری نشان دادند. کلیه تجزیه‌ها تنها با ۳۰ نشانگر ریزماهواره نیز انجام شد و نتایج مشابه‌ای به‌دست آمد. این محققین پیشنهاد نمودند که با تعداد نشانگر نسبتاً کمتر نیز می‌توان تنوع ژنتیکی را برآورد نمود و ارقام را از هم تفکیک نمود (Ni et al., 2002). در مطالعه فراوانی آللی ارقام ایرانی با نشانگرهای آیزوزایم گزارش شد که ارقام ایرانی در مقایسه با برنج‌های آسیایی شاخص تنوع و فراوانی آللی بیشتری دارند (Mirdarikvand et al., 2003). در آزمایشی تنوع و شباهت ژنتیکی بین ۵۶ رقم برنج بومی با استفاده از دو نشانگر AFLP و ISSR بررسی شد. هر دو نشانگر سطح چندشکلی بالایی داشتند و دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ارقام بومی و اصلاح‌شده را به وضوح از هم تفکیک نمود (Bao et al., 2006).

در این مطالعه، ساختار ژنتیکی چهار گروه متفاوت از ژنوتیپ‌های برنج به‌وسیله نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با خصوصیات اصلی تعیین‌کننده کیفیت دانه یعنی کیفیت ظاهری، کیفیت تبدیل و کیفیت پخت و خوراک مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی آللی و چندشکلی نشانگرها در جمعیت‌های مورد مطالعه و انتخاب سودمندترین آنها برای استفاده در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

مواد گیاهی این تحقیق، چهار گروه متفاوت از ارقام برنج بود که شامل ۲۱ رقم بومی ایرانی، ۱۶ رقم اصلاح‌شده ایرانی، ۳ رقم آپلند و ۷ لاین IRRI بود (جدول ۱). بذر ارقام مورد مطالعه از مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) و مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI) تهیه شد.

استخراج DNA ژنومی و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

برای تهیه نمونه‌های برگ و استخراج DNA، از هر رقم ۱۰ بذر در گلدان کاشته شد و پس از ۲۵ روز نمونه‌های برگ گیاهچه‌های جوان تهیه و تا مرحله استخراج DNA در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد

متنوع و جمع‌آوری خزانه ژنی از بین ارقام بومی می‌تواند حداکثر هتروزیگوسیتی یا قدرت هیبرید را به وجود آورد (Verma & Srivastava, 2005). به همین دلیل است که آگاهی از ساختار ژنتیکی ارقام بومی یک اصل مهم در برنامه‌های اصلاح گیاهان بوده و می‌تواند خط‌مشی صحیحی برای انتخاب ارقام مناسب از بین جمعیت‌های به‌زادای فراهم نماید (Mohammadi & Prasanna, 2003). ظهور آیزوزایم‌ها و بعد از آن نشانگرهای مولکولی DNA ابزارهای کارآمدی برای سهولت حفاظت و مدیریت ذخایر ژنتیکی به وجود آورده است (Ni et al., 2002).

میزان چندشکلی یکی از ویژگی‌های مهم هر نشانگر می‌باشد که اهمیت نسبی و سودمندی آن را بیان می‌نماید و سودمندی یک نشانگر به تعداد آلل‌ها و فراوانی آنها مربوط می‌شود. از سوی دیگر فراوانی آللی نشان‌دهنده ساختار ژنتیک جوامع هستند (Mirdarikvand et al., 2003). در بین نشانگرهای DNA ریزماهواره‌ها (SSRs) چندشکلی بالایی دارند که این چندشکلی در نتیجه اختلاف در تعداد واحدهای تکراری آنها است (McCouch et al., 2002). از ریزماهواره‌ها برای انجام تحقیقات در زمینه‌های مختلفی مانند بررسی تنوع ژنتیکی (Ni et al., 2002; Kibria et al., 2009)، تعیین مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (Rabiei et al., 2004; Amarawathi et al., 2008)، تعیین الگوی هتروتیک (Cho et al., 2004) و انتخاب به‌وسیله نشانگر (Liu Renming et al., 2008) و انتخاب به‌وسیله نشانگر (Liu et al., 2006; Mohammadi-Nejad et al., 2008) استفاده شده است.

در بررسی تنوع ژنتیکی بین سه گروه برنج سنتی باسماتی، اصلاح‌شده باسماتی و خارجی با استفاده از دو گروه نشانگر SSR و ISSR، تنوع بین ارقام بومی هندی کمتر از دو گروه دیگر عنوان شد و اینطور تحلیل گردید که احتمالاً ارقام بومی مطالعه‌شده دارای اجداد مشترک بوده‌اند (Nagaraju et al., 2002). در آزمایشی که با استفاده از ۱۱۱ نشانگر SSR انجام شد، تنوع ژنتیکی بین یک مجموعه متفاوت از ژرم‌پلاسما برنج مطالعه گردید (Ni et al., 2002). در مجموع ۷۵۳ آلل با میانگین ۶/۸ آلل در هر مکان شناسایی شد و ارقام

بسط آغازگرها بود.

به منظور تکثیر اختصاصی قطعات و جلوگیری از تکثیر قطعات اضافی، در چرخه اول، دمای اتصال آغازگرها حدود ۵ درجه سانتی‌گراد بیشتر در نظر گرفته شد و سپس به ازای هر دو چرخه، دمای اتصال یک درجه سانتی‌گراد کاهش یافت تا دمای اتصال ویژه‌ی هر آغازگر (۵۵ یا ۶۱ درجه سانتی‌گراد) ایجاد شود.

انتخاب نشانگرها

با بررسی منابع و جستجو در پایگاه اطلاعات ژنتیکی گرامنه (<http://www.gramene.org/microsat/ssr.html>) تعداد ۲۷ جفت نشانگر ریزماهواره که با QTLهای کنترل‌کننده خصوصیات اصلی تعیین‌کننده کیفیت دانه یعنی کیفیت ظاهری، کیفیت تبدیل و کیفیت پخت و خوراک پیوستگی بالایی داشتند، انتخاب شدند (جدول ۲). کلیه نشانگرها، پس از تهیه توالی بازی آنها توسط شرکت MWG-Biotech آلمان سنتز و خریداری شدند.

الکتروفورز و رنگ‌آمیزی

محصولات تکثیر شده با بارگذاری در دستگاه الکتروفورز عمودی (BioRad Sequi-Gen[®]) و ژل اکریلامید ۶ درصد واسرشته‌ساز حاوی اوره از یکدیگر تفکیک شدند سپس ژل‌ها با روش نیترا ت نقره (Panaud et al., 1996) رنگ‌آمیزی و عکسبرداری شدند.

نگهداری شدند. استخراج DNA به روش CTAB (Saghai-Marouf et al., 1984) انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز و اسپکتروفتومتر بررسی شد. قبل از انجام واکنش PCR، غلظت تمامی نمونه‌ها تا مقدار ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. تکثیر DNA ژنومی با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و با دستگاه ترموسایکلر (GeneAmp[®]) انجام شد.

برای تهیه مخلوط واکنش در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونه، ۱ میکرولیتر بافر PCR (۱۰ برابر)، ۰/۴۸ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی‌مولار)، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط چهار نوع dNTPs (۲ میلی‌مولار)، ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر مستقیم و معکوس (۶۰ نانوگرم در میکرولیتر)، پنج واحد آنزیم تک‌دی.ان.ای پلی‌مراز (۰/۱۲ میکرولیتر)، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر و ۵ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل با هم مخلوط شدند.

برنامه حرارتی PCR شامل چهار دقیقه دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته شدن اولیه DNA الگو، سپس ۴۰ چرخه شامل یک دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته شدن DNA الگو، ۳۰ ثانیه در ۵۵ یا ۶۱ درجه سانتی‌گراد برای اتصال آغازگرها به DNA الگو و یک دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای

جدول ۱- نام و منشأ ژنوتیپ‌های برنج استفاده شده در بررسی حاضر

منشأ	ژنوتیپ	منشأ	ژنوتیپ	منشأ	ژنوتیپ	منشأ
اصلاح‌شده IRR1	ایران	گیل ۱	ایران	سنگ‌جو	بومی ایرانی	
ایری	ایران	گیل ۳	ایران	سالاری	ایران	دم‌سفید
ایری	ایران	کادوس	ایران	غریب سیاه ریحانی	ایران	دم‌زرد
ایری	ایران	شفق	ایران	هاشمی	ایران	دم‌سرخ
ایری	ایران	ساحل	ایران	عنبربو	ایران	دم‌سیاه
ایری	ایران	فجر	ایران	حسن‌سرایبی	ایران	سنگ‌طارم
ایری	ایران	لاین ۶	ایران	علی‌کاظمی	ایران	طارم‌محلی
ایری	ایران	سپیدرود	ایران	غریب	ایران	طارم‌دیلمانی
آپلند	ایران	ندا	ایران	دیلمانی	ایران	طارم‌منطقه
سوریه	ایران	خزر	ایران	اصلاح‌شده ایرانی	ایران	حسینی
هندوستان	ایران	بهار	ایران	صالح	ایران	چمپابودار
امریکا	ایران	نعمت	ایران	مهر	ایران	بینام
	ایران	بجار	ایران	دشت	ایران	شاه‌پسند

جدول ۲- مشخصات نشانگرهای ریزوماهواره پیوسته با QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با خصوصیات کیفی دانه برنج

نشانگر	شماره کروموزم	موتیف	خصوصیات کیفی دانه
RM23	۱	(GA)15	درصد شکست دانه، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینی شدن
RM212	۱	(CT)24	درصد شکست دانه، طول دانه
RM211	۲	(TC)3A(TC)18	هضم قلبیایی، طول دانه
RM60	۳	(AATT)5AATCT(AATT)	عرض دانه، مقدار آمیلوز
RM504	۳	(CA)9	مقدار آمیلوز
RM26	۵	(GA)15	کیفیت آسیاب شدن
RM170	۶	(CCT)7	مقدار آمیلوز، قوام ژل
RM190	۶	(CT)11	مقدار آمیلوز، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینی شدن
RM204	۶	(CT)44	هضم قلبیایی، طول دانه
RM253	۶	(GA)25	هضم قلبیایی، مقدار آمیلوز، طول دانه
RM276	۶	(AG)8A3(GA)33	عرض دانه، درجه حرارت ژلاتینی شدن
RM314	۶	(GT)8(CG)3(GT)5	مقدار آمیلوز، قوام ژل
RM584	۶	(CT)14	مقدار آمیلوز
RM418	۷	(ATT)21	مقدار آمیلوز
RM501	۷	(TC)10(TA)21	مقدار آمیلوز، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینی شدن
RM542	۷	(CT)22	مقدار آمیلوز
RM42	۸	(AG)6 - (AG)2T(GA)5	عطر، عرض دانه، کیفیت آسیاب شدن
RM502	۸	(TG)10	درجه حرارت ژلاتینی شدن، تراکم دانه
RM328	۹	(CAT)5	هضم قلبیایی، مقدار آمیلوز
RM228	۱۰	(CA)6(GA)36	درصد سبوس، درصد دانه خرد شده، مقدار آمیلوز
RM311	۱۰	(GT)3(GTAT)8(GT)5	مقدار آمیلوز، قوام ژل
RM202	۱۱	(CT)30	درجه حرارت ژلاتینی شدن
RM229	۱۱	(TC)11(CT)5C3(CT)5	مقدار آمیلوز
RM287	۱۱	(GA)21	مقدار آمیلوز
RM332	۱۱	(CTT)5-12-(CTT)14	درصد دانه خرد شده، طول دانه، درجه حرارت ژلاتینی شدن
RM270	۱۲	(GA)13	مقدار آمیلوز
RM2935	۱۲	(AT)39	مقدار آمیلوز

تجزیه و تحلیل آماری

با توجه به اینکه ارقام مورد مطالعه به عنوان والدین خالص در مؤسسه تحقیقات برنج کشور یا مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج نگهداری و در تلاقی‌های مورد نظر استفاده می‌شوند، بنابراین تمامی ارقام مورد مطالعه خالص بودند و فقط یک باند برای تمامی نشانگرهای مورد مطالعه تشکیل دادند.

فراوانی آللی با استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Endo & Morishima, 1983):

$$P_i = n_i \times n_i^{-1} \quad (1)$$

در این رابطه n_i و n_i به ترتیب تعداد افراد دارای آلل مورد نظر و تعداد کل افراد (نمونه‌ها) می‌باشند. میزان اطلاعات چند شکل یا PIC (Polymorphism)

information content) برای کلیه ارقام از رابطه زیر

به دست آمد (Botstein et al., 1980):

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n p_i^2 p_j^2 \quad (2)$$

$$= 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + \sum_{i=1}^n p_i^4$$

در این رابطه K تعداد آلل‌ها و P_i و P_j به ترتیب فراوانی آلل‌های i و j در جمعیت هستند. میزان اطلاعات چندشکل یا PIC ارزش یک نشانگر برای کشف چندشکلی درون یک جمعیت را نشان می‌دهد، که به تعداد آلل‌های قابل شناسایی و توزیع آنها بستگی دارد. شاخص تنوع شانن (Shannon & Weaver, 1949) نیز که معیاری دیگر برای مقایسه میزان تنوع ژنتیکی بین

از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و نرم‌افزار NTSYS-pc (نسخه ۲/۰۲ Rohlfs, 1999) استفاده گردید. همچنین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها با استفاده از روش نی (Nei, 1987) برآورد شد.

نتایج و بحث

شاخص تنوع شانن

میانگین شاخص تنوع شانن در بین ارقام مطالعه شده برابر با ۱/۱۴ بود. کمترین و بیشترین مقدار تنوع شانن ۰/۴۲ و ۱/۸۴ بود که به ترتیب برای نشانگرهای RM211 و RM276 محاسبه شد (جدول ۳). در بررسی

نمونه‌ها است، از رابطه زیر به دست آمد:

$$H = -\sum_i^k P_i \ln P_i \quad (3)$$

در این رابطه P_i فراوانی آلل نام و k تعداد کل آلل‌های مشاهده شده در آن مکان ژنی است. به منظور تجزیه اطلاعات چندشکلی از نرم‌افزارهای PowerMarker نسخه ۳/۲۵ (Liu & Muse, 2005) و POPGENE نسخه ۱/۳۲ (Yeh & Boyle, 1997) استفاده شد. تشابه ژنتیکی بین ارقام با روش تطابق ساده (Sokal & Michener, 1958) محاسبه شد و برای گروه‌بندی ارقام

جدول ۳- شاخص شانن و محتوی اطلاعات چند شکل حاصل از ۲۷ نشانگر ریزماهوره در ۴۷ رقم برنج مورد مطالعه

نشانگر	شاخص تنوع شانن					محتوی اطلاعات چندشکل (PIC)				
	میانگین ژنوتیپ‌ها	بومی	اصلاح شده	IRRI	آپلند	میانگین ژنوتیپ‌ها	بومی	اصلاح شده	IRRI	آپلند
RM23	۰/۹۲	۰/۵	۰/۹۸	۰/۶۸	۰/۶۴	۰/۴۶	۰/۲۴	۰/۵۲	۰/۳۷	۰/۳۴
RM212	۱/۴۱	۰/۳۸	۱/۳۲	۰/۸	۰/۶۴	۰/۶۶	۰/۱۷	۰/۶۳	۰/۴۱	۰/۳۴
RM211	۰/۴۲	.	۰/۴۶	۱/۰۱	.	۰/۱۹	.	۰/۲۱	۰/۵۳	.
RM60	۰/۶۸	۰/۵۳	۰/۵	۰/۴۱	.	۰/۳۷	۰/۲۵	۰/۲۷	۰/۲۱	.
RM504	۱/۰۱	۰/۷۶	۰/۷۹	۰/۵	.	۰/۵۱	۰/۳۵	۰/۴	۰/۲۷	.
RM26	۱/۱۱	۰/۷۹	۰/۷	۱/۰۱	۰/۶۴	۰/۵۵	۰/۴۱	۰/۳۵	۰/۵۳	۰/۳۴
RM170	۱/۳۲	۱/۰۲	۱/۱۷	۱	۱/۱	۰/۶۳	۰/۵	۰/۵۸	۰/۵۳	۰/۵۹
RM190	۱/۶۳	۱	۱/۶۳	۱/۵۵	.	۰/۷۳	۰/۴۸	۰/۷۵	۰/۷۴	.
RM204	۱/۳۷	۱/۴۹	۰/۵۴	۰/۸۷	.	۰/۶۵	۰/۷۱	۰/۲۵	۰/۴۵	.
RM253	۱/۶۷	۱	۱/۰۵	۰/۸۷	۰/۶۴	۰/۷۵	۰/۵	۰/۵۲	۰/۴۵	۰/۳۴
RM276	۱/۸۴	۱/۲۷	۱/۰۴	۰/۹۵	۰/۶۴	۰/۷۷	۰/۵۷	۰/۴۷	۰/۵	۰/۳۴
RM314	۱/۰۳	۰/۵	۰/۸۵	۰/۹۵	.	۰/۵۵	۰/۲۴	۰/۴۴	۰/۵	.
RM584	۱/۱۸	۰/۸۵	۰/۹۹	۰/۸	۰/۶۴	۰/۶۱	۰/۴۴	۰/۴۸	۰/۴۱	۰/۳۴
RM418	۰/۶۷	۰/۱۹	۰/۷۲	۰/۴۱	۰/۶۴	۰/۲۹	۰/۰۹	۰/۳۳	۰/۲۱	۰/۳۴
RM501	۰/۹۳	۰/۷۱	۰/۳۸	۰/۶۸	.	۰/۴۸	۰/۳۶	۰/۱۹	۰/۳۷	.
RM542	۱/۰۵	۰/۹۳	۰/۵	۰/۴۱	.	۰/۵۳	۰/۴۵	۰/۲۷	۰/۲۱	.
RM42	۰/۶۸	۰/۴۱	۰/۲۵	۰/۴۱	.	۰/۳۷	۰/۲۱	۰/۱۲	۰/۲۱	.
RM502	۰/۶۹	۰/۴۲	۰/۳۹	۰/۴۱	.	۰/۳۷	۰/۲۳	۰/۲	۰/۲۱	.
RM328	۰/۶۹	۰/۳۲	۰/۶۷	۰/۴۱	.	۰/۳۷	۰/۱۶	۰/۳۶	۰/۲۱	.
RM228	۱/۱۶	۰/۷۶	۱/۰۷	۱/۳۳	.	۰/۵۴	۰/۳۹	۰/۵۳	۰/۶۷	.
RM311	۱/۴۷	۰/۸۷	۱/۲۳	۱/۴۷	۰/۶۴	۰/۶۶	۰/۳۸	۰/۶۲	۰/۷	۰/۳۴
RM202	۱/۴۶	۱/۱۹	۰/۸۸	۰/۹۵	۰/۶۴	۰/۶۹	۰/۶	۰/۴۵	۰/۵	۰/۳۴
RM229	۱/۵۲	۱/۲۸	۱/۲۸	۱/۲۸	۰/۶۴	۰/۷۱	۰/۶۱	۰/۶۱	۰/۶۴	۰/۳۴
RM287	۱/۶۹	۱/۵۷	۰/۸۲	۱/۵۵	.	۰/۷۵	۰/۷۲	۰/۳۹	۰/۷۴	.
RM332	۱/۴۸	۱/۱	۱/۲۵	۱/۲۴	۰/۶۴	۰/۶۸	۰/۵۵	۰/۶	۰/۶۲	۰/۳۴
RM270	۰/۶۸	۰/۴۱	۰/۶	۰/۶	۰/۶۴	۰/۳۴	۰/۲۱	۰/۲۹	۰/۳۲	۰/۳۴
RM2935	۱/۰۴	۰/۶۱	۰/۸۲	۱/۰۱	۰/۶۴	۰/۵۳	۰/۳	۰/۴۲	۰/۵۳	۰/۳۴
میانگین	۱/۱۴	۰/۷۷	۰/۸۵	۰/۸۷	۰/۳۵	۰/۵۴	۰/۳۷	۰/۴۲	۰/۴۵	۰/۱۹
انحراف معیار	۰/۳۸	۰/۴	۰/۳۴	۰/۳۶	۰/۳۵	۰/۱۶	۰/۱۸	۰/۱۶	۰/۱۷	۰/۱۹

۰/۳۷ بود. به این ترتیب به نظر می‌رسد تنوع بسیار خوبی در بین ارقام IRRI و ارقام اصلاح‌شده ایرانی وجود دارد و از آنجایی که نشانگرهای ریزماهوره مطالعه شده در این تحقیق، نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده خصوصیات کیفی دانه بودند، بنابراین تنوع فوق‌نشان‌دهنده تنوع بین این ارقام از نظر کیفیت دانه بوده و می‌توان از آن برای اصلاح کیفیت دانه در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود.

فراوانی آللی

تجزیه کل ژنوتیپ‌ها با استفاده از ۲۷ نشانگر پیوسته با صفات مرتبط با کیفیت دانه، نشان داد که ۱۰۰ درصد مکان‌های ژنی چندشکل هستند، اما نتایج در تجزیه جداگانه برای گروه‌های مختلف ارقام متفاوت بود. جدول ۴ فراوانی آللی مکان‌های ژنی ریزماهوره را در کل ژنوتیپ‌ها و برای ۴ گروه از ارقام مورد مطالعه نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که در ارقام اصلاح‌شده ایرانی و معرفی شده از IRRI، ۱۰۰ درصد مکان‌های ژنی چندشکل بودند، اما برای ارقام بومی و آپلند این مقدار به ترتیب ۹۶/۳ درصد و ۵۱/۸۵ درصد بود. نتیجه مهم این بود که مقدار فراوانی آللی با اندازه آلل‌ها ارتباطی نشان نداد. فراوانی آللی محاسبه شده در ارقام بومی، اصلاح‌شده، IRRI و آپلند در تمام مکان‌های ژنی تفاوت قابل ملاحظه‌ای با یکدیگر داشتند. در ارقام بومی تنها یک آلل در مکان ژنی RM211، فراوانی ۱۰۰ درصد داشت و منومورف بود و تنها در این مکان ژنی فراوانی آللی ارقام بومی مشابه با ارقام آپلند بود. همچنین فراوانی آللی در مکان ژنی RM502 در گروه ارقام اصلاح‌شده داخلی و IRRI نسبتاً مشابه بود. در ارقام آپلند یک آلل در ۱۲ مکان ژنی فراوانی ۱۰۰ درصد داشت و منومورف بود. تعداد زیاد مکان‌های ژنی منومورف در ارقام آپلند ممکن است به دلیل کم بودن تعداد ارقام مطالعه شده از این گروه باشد. فراوانی آللی در ۲۰ مکان ریزماهوره در ارقام بومی در یکی از آلل‌ها بیشتر از ۶۰ درصد بود، اما در ۷ نشانگر دیگر فراوانی آللی در بین آلل‌ها به مقدار کم توزیع شده بود که تمامی این نشانگرها روی کروموزوم‌های ۶ و ۱۱ قرار داشتند. تفاوت در فراوانی آللی مکان‌های ژنی ریزماهوره در ارقام بومی و اصلاح‌شده نشان‌دهنده ساختار ژنتیکی

گروه‌های مختلف نیز ارقام IRRI با مقدار میانگین ۰/۸۷ و ارقام اصلاح‌شده و بومی به ترتیب با مقادیر میانگین ۰/۸۵ و ۰/۷۷ بعد از ارقام IRRI، بالاترین میزان تنوع شانن را داشتند. در آزمایشی که با استفاده از ۳۶ نشانگر تصادفی SSR و ۵۰ ژنوتیپ برنج انجام شد میانگین شاخص شانن ۰/۶۴۹ برآورد شد (Luan et al., 2008). این درحالی است که میانگین تنوع شانن توسط Kibria et al. (2009) و تنها با ۳ نشانگر پیوسته با ژن کنترل‌کننده عطر دانه برنج ۰/۸۸۶۶ به‌دست آمد. بدین ترتیب می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که نوع نشانگر و انتخاب هدفمند نشانگرها نسبت به تعداد نشانگرها، عامل مؤثرتری بر برآورد تنوع شانن و احتمالاً هر شاخص تنوع دیگری است. این نتیجه اهمیت زیادی در طرح‌های تحقیقاتی دارد، به‌طوری که به جای افزایش غیرهدفمند تعداد نشانگرها، بهتر است نشانگرهایی را برای ارزیابی تنوع جمعیت‌های مورد مطالعه به کار برد که از سودمندی بیشتری برخوردار باشند.

محتوی اطلاعات چندشکل (PIC)

محتوی اطلاعات چندشکل یکی از معیارهای ارزیابی قدرت تمایز نشانگرها بوده و معیار دقیق‌تری نسبت به میزان تنوع هر ژن می‌باشد که مستقل از تعداد نمونه مورد مطالعه است (Botstein et al., 1980). کمترین میزان PIC برای نشانگر RM211 با مقدار ۰/۱۹ و بیشترین مقدار آن برای نشانگر RM276 با میزان معادل ۰/۷۷ به‌دست آمد و این در حالی بود که میانگین اطلاعات چندشکل برای کل ارقام و نشانگرهای مورد مطالعه ۰/۵۴ برآورد شد (جدول ۳). Bounphanousay et al. (2008) میانگین PIC را ۰/۴۴ برآورد نمودند که از ۰/۱۷ تا ۰/۷۶ متغیر بود. در جمعیت مورد مطالعه Luan et al. (2008) نیز میانگین PIC، ۰/۳۳۹ گزارش شد که در هر دو مورد کمتر از مقدار به‌دست آمده در این مطالعه بود، اما Lapitan et al. (2007) با میانگین ۰/۶۸ مقدار PIC بالاتری را در ارقام با کیفیت ونزوئلا مشاهده نمودند. همچنین برآورد شاخص PIC برای ۴ گروه ارقام مورد مطالعه نشان داد که ارقام IRRI بالاترین و ارقام آپلند پایین‌ترین میزان PIC (به ترتیب ۰/۴۵ و ۰/۱۹) را داشتند. همچنین مقدار PIC در ارقام اصلاح‌شده ایرانی و بومی نیز به ترتیب برابر با ۰/۴۲ و

جدول ۴- فراوانی آلی مکان‌های زنی ریزماهواره در کل ژنوتیپ‌ها و برای چهار گروه از ارقام برنج

نشانگر	شماره آلی	اندازه آلی	فراوانی آلی (درصد)				آپلند
			میانگین ژنوتیپ‌ها	بومی	اصلاح‌شده ایرانی	IRRI	
RM23	۱	۱۳۸	۱۰/۶۴	۹/۵۲	۱۲/۵	۰	۳۳/۳۳
	۲	۱۴۵	۲/۱۳	۴/۷۶	۰	۰	۰
	۳	۱۴۶	۶۵/۵۶	۸۵/۷۱	۴۳/۷۵	۵۷/۱۴	۶۶/۶۷
	۴	۱۵۲	۲۱/۲۸	۰	۴۳/۷۵	۴۲/۸۵	۰
RM212	۱	۱۱۱	۲/۱۳	۰	۶/۲۵	۰	۰
	۲	۱۱۳	۲۱/۲۸	۴/۷۶۲	۵۰	۱۴/۲۸	۰
	۳	۱۱۵	۸/۵۱	۴/۷۶	۱۸/۷۵	۰	۰
	۴	۱۱۸	۴۶/۸۱	۹۰/۴۸	۶/۲۵	۱۴/۲۸	۳۳/۳۳
	۵	۱۲۰	۴/۲۶	۰	۰	۰	۶۶/۶۷
	۶	۱۳۷	۱۷/۰۲	۰	۱۸/۷۵	۷۱/۴۳	۰
RM211	۱	۱۴۴	۸۹/۱۳	۱۰۰	۸۷/۵	۵۰	۱۰۰
	۲	۱۵۵	۴/۳۵	۰	۶/۲۵	۱۶/۶۷	۰
	۳	۱۶۶	۶/۵۲	۰	۶/۲۵	۳۳/۳۴	۰
RM60	۱	۱۶۷	۵۸	۲۲/۲۳	۸۰	۸۵/۷۱	۱۰۰
	۲	۱۷۴	۴۲	۷۷/۷۸	۲۰	۱۴/۲۸	۰
RM504	۱	۱۶۸	۴۳/۶	۵/۵۶	۶۹/۲۳	۸۰	۱۰۰
	۲	۱۷۱	۲/۵۶	۵/۵۶	۰	۰	۰
	۳	۱۷۳	۴۶/۱۵	۷۷/۷۸	۲۳/۰۸	۲۰	۰
	۴	۱۷۸	۷/۷	۱۱/۱۲	۷/۷	۰	۰
RM26	۱	۱۰۷	۳۹/۱۳	۶۵	۱۸/۷۵	۱۴/۲۸	۳۳/۳۳
	۲	۱۱۳	۶/۵۲	۵	۰	۰	۶۶/۶۷
	۳	۱۱۵	۸/۷	۰	۶/۲۵	۴۲/۸۵	۰
	۴	۱۱۷	۴۵/۶۵	۳۰	۷۵	۴۲/۸۵	۰
RM170	۱	۱۱۰	۸/۸۹	۱۵	۶/۶۷	۰	۰
	۲	۱۲۰	۴/۴۴	۱۰	۰	۰	۰
	۳	۱۲۷	۴۸/۸۹	۶۵	۳۳/۳۴	۴۲/۸۵	۳۳/۳۳
	۴	۱۳۱	۲۴/۴۴	۱۰	۴۶/۶۷	۱۴/۲۸	۳۳/۳۳
	۵	۱۳۴	۱۳/۳۳	۰	۱۳/۳۴	۴۲/۸۵	۳۳/۳۳
RM190	۱	۱۰۹	۹/۳۰۲	۱۱/۱۱	۶/۲۵	۱۴/۲۸	۰
	۲	۱۱۰	۶/۹۸	۰	۱۲/۵	۱۴/۲۸	۰
	۳	۱۱۷	۱۳/۹۵	۰	۲۵	۲۸/۵۷	۰
	۴	۱۲۵	۱۶/۲۸	۱۱/۱۱	۱۸/۷۵	۲۸/۵۷	۰
	۵	۱۲۸	۴۱/۸۶	۶۶/۶۷	۳۱/۲۵	۱۴/۲۸	۰
	۶	۱۳۱	۹/۳۰۲	۱۱/۱۱	۶/۲۵	۰	۰
	۷	۱۴۰	۲/۳۲۵	۰	۰	۰	۱۰۰
RM204	۱	۱۰۵	۴۷/۳۷	۱۷/۶۵	۸۴/۶۱	۶۶/۶۷	۰
	۲	۱۰۸	۵/۲۶	۵/۸۸	۰	۱۶/۶۷	۰
	۳	۱۰۵	۱۳/۱۶	۱۷/۶۵	۰	۰	۱۰۰
	۴	۱۶۰	۱۳/۱۶	۲۳/۵۳	۷/۷	۰	۰
	۵	۱۶۲	۲۱/۰۵	۳۵/۳	۷/۷	۱۶/۶۷	۰
RM253	۱	۱۱۱	۲/۵	۵/۸۸	۰	۰	۰
	۲	۱۲۲	۷/۵	۵/۸۸	۰	۰	۶۶/۶۷
	۳	۱۲۷	۲/۵	۰	۷/۱۴	۰	۰

ادامه جدول ۴

نشانه	شماره آلل	اندازه آلل	فراوانی آللی (درصد)				
			میانگین ژنوتیپ‌ها	بومی	اصلاح شده ایرانی	IRRI	آپلند
RM253	۴	۱۳۰	۱۵	۲۹/۴۱	۰	۱۶/۶۷	۰
	۵	۱۳۳	۲۷/۵	۵۸/۸۲	۷/۱۴	۰	۰
	۶	۱۳۸	۱۵	۰	۲۸/۵۷	۱۶/۶۷	۳۳/۳۴
	۷	۱۴۱	۳۰	۰	۵۷/۱۴	۶۶/۶۷	۰
RM276	۱	۹۳	۴/۳۵	۰	۶/۲۵	۰	۳۳/۳۴
	۲	۱۰۶	۲۸/۲۶	۰	۶۸/۷۵	۲۸/۵۷	۰
	۳	۱۰۸	۶/۵۲	۵	۰	۰	۶۶/۶۷
	۴	۱۰۹	۶/۵۲	۱۰	۶/۲۵	۰	۰
	۵	۱۱۰	۲/۱۷	۰	۰	۱۴/۲۸	۰
	۶	۱۱۲	۶/۵۲	۱۵	۰	۰	۰
	۷	۱۱۴	۲۸/۲۶	۶۰	۶/۲۵	۰	۰
	۸	۱۳۴	۲/۱۷	۵	۰	۰	۰
	۹	۱۴۵	۱۵/۲۲	۵	۱۲/۵	۵۷/۱۴	۰
RM314	۱	۱۱۱	۱۷/۳۹	۴/۷۶	۳۳/۳۴	۲۸/۵۷	۰
	۲	۱۲۱	۳۹/۱۳	۹/۵۲	۶۰	۵۷/۱۴	۱۰۰
	۳	۱۲۸	۴۳/۴۸	۸۵/۷۱	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۰
RM584	۱	۱۳۵	۲۹/۷۹	۴۷/۶۱	۶/۲۵	۱۴/۲۸	۶۶/۶۷
	۲	۱۴۷	۳۴/۰۴	۴۷/۶۱	۲۵	۱۴/۲۸	۳۳/۳۴
	۳	۱۶۰	۲/۱۳	۰	۶/۲۵	۰	۰
	۴	۱۶۹	۳۴/۰۴	۴/۷۶	۶۲/۵	۷۱/۴۳	۰
RM418	۱	۱۴۶	۴/۳۵	۰	۰	۰	۶۶/۶۷
	۲	۲۴۰	۲/۱۷	۰	۶/۶۷	۰	۰
	۳	۲۷۱	۸/۷	۴/۷۶	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۳۳/۳۴
	۴	۲۸۲	۸۲/۶۱	۹۵/۲۴	۸۰	۸۵/۷۱	۰
	۵	۲۹۳	۲/۱۷	۰	۶/۶۷	۰	۰
RM501	۱	۱۵۸	۴۶/۶۷	۵/۲۶	۸۷/۵	۴۲/۸۶	۱۰۰
	۲	۱۶۵	۴۴/۴۴	۷۳/۶۹	۱۲/۵	۵۷/۱۴	۰
	۳	۱۷۰	۸/۸۹	۲/۱۰۵	۰	۰	۰
RM542	۱	۹۴	۴۸/۸۹	۵	۸۰	۸۵/۷۱	۱۰۰
	۲	۹۷	۲/۲۲	۵	۰	۰	۰
	۳	۱۱۵	۱۱/۱۱	۲۵	۰	۰	۰
	۴	۱۲۷	۳۷/۷۸	۶۵	۲۰	۱۴/۲۸	۰
RM42	۱	۱۶۸	۴۳/۴۸	۸۵/۷۱	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۰
	۲	۱۷۱	۵۶/۵۲	۱۴/۲۸	۹۳/۳۴	۸۵/۷۱	۱۰۰
RM502	۱	۲۶۱	۵۵/۵۶	۱۵	۸۶/۶۷	۸۵/۷۱	۱۰۰
	۲	۲۷۰	۴۴/۴۴	۸۵	۱۳/۳۴	۱۴/۲۸	۰
RM328	۱	۱۸۰	۴۴/۴۴	۱۰	۶۰	۸۵/۷۱	۱۰۰
	۲	۱۸۸	۵۵/۵۶	۹۰	۴۰	۱۴/۲۸	۰
RM228	۱	۱۴۰	۶۲/۸۶	۷۳/۳۴	۵۸/۳۴	۳۳/۳۴	۱۰۰
	۲	۱۴۷	۱۱/۴۳	۰	۲۵	۱۶/۶۷	۰
	۳	۱۵۲	۱۱/۴۳	۱۳/۳۴	۸/۳۴	۱۶/۶۷	۰
	۴	۱۶۰	۸/۵۷	۱۳/۳۴	۸/۳۴	۰	۰
	۵	۱۹۰	۵/۷۱	۰	۰	۳۳/۳۴	۰

ادامه جدول ۴

نشانگر	شماره آلل	اندازه آلل	فراوانی آللی (درصد)				IRRI	آپلند
			میانگین ژنوتیپ‌ها	بومی	اصلاح‌شده ایرانی			
RM311	۱	۱۶۴	۴/۲۶	۹/۵۲	۰	۰	۰	
	۲	۱۶۸	۴۶/۸۱	۷۶/۱۹	۲۵	۱۴/۲۸	۳۳/۳۴	
RM311	۳	۱۷۲	۱۲/۷۷	۴/۷۶	۲۵	۱۴/۲۸	۰	
	۴	۱۸۳	۲۳/۴	۴/۷۶	۴۳/۷۵	۱۴/۲۸	۶۶/۶۷	
	۵	۱۸۷	۸۵/۱	۰	۶/۲۵	۴۲/۸۸	۰	
	۶	۱۹۰	۴/۲۶	۴/۷۶	۰	۱۴/۲۸	۰	
RM202	۱	۱۶۵	۱۷/۳۹	۰	۴۳/۷۵	۱۴/۲۸	۰	
	۲	۱۶۸	۶/۵۲	۱۰	۶/۲۵	۰	۰	
	۳	۱۷۴	۱۷/۳۹	۴۰	۰	۰	۰	
	۴	۱۷۷	۴۱/۳	۴۰	۵۰	۲۸/۵۷	۳۳/۳۴	
	۵	۱۸۳	۱۷/۳۹	۱۰	۰	۵۷/۱۴	۶۶/۶۷	
RM229	۱	۱۱۹	۲۰	۲۵	۱۳/۳۴	۲۸/۵۷	۰	
	۲	۱۲۱	۴/۴۴	۰	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۰	
	۳	۱۲۳	۳۱/۱۱	۵۰	۲۰	۱۴/۲۸	۰	
	۴	۱۲۴	۳۱/۱۱	۵	۵۲/۳۴	۴۲/۸۶	۶۶/۶۷	
	۵	۱۲۹	۲/۲۲	۵	۰	۰	۰	
	۶	۱۳۱	۱۱/۱۱	۱۵	۶/۶۷	۰	۳۳/۳۴	
RM287	۱	۱۰۰	۱۲/۷۷	۲۸/۵۷	۰	۰	۰	
	۲	۱۰۲	۸/۵۱	۴/۷۶	۶/۲۵	۲۸/۵۷	۰	
	۳	۱۰۷	۸/۵۱	۱۴/۲۸	۶/۲۵	۰	۰	
	۴	۱۰۹	۲/۱۳	۰	۰	۱۴/۲۸	۰	
	۵	۱۱۱	۲۷/۶۶	۳۳/۳۴	۱۲/۵	۱۴/۲۸	۱۰۰	
	۶	۱۱۵	۸/۵۱	۱۴/۲۸	۰	۱۴/۲۸	۰	
	۷	۱۲۰	۳۱/۹۱	۴/۷۶	۷۵	۲۸/۵۷	۰	
RM332	۱	۱۶۰	۴/۴۴	۵	۶/۲۵	۰	۰	
	۲	۱۶۳	۴۰	۵۵	۳۷/۵	۱۶/۶۷	۰	
	۳	۱۷۰	۲۸/۸۹	۲۵	۴۳/۷۵	۱۶/۶۷	۰	
	۴	۱۷۲	۱۳/۳۳	۱۵	۰	۱۶/۶۷	۶۶/۶۷	
	۵	۱۷۵	۴/۴۴	۰	۶/۲۵	۰	۳۳/۳۳	
	۶	۱۷۸	۸/۸۹	۰	۶/۲۵	۵۰	۰	
RM270	۱	۱۰۶	۴/۲۶	۰	۶/۲۵	۰	۳۳/۳۳	
	۲	۱۰۸	۷۴/۴۷	۸۵/۷۱	۸۱/۲۵	۲۸/۵۷	۶۶/۶۷	
	۳	۱۰۹	۲۱/۲۸	۱۴/۲۸	۱۲/۵	۷۱/۴۳	۰	
RM2935	۱	۲۳۰	۲/۳۸	۰	۰	۰	۳۳/۳۳	
	۲	۲۳۶	۳۳/۳۳	۵	۶۶/۶۷	۴۲/۸۶	۶۶/۶۷	
	۳	۲۳۸	۵۲/۳۸	۸۰	۲۵	۴۲/۸۶	۰	
	۴	۲۴۲	۱۱/۹	۱۵	۸/۳۴	۱۴/۲۸	۰	

آلل تهی

آلل تهی (Null allele) برای یک مکان ژنی خاص در یک رقم یا ژنوتیپ زمانی مشاهده می‌شود که فرآورده

متفاوت این ارقام می‌باشد. (2003) Mirdarivand et al. نیز اختلاف زیاد بین فراوانی آللی مکان‌های ژنی آیزوزایم را در بین برنج‌های ایرانی و آسیایی گزارش نمودند.

گروه قرار گرفته‌اند. در گروه ۳ تنها یک رقم چمپاپودار قرار گرفت. ویژگی ارقام چمپا، گرد بودن دانه و کیفیت متوسط تا خوب آنها بعد از پخت است و علاوه بر آن، عملکرد نسبتاً بالایی نیز دارد و شاید به همین دلیل این رقم در گروه جداگانه‌ای قرار گرفته است. در گروه ۴ نیز ۲۴ رقم با سطح تشابه حدود ۷۵ درصد قرار گرفتند. این گروه شامل دو زیرگروه بود. زیر گروه اول شامل سه رقم دیوانی، واندانا و نیوبونت بود که هر سه از ارقام آپلند خارجی با کیفیت پایین بودند. این ارقام با سطح تشابه ۷۶ درصد در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. در زیرگروه دوم، ۲۱ رقم با میزان تشابه ۷۷ درصد قرار داشتند که عمدتاً شامل ارقام اصلاح‌شده ایرانی و ارقام معرفی شده از IRRI بود. قرار گرفتن ارقام اصلاح شده ایرانی در کنار ارقام خارجی به این دلیل بود که عموماً ارقام اصلاح‌شده ایرانی در اثر گزینش ژرم‌پلاسم‌های IRRI و یا دورگیری بین ارقام بومی و IRRI بوجود آمده‌اند و همین مشابهت ژنتیکی باعث شده که در یک گروه قرار بگیرند. تمامی ارقام این گروه به‌غیر از رقم بومی سنگ‌طارم، علی‌رغم بالا بودن میزان عملکرد از نظر کیفی مورد پسند ذائقه ایرانی نیستند و کیفیت پخت ضعیف تا متوسط دارند.

برای تأیید گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها با روش نی (Nei, 1987) نیز انجام شد (جدول ۵). نتایج نشان داد که بیشترین فاصله، بین جمعیت‌های بومی و آپلند و کمترین فاصله بین جمعیت‌های اصلاحی و IRRI (به ترتیب ۱ و ۰/۱۳) وجود داشت. این در حالی است که فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های آپلند با IRRI و آپلند با ارقام اصلاحی بسیار نزدیک به هم و به ترتیب ۰/۴۷ و ۰/۴۳ برآورد شد.

جدول ۵- شباهت و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های برنج مورد مطالعه بر اساس روش نی (Nei, 1987)

جمعیت‌ها	بومی	اصلاح‌شده	IRRI	آپلند
بومی	*	۰/۵۲	۰/۴۹	۰/۳۷
اصلاح‌شده	۰/۶۵	*	۰/۸۸	۰/۶۵
IRRI	۰/۷۲	۰/۱۳	*	۰/۶۲
آپلند	۱	۰/۴۳	۰/۴۷	*

* اعداد بالا و پایین قطر به ترتیب بیانگر شباهت و فاصله ژنتیکی می‌باشند.

حاصل از تکثیر توسط واکنش PCR در جریان الکتروفورز و رنگ‌آمیزی ژل قابل مشاهده نباشد (Lapitan et al., 2007). از بین ۲۷ نشانگر استفاده شده در این تحقیق، ۱۹ نشانگر حداقل در یکی از ارقام مورد مطالعه آلل تهی داشتند که بیشترین آلل تهی در مکان ریزماهواره RM204 مشاهده شد. در تحقیقی که Lapitan et al. (2007) انجام دادند در مجموع از ۱۵۱ نشانگر ریزماهواره، ۵۶ نشانگر آلل تهی نشان دادند. از آنجایی که فراوانی آلل تهی در محاسبه تنوع ژنی در هر مکان ریزماهواره در نظر گرفته نمی‌شود، از این رو وجود آلل‌های تهی ممکن است منجر به کاهش هتروزیگوسیتی و انحراف از تعادل مورد انتظار هاردی-وینبرگ اینگونه نشانگرها در جمعیت مورد مطالعه شود (Lapitan et al., 2007).

تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ارقام برنج

برای برآورد تشابه ژنتیکی بین ارقام از ضرایب مختلف استفاده شد و در نهایت از آنجایی که دندروگرام حاصل از روش UPGMA با ضریب تطابق ساده بالاترین ضریب همبستگی کوفنتیک را داشت این دندروگرام برای تفسیر انتخاب شد. ضریب همبستگی کوفنتیک بین ماتریس تشابه حاصل از ضریب تطابق ساده با ماتریس خروجی حاصل از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۹۳ درصد بود و نشان داد که روش تجزیه خوشه‌ای مورد استفاده به خوبی توانسته است اطلاعات حاصل از نشانگرها را برای تفکیک ارقام برنج مورد استفاده قرار دهد. برش دندروگرام از ناحیه ۷۵ درصد تشابه ارقام را به چهار گروه تفکیک نمود (شکل ۱). در گروه ۱ تنها رقم خزر قرار گرفت. خزر از ارقام اصلاحی ایرانی می‌باشد که مقدار آمیلوز و کیفیت پخت متوسطی دارد و از این نظر با ارقام بومی قابل مقایسه نیست. گروه ۲ شامل ۲۱ ژنوتیپ با سطح تشابه ۸۰ درصد بود. کلیه ارقام موجود در این گروه از ارقام با کیفیت بالا بودند که به غیر از دو رقم گیل ۱ و IR64، سایر ژنوتیپ‌ها از ارقام صدری و طارم بومی ایرانی و با کیفیت بالا بودند. IR64 یک ژنوتیپ کیفی معرفی شده از IRRI و رقم گیل ۱ نیز یک رقم اصلاح‌شده حاصل از ارقام بومی می‌باشد و به دلیل تعدادی از خصوصیات یکسان با ارقام بومی در این

استفاده نمود. نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با صفات کیفی دانه توانستند به خوبی ژنوتیپ‌هایی که کیفیت دانه بالایی دارند را از سایر ژنوتیپ‌ها تفکیک نمایند. از این رو استفاده از این نوع نشانگرها به ویژه آنهایی که سودمندی بالاتری داشتند برای انتخاب به کمک نشانگر توصیه می‌شوند. همچنین پیشنهاد می‌شود که در تحقیقات بعدی تعداد افراد جمعیت‌ها به هم نزدیک‌تر انتخاب شوند.

REFERENCES

1. Amarawathi, Y., Singh, R., Singh, A. K., Singh, V. P., Mohapatra, T., Sharma, T. R. & Singh, N. K. (2008). Mapping of quantitative trait loci for Basmati quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding*, 21, 49-65.
2. Bao, J., Corke, H. & Sun, M. (2006). Analysis of genetic diversity and relationships in waxy rice (*Oryza sativa* L.) using AFLP and ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 323-330.
3. Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32, 314-331.
4. Bounphanousay, C., Jaisil, P., McNally, K. L., Sanitchon, J. & Sackville Hamilton, N. R. (2008). Variation of microsatellite markers in a collection of Lao's black glutinous rice (*Oryza sativa* L.). *Asian Journal of Plant Science*, 7(2), 140-148.
5. Cho, Y. I., Park, C. W., Kwon, S. W., Chin, J. H., Ji, H. S., Park, K. J., McCouch, S. & Koh, H. J. (2004). Key DNA markers for predicting heterosis in F₁ hybrids of Japonica rice. *Breeding Science*, 54, 389-397.
6. Endo, T. & Morishima, H. (1983). Rice. In "Tanksley, S. D. & Orton, T. J. (Eds), *Isozyme in plant Genetic & Breeding*, Part B. pp 129-146". Elsevier Scientific Publishers B. V., Amsterdam.
7. Fitzgerald, M. A., McCouch, S. R. & Hall, R. D. (2008). Not just a grain of rice: The quest for quality. *Trends Plant Science*, 14(3), 133-139.
8. Kibria, K., Nur, F., Begum, S. N., Islam, M. M., Paul, S. K., Rahman, K. S. & Azam, S. M. M. (2009). Molecular marker based genetic diversity analysis in aromatic rice genotypes using SSR and RAPD markers. *Journal of Sustainable Crop Production*, 4(1), 23-34.
9. Lapitan, V. C., Brar, D. S., Abe, T. & Redona, E. D. (2007). Assessment of genetic diversity of Philippine rice carrying good quality traits using SSR markers. *Breeding Science*, 57, 263-270.
10. Liu, K. & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21, 2128-2129.
11. Liu, Q. Q., Li, Q. F., Cai, X. L., Wang, H. M., Tang, S. Z., Yu, H. X., Wang, Z. Y. & Gu, M. H. (2006). Molecular marker-assisted selection for improved cooking and eating quality of two elite parents of hybrid rice. *Crop Science*, 46, 2354-2360.
12. Luan, L., Wang, X., Long, W. B., Liu, Y. H., Tu, S. B., Zhao, Z. P., Kong, F. L. & Yu, M. Q. (2008). Microsatellite analysis of genetic variation and population genetic differentiation in autotetraploid and diploid rice. *Biochemical Genetics*, 46, 248-266.
13. McCouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y., Zhang, Q., Kono, I., Yano, M., Fjellstrom, R., DeClerck, G., Schneider, D., Cartinhour, S., Ware, D. & Stein, L. (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research*, 9, 199-207.
14. Mirdarikvand, M., Nematzadeh, GH., Alami, A. & Ghareyazi, B. (2003). Allelic frequency and polymorphism of isozyme markers in Iranian rice. *Iranian Journal of Crop Science*, 6 (2), 145-159. (In Farsi)
15. Mohammadi, S. A. & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43, 1235-1248.
16. Mohammadi-Nejad, G., Arzani, A., Rezaei, A. M., Singh, R. K. & Gregorio, G. B. (2008). Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the *saltol* QTL. *African Journal of Biotechnology*, 7(6), 730-736.
17. Nagaraju, J., Kathirvel, M., Ramesh Kumar, R., Siddiq, E. A. & Hasnain, S. E. (2002). Genetic analysis of traditional and evolved Basmati and Non-Basmati rice varieties by using fluorescence-based ISSR-PCR and SSR markers. *Agriculture Science*, 99(9), 5836-5841.
18. Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
19. Ni, J., Colowit, P. M. & Mackill, D. J. (2002). Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. *Crop Science*, 42, 601-607.

20. Panaud, O., Chen, X. & McCouch, S. R. (1996). Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular General Genetics*, 252, 597-607.
21. Rabiei, B., Valizadeh, M., Ghareyazie, B., Moghaddam, M. & Ali, A. J. (2004). Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. *Euphytica*, 137, 325-332.
22. Renming, Z., Yinghua, L., Zhenglin, Y., Fangming, Z., Bingqiang, Z., Rong, X., Xianchun, S. & Guanghua, H. (2008). Prediction of hybrid grain yield performances in Indica rice (*Oryza sativa* L.) with effect-increasing loci. *Molecular Breeding*, 22, 467-476.
23. Rohlf, F. J. (1999). NTSYS_{pc}: *Numerical taxonomy and multivariate analysis system*, ver. 2.02. Applied Biostatistics, New York.
24. Saghai-Marooif, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. & Allard, R. W. (1984). Ribosomal DNA sepaer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81, 8014-8019.
25. Sokal, R. R. & Michener, C. D. (1958). *A statistical method for evaluating systematic relationships*. University of Kansas science bulletin, 38, 1409-1438.
26. Shannon, C. E. & Weaver, W. (1949). *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana.
27. Verma, O. P. & Srivastava, H. K. (2005). Heterosis and segregation distortion for grain quality traits using diverse genotypes in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Sustainable Agriculture*, 26 (3), 15-30.
28. Virmani, S. S., Mao, C. X. & Hardy, B. (2003). Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection. In: *Proceedings of Hybrid Rice*, 14-17 May, Los Baños, Philippines, International Rice Research Institute, 407 p.
29. Yeh, F. C. & Boyle, T. J. B. (1997). Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian Journal of Botany*, 129, 157.

Archive of SID