مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۶، شماره ۵، سال ۱۳۸۴ (۱۲۶۲-۱۲۵۱)

مقایسه گروه بندی ارقام برنج با استفاده از داده‌های الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه و داده‌های صفات کمّی

ابوذر ابوذری گزافرودی[۱] ،مصطفی ولیزاده[۲]، رحیم هنرنژاد[۳] و محمّدحسین فتوکیان[٤]
۱، مربی ژنتیک، مجتمع آموزش جهاد کشاورزی مازندران (مرکز آموزش کشاورزی تنکابن)
۲ ، استاد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز ٤، استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان
۳، عضو هیات علمی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۹/٤

خلاصه

شناخت کافی از تنوع ژنتیکی و طبقه بندی ژرم پلاسم ها جهت انتخاب والدین مناسب برای اهداف به نژادی لازم و ضروری است. در این تحقیق از الگوی الکتروفورز پروتئینهای ذخیره ای ارقام برنج و داده های حاصل از اندازه گیری صفات کمّی برای بررسی تنوع ژنتیکی و طبقه بندی مجموعه ای از برنجهای ایرانی و خارجی استفاده شد. بدین منظور تعداد ٤۹ رقم برنج ایرانی و خارجی از موسسه تحقیقات برنج کشور تهیه و در مزرعه آموزشی آموزشکده کشاورزی تنکابن در قالب طرح لاتیس مربع با دو تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. تجزیه واریانس داده ها نشان داد که ژنوتیپهای مورد مطالعه از نظر صفات بررسی شده دارای اختلاف معنی داری با هم هستند . وراثت پذیری عمومی صفات از ۸۸٪ برای تعداد پنجه کل و عرض برگ پرچم تا ۹۹٪ برای زمان ظهور ۵۰٪ خوشه ها وزمان رسیدن متغیر بود. تجزیه خوشه ای به روش "وارد" برای داده های مزرعه ای و UPGMA برای داده های الکتروفورزی ، ژنوتیپهای مورد مطالعه را بترتیب در ٤ و ۵ گروه قرار داد. در این تحقیق گروه بندی بر اساس باندهای پروتئینی توانست مانند تجزیه خوشه ای بر مبنای صفات زراعی تا حدود زیادی ارقام بومی را از سایر ارقام جدا نماید. داده‌های حاصل از الکتروفورز به میزان زیادی توانائی تکمیل داده‌های مرفولوژیکی را داشته و می توانند مکمل هم باشند. مضافاً اینکه تکرار آزمایشات مشابه به همراه تعداد بیشتری از صفات برای نیل به نتیجه دقیقتر توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: برنج، تنوع ژنتیکی، الکتروفورز، تجزیه کلاستر، وراثت پذیری

مقدمه

تنوع مبنای همه گزینش‌ها بوده و انتخاب ژنوتیپی نیز نیازمند تنوع می باشد. بدیهی است که با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در یک جامعه حدود انتخاب نیز وسیعتر می‌شود(۲). تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی در سراسر دنیا بطور تصادفی توزیع نشده است. در دهه ۱۹۲۰ واویلف مناطقی را که در آنجا حداکثر تنوع ژنتیکی برای گونه‌های عمده زراعی وجود داشته شناسایی نمود(۴). هارلان نشان داد که گیاهان دارای دو منشاء متفاوت هستند که یکی مرکز اصلی و دیگری مراکزثانویه[۱] تنوع ژنتیکی می‌باشند (۴). اصلاح نباتات بر پایه تنوع و گزینش بنا نهاده شده و تنوع ژنتیکی حوزه فعالیت وانتخاب اصلاحگر را برای گزینش و دیگر عملیات اصلاحی افزایش می‌دهد. امروزه بررسی تنوع ژنتیکی در موجودات زنده به دو طریق صورت می‌گیرد: بررسی تظاهر ژن (نشانگرهای مرفولوژیکی و

1 -Secondary centers

مکاتبه کننده: ابوذر ابوذری گزافرودی e-mail: shahroz52@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

بیوشیمیایی) و شناسایی توالیهای موجود در DNA (نشانگرهای DNA). تاریخ کاربرد نشانگرهای ژنتیکی[1] به دهها سال قبل از کشف DNA به عنوان ماده ژنتیکی مربوط می‌شود. نشانگرهای مرفولوژیکی که نتیجه جهش‌های قابل رویت در مرفولوژی سیستمهای زنده می‌باشند از اوایل قرن بیستم مورد استفاده بوده‌اند ولی در اصلاح نباتات استفاده از نشانگرهای بیوشیمیایی یعنی آیزوزایمها[2] و پروتئینها حدوداً از ۴۰ سال قبل رایج گردید (۵). در بررسی‌های لیبینگ و همکاران (۱۹۹۹) بر روی۱۶۳ رقم بومی و ۱۶ واریته پر محصول تجاری جاپونیکا به منظور ارزیابی اجزاء عملکرد، تجزیه کلاستر رقمها را به ۵ گروه و ۱۳ تیپ تقسیم نمود. کندهولا و پنوار (۱۹۹۹) تنوع ژنتیکی میان ۵۲ ژنوتیپ برنج را بررسی نموده و آنها را بر اساس ۱۶ صفت کیفی و مرفولوژیکی ـ زراعی به ۱۱ کلاستر تقسیم نمودند. ساراوکی و همکاران (۱۹۹۸) به بررسی تنوع ژنتیکی در ۱۳۲ ژنوتیپ برنج اقدام و با استفاده از تجزیه کلاستر ارقام مورد نظر را در ۱۰گروه مختلف قرار دادند. موکاتا و همکاران (۱۹۹۸) در بررسی تنوع ژنتیکی در برنج از ۲۵ ژنوتیپ استفاده نمودند که بر اساس داده‌های اجزاء عملکرد به ۵ کلاستر تقسیم شدند. هانا ماراتی و همکاران (۱۹۹۸) ۵۰ ژنوتیپ برنج را بر اساس اجزاء عملکرد در شرایط کشت متفاوت مورد ارزیابی قرار دادند. تحقیقات آنها نشان داد که مستقل از منشأ جغرافیائی، ارقام مورد نظر هنگامی که در ارتفاعات و مناطق پست کشت شوند بترتیب ۱۷ و ۱۸ کلاستر ایجاد می‌کنند. طبق بررسی‌های انجام گرفته توسط ربیعی (۱۳۷۵) از دو روش الکتروفورزی A-PAGE و SDS-PAGE، بهترین نتیجه از روش SDS-PAGE حاصل شد. تحقیقات ساتو و همکاران (۱۹۹۰) بر روی ۱۲۹ نژاد از برنجهای تانزانیا نشان داد که تنوع زیادی در میان الگوهای الکتروفورزی پروتئین‌های برنج جمع‌آوری شده وجود دارد. برای بررسی تنوع جغرافیایی رقم‌های برنج دیم با استفاده از چند شکلی[3] موجود در پروتئین‌های دانه برنج، پروتئین‌های دانه ۵۸ رقم از برزیل و ۹ رقم از برنجهای زراعی دیم با استفاده از روش الکتروفورز SDS-PAGE استخراج و بررسی گردیدند. تحقیقات مونتالوان و آندو (۱۹۹۸) نشان داد که چند شکلی مشاهده شده با استفاده از الکتروفورز، می‌تواند بیانگر منشأ جغرافیایی هر رقم باشد.

سانتی و نیرال (۱۹۹۸) اظهار داشتند که در روش الکتروفورز SDS-PAGE، آلبومین بیشترین چند شکلی را در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد. یوپسانیس و همکاران (به نقل از منبع شماره ۱) روش SDS-PAGE پروتئینهای آلبومین و گلوبولین را برای تشخیص تنوع واریته‌های برنج جهت اهداف اصلاحی پیشنهاد نمودند. پروتئینهای ذخیره‌ای ضمن داشتن چند شکلی زیاد، بسیار با ثبات بوده و الگوهای الکتروفورزی پروتینهای بذور رسیده چه بتنهایی ویا با سایر مارکرها معیار بسیار خوبی برای شناسایی جوامع و ارقام مختلف گیاهی می‌باشند (۳). هدف از اجرای این تحقیق مطالعه تنوع ژنتیکی ارقام برنج ایرانی و خارجی و گروه بندی آنها بر اساس داده های مرفولوژیکی و الکتروفورز پروتئینهای ذخیره ای بوده است، به این امید که علاوه بر شناسایی ارقام و ژنوتیپهایی که فاصله ژنتیکی بیشتری داشته و تلاقی آنها عموماً از هتروزیس[4] بیشتری نیز برخوردار خواهد بود، بتوان گروه بندی و تعیین تنوع ژنتیکی را در زمان کوتاه‌تر و با سهولت بیشتر به کمک روش الکتروفورز و الگوی باندهای پروتئینی انجام داده و از الگوی باندهای پروتئینی هر رقم بعنوان شناسنامه ژنتیکی آن واریته استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه بر روی یک نمونه تصادفی از توده برنجهای بومی، اصلاح شده و خارجی در مزرعه و آزمایشگاه انجام گرفت. آزمایش مزرعه‌ای در سال ۱۳۸۰ در قالب طرح لاتیس مربع ساده با دو تکرار در مزرعه تحقیقاتی مرکز آموزش کشاورزی تنکابن انجام گرفت. بذور ۴۹ رقم برنج ایرانی و خارجی که از مؤسسهٔ تحقیقات برنج کشور تهیه شده بود جهت تهیه نشاء در خزانه بذر پاشی و سپس در زمین اصلی در هر تکرار، هر رقم در دو ردیف و در هر ردیف ده بوته با فاصله ۲۵×۲۵ سانتیمتر

1.Genetic marker
2. Isozyme
3. Polymorphism
4. Heterosis

Archive of SID

www.SID.ir

بصورت تک نشاء، نشاءکاری شدند. عملیات کاشت و داشت شامل آماده کردن زمین اصلی، نشاء کاری، آبیاری، مبارزه با علفهای هرز و بیماریها و مصرف کود طبق عرف منطقه انجام شد.

برای اندازه‌گیری صفات کمّی مورد نظر، تعداد ۵ بوته از هر رقم بطور تصادفی انتخاب گردید. برای محاسبات و تجزیه‌های آماری از میانگین ۵ نمونه انتخاب شده استفاده گردید. اندازه‌گیری صفات بر اساس دستورالعمل سیستم استاندارد ارزیابی برنج انجام گرفت (۸). صفات مرفولوژیکی اندازه‌گیری شده عبارت بودند از: مدت زمان رسیدن، مدت زمان خوشه‌دهی، تعداد دانه در خوشه، طول دانه، قطر دانه، طول بالاترین میان گره، طول خوشه، ارتفاع گیاه، وزن ۱۰۰ دانه، نسبت طول به قطر دانه قهوه‌ای، تعداد ساقه بارور، تعداد ساقه کل، عرض برگ پرچم، طول برگ پرچم، عملکرد دانه در بوته، نسبت طول به عرض برگ پرچم. وراثت پذیری عمومی برای کلیه صفات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی (زمانیکه Eb کوچکتر از Ee یا مقدار آن بسیار نا چیز باشد) محاسبه گردید.

در مطالعات آزمایشگاهی از الکتروفورز SDS-PAGE پروتئین‌های ذخیره‌ای کل دانه برای بررسی تنوع استفاده گردید. پس از انجام الکتروفورز و رنگ‌آمیزی ژلها، الگوی پروتئینی بصورت صفر و یک امتیازدهی و با استفاده از روش ضرایب تطابق ساده[1] تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA[2] انجام شد.

برای انجام آزمایش الکتروفورز SDS-PAGE چندین مرحله بنا بر روش پیشنهادی منبع ۱۸ به ترتیب زیر صورت گرفت: استخراج پروتئین‌ها، تهیه ژل پلی‌اکریل‌آمید و محلول‌های لازم، تهیه محلول رنگی[3]، تهیه محلول رنگ آمیزی، تهیه محلول رنگ زدا، تهیه تامپون الکترود و بارگذاری نمونه‌ها در داخل چاهک‌های ژل.

در طی چند بار انجام آزمایش رقم شاه پسند چون رقمی بومی بوده و تعداد باندهای نسبتاً زیادتری نسبت به سایر ارقام نشان‌داد به عنوان شاهد انتخاب گردید. پس از پایان رنگ‌آمیزی و رنگ زدایی ژلها از نظر وجود یا عدم وجود هر باند بترتیب با اعداد یک و صفر مورد ارزیابی قرار گرفته و یادداشت برداری شدند.

تجزیه‌های آماری

تجزیه واریانس داده‌ها به کمک نرم افزار MSTATC انجام گرفت. در حالتی که برای بعضی از صفات میانگین مربعات بلوک کوچکتر از میانگین مربعات خطا بوده (Ee > Eb) تجزیه تحلیل‌های آماری بر اساس طرح بلوک کامل تصادفی انجام گردید. در این حالت مجموع مربعات خطا از جمع موازنه شده مجموع مربعات خطای داخل بلوک و مجموع مربعات بلوک داخل تکرار محاسبه گردید. در این تحقیق برای داده‌های حاصل از مزرعه و داده‌های حاصل از الگوی نواربندی پروتئین‌های ذخیره‌ای برنج، تجزیه خوشه‌ای جداگانه با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت. برای داده‌های صفات کمّی ابتدا ضریب فاصله بین افراد از روش مربع فاصله اقلیدسی محاسبه و پس از مقایسه کارایی روشهای مختلف تجزیه کلاستر، به کمک ضریب همبستگی کوفنتیک(۱، ۱۴)، دندروگرام حاصل از روش وارد با ضریب همبستگی کوفنتیک ۰/۸۹ بعنوان بهترین روش ترسیم گردید. به منظور گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه از لحاظ داده‌های حاصل از الگوی نواربندی پروتئین‌ها، برای محاسبه تشابه بین هر یک از زوج ژنوتیپ‌ها از روش ضرایب تطابق ساده بدلیل کاربرد زیاد در مطالعات الکتروفورزی استفاده شده(۱، ۱۸) و ترسیم نمودار به روش UPGMA انجام گرفت.

نتایج و بحث

مقایسه جداول تجزیه واریانس صفات مختلف (جداول۱و ۲) نشان داد که در بعضی از این صفات مقدار واریانس بین بلوک‌ها کمتر از واریانس خطای آزمایشی است، لذا برای این صفات از میانگین موازنه شده واریانس بین بلوک‌های داخل تکرار و اشتباه آزمایشی درون بلوکی استفاده و تجزیه آماری آنها بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. این صفات عبارت بودند از: تعداد دانه در خوشه، طول بالاترین میان گره، وزن ۱۰۰ دانه، نسبت طول به قطر دانه قهوه‌ای، تعداد ساقه بارور، عملکرد دانه، عرض برگ پرچم (جدول ۲). آزمون F برای

1. Simple matching
2. Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic average
3. Dye

Archive of SID
www.SID.ir

تمام صفات اندازه گیری شده در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. این امر نشان دهنده وجود تنوع بین ارقام مورد مطالعه از نقطه نظر صفات کمّی مورد بررسی بوده است. کمترین ضریب تغییرات برای صفت زمان رسیدگی (۲/۵۷٪) و بیشترین مقدار آن در صفت عملکرد(۸/۰۵۹٪) محاسبه گردید(جداول۱،۲). ضریب تغییرات بسیار پایین حاکی از دقت در اندازه‌گیری و یکنواختی ماده آزمایشی است. برای صفاتی که واریانس داخل بلوک‌ها از واریانس خطای آزمایشی بزرگتر بوده، از میانگین تصحیح شده و خطای مؤثر جهت مقایسه تیمارها استفاده گردید (جدول۱). سودمندیهای نسبی طرح بلوک ناقص نسبت به بلوک کامل ناچیز بود و فقط دو صفت طول برگ پرچم و قطر دانه حدود ۱۰٪ سودمندی بیشتر نشان دادند. این سودمندی‌ها حاکی از یکنواخت بودن ماده آزمایشی و عملیات اجرایی بوده است.

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس صفات کمّی مورد مطالعه در ۴۹ رقم برنج در قالب طرح لاتیس مربع ساده(میانگین مربعات)

صفات / منابع تغییر	درجه آزادی	نسبت طول به عرض‌برگ پرچم	طول برگ پرچم	تعداد کل پنجه	ارتفاع گیاه	طول خوشه	قطر دانه	طول دانه	روز تا رسیدگی	روز تا ظهور ۵۰٪ خوشه‌ها (زمان خوشه‌دهی)
تکرار	۱	۰/۶۵۸	۱۱/۳۱۵	۴/۱۲۳	۱۲۳/۰۲	۰/۹۲۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۶/۸۹	۱۱/۱۱۲
ژنوتیپ‌های تصحیح شده	۴۸	۴۱/۶۳**	۵۲/۳۲**	۲۴/۵۰**	۷۶۳/۸۸**	۱۹/۱۹**	۰/۳۸۴**	۲/۷۳۸**	۱۰۸/۸۴۱**	۱۳۳/۶۰۹**
بلوک ناقص درون تکرار (تصحیح شده)	۱۲	۲/۲۴۸	۱/۱۸۲	۱/۳۵۳	۱۷/۸۹	۰/۸۹۳	۰/۰۰۶	۰/۰۳۴	۰/۶۲۴	۰/۷۱۹
خطای موثر آزمایشی	۳۶	۱/۸۷۵	۰/۶۴۸	۱/۲۵	۱۶/۹۶	۰/۷۹	۰/۰۰۳	۰/۰۲۴	۰/۵۳۹	۰/۶۵۱
کارآیی نسبی طرح لاتیس به طرح بلوک کامل تصادفی(٪)		۱۰۱/۲۹	۱۱۰/۰۷	۱۰۰/۲۲	۱۰۰/۱۲	۱۰۰/۱۵	۱۰۴/۲۷	۱۰۳/۸۹	۱۰۰/۸۵	۱۰۰/۴۱
ضریب تغییرات		۵/۹۱	۲/۹۱	۷/۵۸	۳/۵۲	۳/۴۸	۴/۱۰	۳/۶۸	۲/۵۷	۳/۷۸

** معنی دار در سطح۱٪

جدول۲- نتایج تجزیه واریانس صفات کمّی مورد مطالعه در ۴۹ رقم برنج در قالب طرح بلوک کامل تصادفی(میانگین‌مربعات)

صفات / منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد	عرض برگ پرچم	تعداد ساقه بارور	نسبت طول به قطر دانه قهوه‌ای	وزن ۱۰۰ دانه	طول بالاترین میان گره	تعداد دانه در خوشه
تکرار	۱	۰/۰۳۲	۰/۰۰۷	۲/۰۵	۰/۰۳۷	۰/۰۱۵	۰/۱۵۵	۸۸/۲۵
ژنوتیپ‌ها	۴۸	۰/۱۱۳**	۰/۰۵**	۲۵/۵۴**	۰/۹۹**	۰/۲۷۳**	۴۹/۶۶**	۳۸۶۹/۶۹**
اشتباه آزمایشی	۴۸	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۸۳۲	۰/۰۳۶	۰/۰۰۵	۱/۴۸	۴۸/۵۰
ضریب تغییرات		۸/۰۵۹	۴/۲۰	۷/۰۷	۶/۰۵	۵/۸۵	۳/۲۲	۴/۵۵
حداقل اختلاف معنی دار (LSD)								
P = ۰/۰۵		۰/۱۱۹	۰/۱۰	۱/۸۳	۰/۳۸	۰/۱۳	۲/۴۵	۱۴/۰۰
P = ۰/۰۱		۰/۱۵۹	۰/۱۳	۲/۴۴	۰/۵۱	۰/۱۸	۳/۲۶	۱۸/۶۸

** معنی دار در سطح۱٪

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه خوشه‌اي (کلاستر) ارقام بر اساس صفات زراعي

با برش دندروگرام حاصل از روش وارد در فاصله ۵ واحد (شکل۵)، ارقام برنج در ۴ کلاستر مجزا قرار گرفتند. کلاستر اول شامل ۱۱ رقم، کلاستر دوم بزرگترین کلاستر و شامل۲۴ رقم، کلاستر سوم ۲ رقم و کلاستر چهارم ۱۲ رقم را در خود جای دادند (شکل۵). در این تحقیق به منظور بررسی سهم ۱۶ صفت مورد مطالعه در ایجاد کلاسترها، میانگین و انحراف از میانگین کل هر کلاستر برای کلیه صفات محاسبه گردید (جدول ۳). ارزش فنوتیپی کلاستر اول برای صفات قطر دانه، روز تا ظهور ۵۰٪ خوشه‌ها، وزن صد دانه، تعداد ساقه بارور و تعداد پنجه کل دارای میانگین بیشتر از میانگین کل بوده و برای سایر صفات دارای ارزشی کمتر از میانگین کل بود. کم بودن میانگین عملکرد کلاستر اول را می‌توان تا حدودی به منفی بودن ارزش انحراف از میانگین کل صفات تعداد دانه در خوشه، طول خوشه و عرض برگ پرچم نسبت داد. بیشترین اختلاف منفی این کلاستر به صفت تعداد دانه در خوشه و بیشترین اختلاف مثبت آن از میانگین کل به صفت روز تا ظهور ۵۰٪ خوشه‌ها مربوط می‌شد. از نظر ارتفاع، کلاستر اول دارای بیشترین انحراف منفی از میانگین کل بوده و با توجه به تلاش روزافزون برای بهبود شاخص محصول و افزایش عکس العمل به ازت با افزایش مقاومت به خوابیدگی و از طرفی دیگر وجود همبستگی منفی بین عملکرد و ارتفاع گیاه، ارقام موجود در این کلاستر را می‌توان با در نظر گرفتن اثر متقابل سایر صفات برای برنامه‌های اصلاحی کاهش ارتفاع و مقاومت به ورس مورد استفاده قرار داد. کلاستر مذکور برای صفات قطر دانه، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد ساقه بارور و تعداد پنجه کل در رتبه اول قرار گرفت.

ارزش فنوتیپی کلاستر دوم برای صفات قطر دانه، طول دانه، طول بالاترین میانگره، ارتفاع گیاه، تعداد ساقه بارور،تعداد پنجه کل، طول برگ پرچم و نسبت طول به عرض برگ پرچم دارای ارزش میانگین بیشتر از میانگین کل و برای دیگر صفات ارزشی کمتر از میانگین کل داشت. برای صفت زودرسی کلاستر مذکور حداکثر اختلاف منفی را از خود نشان داد. نظر به استفاده از ارقام زودرس در مناطقی که کشت دوم دارای اهمیت بسیاری بوده و یا فصل برداشت با شروع فصل سرما و بارندگی تداخل دارد، با توجه به نتایج این تحقیق ودر صورت تکرار آن در چند سال و چند مکان، می‌توان ارقام موجود در این کلاستر از جنبه صفت زودرسی مد نظر قرار داد. تقریبا بیشتر ارقام محلی مورد مطالعه که از نظر کیفی دارای صفات مطلوبی هستند در این گروه جای گرفتند به عبارتی دیگر می توان گفت کلاستر بر مبنای صفات زراعی توانسته تا حدود زیادی توده‌های بومی را از سایر ارقام تفکیک نماید. لذا برای برنامه‌های اصلاحی بهبود کیفیت می‌توان ارقام بومی موجود در این کلاستر را مد نظر قرار داد.

دو رقم عسگری طارم و آرژانتین کلاستر سوم را تشکیل دادند. صفات روز تا ظهور ۵۰٪ خوشه‌ها، قطر دانه، ارتفاع گیاه، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد ساقه بارور، تعداد پنجه کل و نسبت طول به عرض برگ پرچم دارای انحراف منفی از میانگین کل بوده و بیشترین این اختلاف به صفت تعداد ساقه بارور مربوط می‌شد(جدول۳). صفات نسبت طول به قطر دانه قهوه‌ای، عرض برگ پرچم، طول برگ پرچم، عملکرد دانه، زمان رسیدن، تعداد دانه در خوشه، طول‌دانه، طول بالاترین میان گره و طول خوشه دارای انحراف مثبت از میانگین کل بودند. بیشترین اختلاف مثبت به صفت تعداد دانه در خوشه مربوط می‌شد. این کلاستر با داشتن انحراف از میانگین بالا برای صفت عملکرد دانه، دارای ارقام پر محصول بود. با وجود آنکه صفات تعداد ساقه بارور، تعداد پنجه کل و وزن ۱۰۰ دانه که از صفات مؤثر بر عملکرد می‌باشند دارای انحراف منفی از میانگین کل بودند ولی با توجه به انحراف مثبت برای صفات تعداد دانه در خوشه، طول خوشه، عرض برگ پرچم و طول برگ پرچم همچنین وجود انحراف منفی برای صفت ارتفاع گیاه، می توان برای صفت عملکرد دانه ارقام این کلاستر را مد نظر قرار داد.

کلاستر چهارم با ۱۲ رقم شامل ژنوتیپ‌های ندا، دشت، آمل۱، لبانت، خزر، Sterella،DCL، گیل۳، آمل۲، آمل۳،IR5 و IR36 بوده است. این کلاستر برای صفات وزن ۱۰۰ دانه، تعداد ساقه بارور، تعداد پنجه کل، طول برگ پرچم، نسبت طول به عرض برگ پرچم، قطر دانه، طول بالاترین میان گره، طول خوشه و ارتفاع گیاه دارای انحراف منفی از میانگین کل بود(جدول۳). صفات نسبت طول به قطر دانه قهوه‌ای، عرض

Archive of SID

www.SID.ir

برگ پرچم، عملکرد دانه، روز تا ظهور ۵۰٪ خوشه ها، روز تا رسیدن، تعداد دانه در خوشه و طول دانه دارای انحراف مثبت از میانگین کل بودند. بیشترین انحراف مثبت از میانگین کل به صفت تعداد دانه در خوشه مربوط می‌شد. حداکثرانحراف منفی به صفت ارتفاع گیاه تعلق گرفت. با توجه به اهمیت ژنوتیپ پا کوتاه و مقابله با ورس همچنین وجود همبستگی منفی بین ارتفاع گیاه و عملکرد، ارقام موجود در این کلاستر برای بهبود واصلاح ارتفاع گیاه مناسب تشخیص داده شدند. وجود ارقام پا کوتاه و اصلاح شده می‌تواند مؤید این مطلب باشد. در کلاستر چهارم هیچ رقم بومی مشاهده نگردیده و اکثراً شامل ارقام اصلاح شده بود. میانگین طول دانه دارای برتری خوبی نسبت به سایر کلاسترها بوده و با توجه به مطلوب بودن طول دانه، این کلاستر را می‌توان جهت بهبود و گزینش والدین با طول دانه بیشتر مدنظر قرار داد.

از آنجا که ژنوتیپ‌های موجود در هر یک از کلاسترها دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های موجود در کلاسترهای دیگر می‌باشند، بنابراین در صورت نیاز به دورگ‌گیری می‌توان از ارقام موجود در کلاسترهای مختلف برای استفاده هر چه بهتر از پدیده‌هایی همچون هتروزیس[1] و تفکیک متجاوز[2] بهره برد.

1. Heterosis
2. Transgressive segregation

جدول۳- گروه بندی ارقام مورد مطالعه بر اساس صفات کمّی. میانگین هر کلاستر(عدد بالا)و انحراف از میانگین کل(عدد پایین)

کلاستر	روز تا ظهور ۵۰٪ خوشه ها	روز تا رسیدن	تعداد دانه در خوشه	طول دانه (mm)	قطر دانه (mm)	طول بالاترین میانگره(cm)	طول خوشه (cm)	ارتفاع گیاه (cm)
۱	۱۰۷/۳۶۳	۱۳۲/۳۱۸	۱۲۳/۸۱	۹/۲۰۴	۲/۸۴۵	۳۴/۹۰۹	۲۲/۹۶۳	۹۷/۲۳۱
	(۳/۴۰۵)	(۳/۵۷۴)	(-۲۹/۰۱۶)	(-۰/۰۴۴)	(۰/۰۴۶)	(-۲/۹۱)	(-۲/۵۷)	(-۱۹/۶۵۴)
۲	۹۸/۸۱۲	۱۲۵/۱۶۶	۱۳۶/۴۱۶	۹/۱۷۹	۲/۸۳۳	۴۰/۳۹۵	۲۶/۸۸۳	۱۳۱/۷۴۷
	(-۵/۱۴۶)	(-۳/۵۷۸)	(-۱۶/۴۱)	(-۰/۰۶۹)	(۰/۰۳۴)	(۲/۵۷۶)	(۱/۳۵)	(۱۴/۸۶۲)
۳	۱۰۲/۵	۱۲۹/۷۵	۲۹۹/۲۵	۹/۲۵	۲/۴۵	۴۱/۴	۲۷/۱	۱۱۶/۷۷۵
	(-۱/۴۵۸)	(۱/۰۰۶)	(۱۴۶/۴۲)	(۰/۰۰۲)	(-۰/۳۴۹)	(۳/۵۸۱)	(۱/۵۶۷)	(-۰/۱۱)
۴	۱۰۷/۸۷۵	۱۳۲/۴۵۸	۱۸۷/۷۰۸	۹/۶۲۵	۲/۷۴۵	۳۴/۷۳۷	۲۴/۱۹۵	۱۰۵/۱۹۵
	(۳/۹۱۷)	(۳/۷۱۳)	(۳۴/۸۸۲)	(۰/۳۷۷)	(-۰/۰۵۴)	(-۳/۰۸۲)	(-۱/۳۳۸)	(-۱۱/۶۹)
میانگین کل	۱۰۳/۹۵۸	۱۲۸/۷۴۴	۱۵۲/۸۲۶	۹/۲۴۸	۲/۷۹۹	۳۷/۸۱۹	۲۵/۵۳۳	۱۱۶/۸۸۵

ادامه جدول۳

کلاستر	وزن ۱۰۰دانه (gr)	نسبت طول به قطر دانه قهوه‌ای(mm)	تعداد ساقه بارور	تعداد پنجه کل	عرض برگ پرچم (cm)	طول برگ پرچم (cm)	عملکرد تک بوته (کیلوگرم در متر مربع)	نسبت طول به عرض برگ پرچم(cm)
۱	۲/۵۰۷	۳/۰۳۱	۱۴/۴۲۲	۱۶/۳۸۱	۱/۱۵	۲۳/۱۱۳	۰/۷۱	۲۰/۲۲۹
	(۰/۰۸)	(-۰/۱۱۴)	(۱/۵۳۵)	(۱/۵۹۱)	(-۰/۰۵۶)	(-۴/۵۲۲)	(-۰/۰۲۷)	(-۲/۹۰۳)
۲	۲/۴۱۳	۳/۰۹۴	۱۳/۰۰۲	۱۴/۸۰۲	۱/۱۸۷	۳۰/۹۰۲	۰/۶۸۳	۲۶/۳۷۶
	(-۰/۰۱۴)	(-۰/۰۵۱)	(۰/۱۱۵)	(۰/۰۱۲)	(-۰/۰۱۹)	(۳/۲۶۷)	(-۰/۰۵۴)	(۳/۲۴۴)
۳	۲/۳۰۵	۳/۴۱	۱۰/۱۲۵	۱۲/۲۷۵	۱/۴۷۵	۳۲/۲۵	۱/۱۳۳	۲۱/۸۹۷
	(-۰/۱۲۲)	(۰/۲۶۵)	(-۲/۷۶۲)	(-۲/۵۱۵)	(۰/۲۶۹)	(۴/۶۱۵)	(۰/۳۹۵)	(-۱/۲۳۵)
۴	۲/۳۱۹	۳/۳۰۸	۱۱/۷۱۲	۱۳/۷۲۹	۱/۲۵	۲۴/۴۷۹	۰/۸۰۱	۱۹/۵۱۰
	(-۰/۱۰۸)	(۰/۱۶۳)	(-۱/۱۷۵)	(-۱/۰۶۱)	(۰/۰۴۴)	(-۳/۱۵۶)	(۰/۰۶۳)	(-۳/۶۲۲)
میانگین کل	۲/۴۲۷	۳/۱۴۵	۱۲/۸۸۷	۱۴/۷۹	۱/۲۰۶	۲۷/۶۳۵	۰/۷۳۷	۲۳/۱۳۲

www.SID.ir

تجزیه کلاستر بر اساس الگوي باندهاي پروتئيني

پس از پایان عمل الکتروفورز، ژل‌های حامل باندهای پروتئینی عکس برداری (شکلهای ۱، ۲، ۳، ۴) و سپس بر اساس حضور یا عدم حضور هر باند(نوار) بترتیب اعداد یک و صفر ثبت گردیدند. این آزمایش چندبار با پروتینهای استخراجی از ارقام مورد مطالعه انجام و در نهایت تعداد ۲۹ باند واضح و مشخص که در چند بار تکرار آزمایش مشاهده گردیدند به عنوان مبنا برای رتبه دهی انتخاب شدند. ارقام شاه پسند، گیل ا و آرژانتین تقریباً تمام ۲۹ باند را دارا بودند. لذا با توجه به اهمیت ارقام بومی، رقم شاه پسند به عنوان رقم شاهد استفاده گردید.

باند ۱ (b_1) در فاصله ۲/۵ سانتیمتر از ابتدای ژل (مبدأ) قرار داشت. باند ۱۰ در فاصله ۵ سانتیمتری ـ باند ۱۴ در فاصله ۶ سانتیمتر، باند ۱۵ و ۱۶ در فاصله ۷ و ۷/۵ سانتیمتر، باندهای ۲۱ و ۲۲ در فاصله ۹/۳ و ۹/۷ سانتیمتری، باند ۲۶ در فاصله ۱/ ۱۰ سانتیمتر، باندهای ۲۷ و ۲۸ در فاصله ۱۰/۸ و ۱۱/۵ سانتیمتر و بالاخره باند ۲۹ در فاصله ۱۲ سانتیمتری از مبدأ قرار داشتند. باندهای ۱۶ و ۲۲ و ۲۸ و ۲۹ در تمام ارقام مشاهده شدند. باند ۱۱ در ارقام شاه پسند، آرژانتین و گیل ۱ مشاهده نشد. کمترین فراوانی را باندهای ۴ و ۵ نشان دادند بطوریکه باند شماره ۴ فقط در سه رقم Norin –22، گیل ۱ و آمل۱ مشاهده گردیدند. دو رقم دشت و IR28 کمترین تعداد باند را نشان دادند (۱۱ باند) بعد از آنها رقم چمپا بودار با ۱۲ باند در گروه ارقام با کمترین باندهای مشاهده شده قرار گرفت . برش دندروگرام حاصله (شکل ۶) در فاصله ۱۷ واحد، ارقام مورد مطالعه را بر اساس وجود یا عدم وجود باندهای پروتئینی حاصل از الکتروفورز SDS-PAGE ، در ۵ گروه قرار داد (جدول ۴). گروه اول شامل ۱۴ رقم بود که اکثریت آن را ارقام بومی گیلان تشکیل داد. کلاستر دوم و سوم بترتیب با ۵ و ۸ رقم کمترین ارقام بومی را در خود جای دادند بگونه ای که در کلاستر دوم فقط رقم بینام و در کلاستر سوم فقط رقم شاه پسند که بترتیب بومی گیلان و مازندران می باشند مشاهده گردید. در کلاستر دوم ارقام ,کانتوا, CY,Usen همانند کلاستربندی بر اساس داده‌های صفات کمّی در یک گروه قرار گرفتند (جدول۴). کلاستر چهارم با ۱۸ رقم بزرگترین گروه را تشکیل داد. اکثر ارقام اصلاح شده در این کلاستر جای گرفته و این نتیجه می‌تواند بر قرابت این ارقام و وجود باندهای پروتئینی مشابه تایید داشته باشد. کلاستر پنجم نیز با ۴ رقم، کوچکترین کلاستر را تشکیل داد. هر سه نوع ارقام بومی، اصلاح شده و خارجی با وجود تفاوتهای ظاهری، دارای تعدادی باند مشابه بوده و لذا قرابتی هر چند دور بین ارقام مختلف وجود دارد. علاوه بر آن برای اکثر ارقام بومی (گروه اول) و ارقام خارجی و اصلاح شده تفاوت نواری چشمگیری وجود داشته که در این مورد می‌توان در گزینش برای دو رگ گیری، ژنوتیپهایی که دارای تفاوت زیادتری هستند انتخاب کرد.

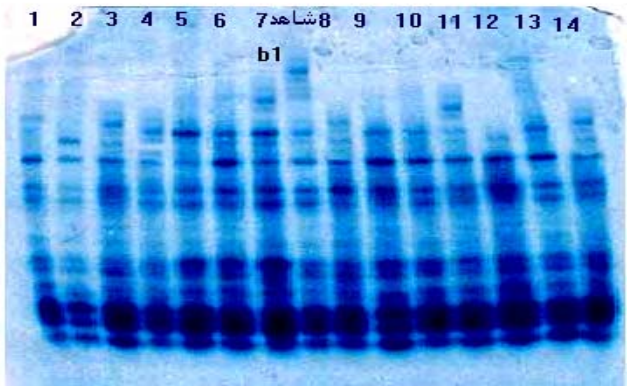
جدول۴-گروه بندی ارقام مورد مطالعه بر اساس الگوی نوارهای پروتئینی.

کلاستر	ارقام
۱	حسن سرایی پیچیده غلاف، حسن سرایی آتشگاه، خزر، عنبر بو، سنگ جو، غریب سیاه ریحانی، زیره، دمسیاه، حسنی، عسگری طارم، مازند، حسن سرایی، فوجی مینوری ,sterella
۲	کانتوا، بینام,usen , DC, CY
۳	آرژانتین، ندا، لبانت، شاه پسند، گیل۱، دولار، contury patana Norin-22
۴	دشت، علی کاظمی، سالاری، غریب، گیل۳، چمپا بودار، آمل۲، طارم پاکوتاه، بجار، آمل۱، تایچونگ، کالارو، آمل۳, IR64,IR28, IR60 , DCL
۵	نعمت، دیلمانی، IR50, IR36

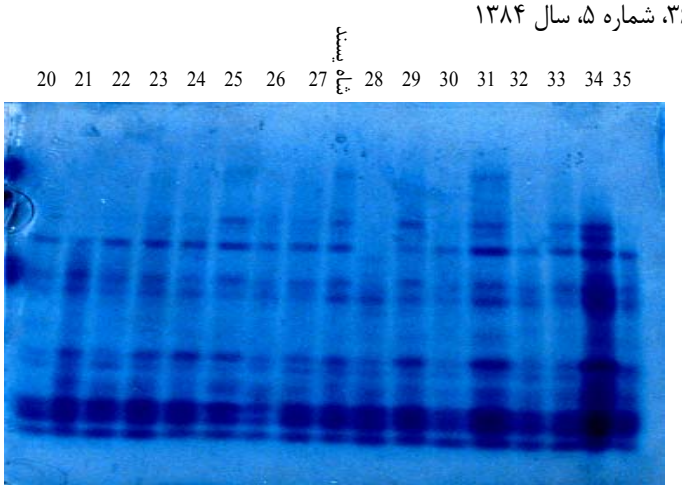
مقایسه گروه بندی داده‌های مرفولوژیک با داده‌های الکتروفورز پروتئین

در قدم بعدی گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه بر اساس ۱۶ صفت مرفولوژیکی اندازه‌گیری شده و الگوی نواربندی پروتئینی حاصل از الکتروفورز SDS-PAGE، مورد مقایسه قرار گرفتند. درمقایسه دو کلاستر(شکل ۶ و۵) مشاهده گردید ارقام متعددی در هر دو روش در یک کلاستر قرار گرفته(جدول۵) که این موضوع می‌تواند تاییدی برقرابت آنها باشد. در کلاستر بندی بر اساس باندهای پروتئینی همانطور که در کلاستر بندی بر اساس داده‌های صفات کمّی نیز دیده شد، بعضی ژنوتیپ‌های ایرانی همیشه در گروه ارقام خارجی قرار گرفتند که این امر

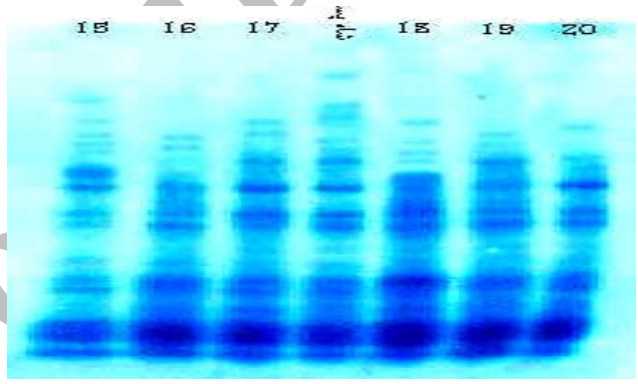
Archive of SID
www.SID.ir



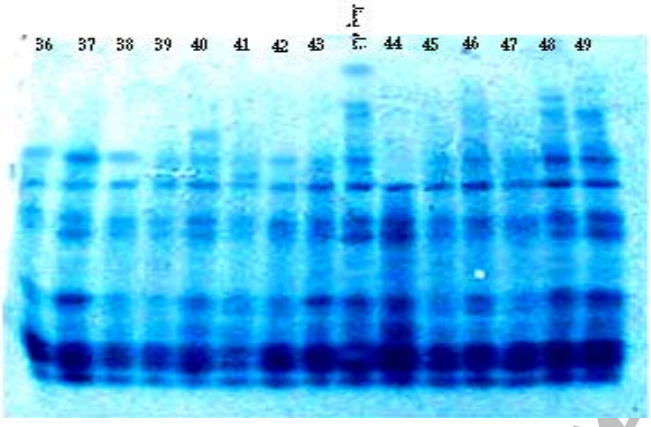
شکل ۱- ژل شماره ۱ شامل ارقام شماره یک تا چهارده(برای اسامی ارقام به شکل ۵ مراجعه شود)



شکل ۳- ژل شماره ۳ شامل ارقام شماره بیست تا سی وپنج



شکل ۲- ژل شماره ۲ شامل ارقام شماره پانزده تا بیست

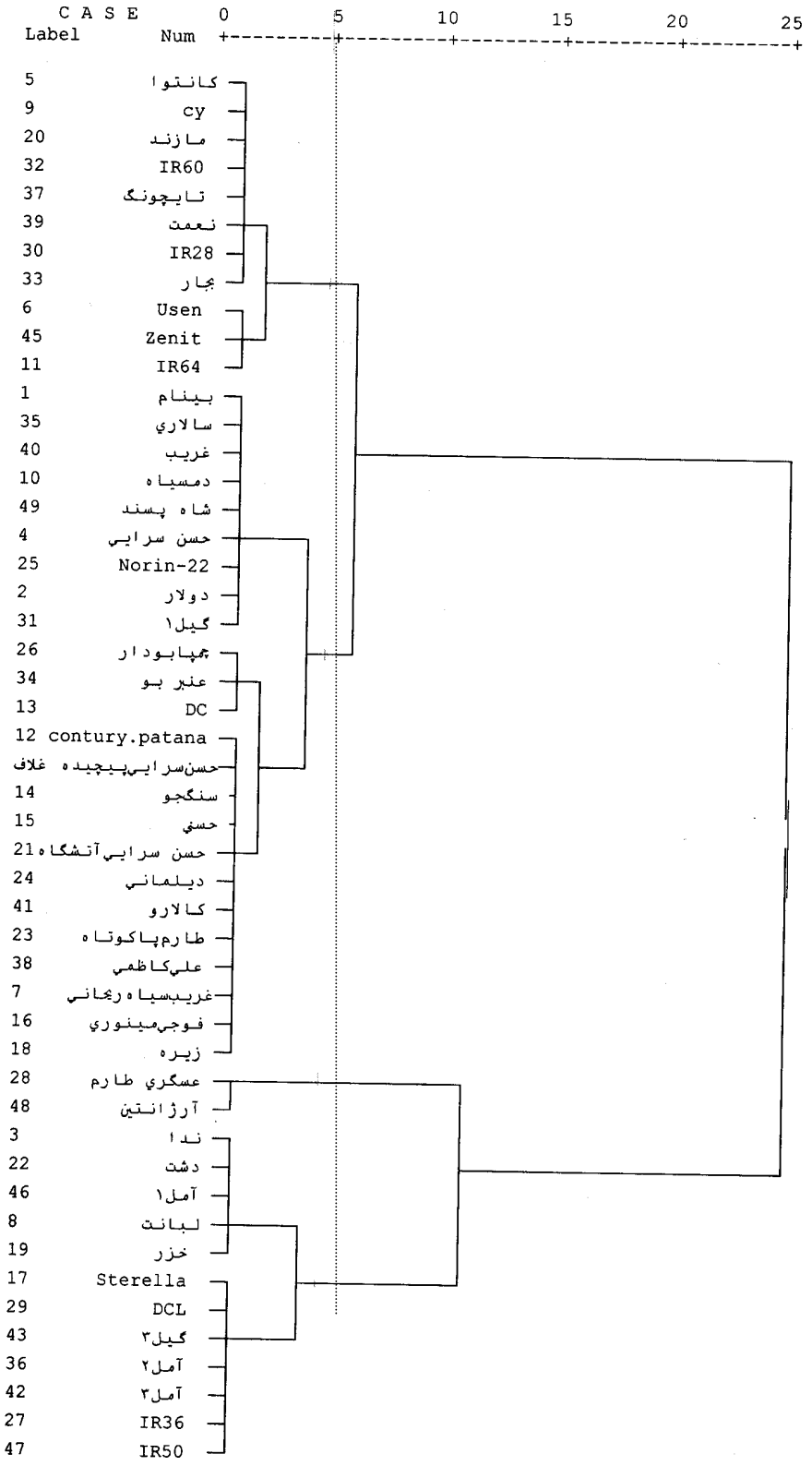


شکل ۴- ژل شماره ۴ شامل ارقام شماره سی وشش تا چهل ونه

خویشاوندی آنها را نشان می‌دهد (جدول۵). ارقام بومی حسن سرایی پیچیده غلاف، حسن سرایی آتشگاه، حسن سرایی، عنبر بو، سنگ جو، غریب سیاه ریحانی، زیره، دمسیاه و حسنی، همچنین ارقام اصلاح شده گیل۳ ، آمل۲، آمل۳، آمل۱، دشت و DCL در هر دو کلاستر در یک گروه قرار گرفتند. در کلاستر بندی بر اساس باندهای پروتینی ارقام IR36,IR50 و علاوه بر آنها ارقام بجار، تایچونگ، IR28,IR60, IR64,Zenit در یک کلاستر قرار گرفتند که در گروه بندی بر اساس صفات کمّی نیز در یک گروه بودند. گروه بندی بر اساس باندهای پروتئینی توانست مانند کلاستر بر مبنای صفات زراعی تا حدود زیادی ارقام بومی را از سایر ارقام جدا نماید. می‌توان گفت که برای جداسازی و گروه بندی ژنوتیپ‌ها و بررسی تنوع ژنتیکی در آنها می‌توان از روش SDS-PAGE نیز استفاده نمود. معالی امیری و همکاران (۱۳۸۰) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپهای مختلف گلرنگ، به مقایسه دو روش گروه بندی بر اساس صفات کیفی و صفات کمّی پرداخته و تطابق نسبتا خوبی بین دو نوع کلاستر گزارش نمودند. ربیعی (۱۳۷۵) نیز با استفاده از روش PAGE-SDS اقدام به گروه‌بندی ژنوتیپهای برنج نموده و در مقایسه با گروه‌بندی بر اساس صفات مرفولوژیکی، بر مکمل بودن این دو روش تأکید کرد. در تحقیقاتی که توسط ساتو و همکاران (۱۹۹۰)، زوهانگ و بای (۲۰۰۱)، مونتالوان و آندو (۱۹۹۸)، سانتی و نیرال (۱۹۹۸) صورت گرفته، بکار بردن روش SDS-PAGE را برای تشخیص ژنوتیپهای برنج مفید دانسته و استفاده از آن را به عنوان یک روش شناسائی تنوع بین ژنوتیپها برای اهداف اصلاحی پیشنهاد نمودند. در واقع داده‌های حاصل از الکتروفورز به میزان زیادی توانائی تکمیل داده‌های محاسبه شده از صفات کمّی مزرعه‌ای را داشته و روشهای آزمایشگاهی و مزرعه‌ای می‌توانند مکمل هم باشند. توجه به این نکته ضروری است که داده‌های مرفولوژیکی بر اساس صفات اندازه گیری شده در مزرعه بوده که از یک طرف معیارهای صحیح و بدون ابهام را

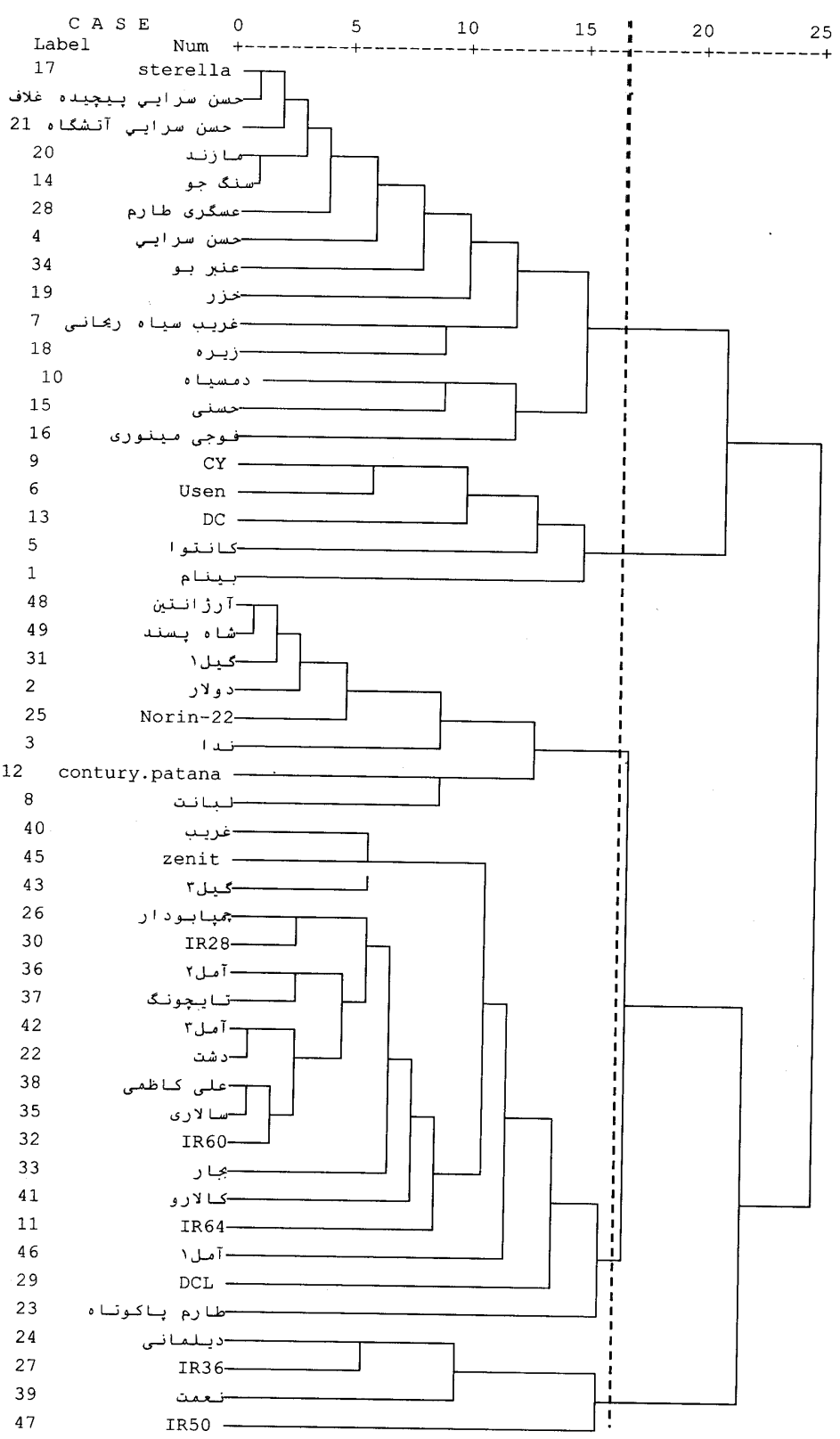
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۵- دندروگرام مربوط به کلاستربندي صفات کمّي با استفاده ازروش **وارد**

www.SID.ir



شکل۶-دندروگرام حاصل از الگوی نواربندی پروتئین ها(کد صفر و یک)

www.SID.ir

کمتر ارائه می‌دهند و از طرف دیگر چون مربوط به شرایط رشد گیاه می‌باشند بررسی آنها هم از نظر هزینه بصرفه نبوده و هم اینکه نسبت به شرایط محیطی آسیب‌پذیر می‌باشند. بدین منظور در بدست آوردن داده‌های مرفولوژیکی برای آنکه نتایج معتبری ارائه گردد ارقام مورد نظر و صفات مربوط به آنها باید در چند سال و چند مکان اندازه‌گیری شوند. از طرفی پروتئین‌ها نیز ممکن است تحت تاثیر شرایط محیط، بافت و دوره رشد گیاه باشند. می‌توان نتیجه گرفت که گروه بندی بر اساس داده‌های الکتروفورز پروتئین دارای محدودیت بوده و نمی‌تواند معیار کاملی برای تمییز دادن ارقام نزدیک به هم، بویژه ارقام خویشاوند باشد. در این مورد به منظور تشخیص اختلافات جزئی بین ارقام خویشاوند، استفاده از نشانگرهای قویتر مانند نشانگرهای مبتنی بر DNA شاید بهتر بتواند ارقام بومی، اصلاح شده و خارجی را از هم تفکیک نماید. لذا با توجه به هدف اصلاحی و اطلاعات حاصل از این تحقیق می توان والدین برتر را از کلاسترهای متفاوت انتخاب و از طریق دورگ گیری بین آنها نتاج برتر را تولید نمود.

وراثت پذیری عمومی صفات

واریانس ژنتیکی، واریانس فنوتیپی و وراثت پذیری عمومی صفات بر مبنای میانگین ژنوتیپهای مورد مطالعه در جدول ۶ آمده است. کلیه صفات مورد مطالعه دارای وراثت پذیری بالایی بودند. علّت برآورد نسبتا زیاد وراثت پذیری این است که آزمایش در یک سال و یک محل انجام گردید. در چنین حالتی اثرات متقابل ژنوتیپ ×سال و ژنوتیپ×مکان از واریانس ژنتیکی قابل تفکیک نبوده و مقدار آن بیش از واقعیت برآورد می‌گردد. از طرفی وجود تفاوتهای ژنتیکی در میان ارقام مورد مطالعه را می‌توان بعنوان دلیل دیگری برای بالا بودن وراثت پذیری عنوان کرد. برای تخمین مقرون به واقعیت وراثت پذیری، آزمایش باید در چندین مکان و طی چند سال انجام شود.

در این تحقیق نیز صفات زمان ظهور ۵۰٪ خوشه‌ها و زمان رسیدن دارای بیشترین وراثت پذیری بودند و در مقایسه با صفات دیگر، عملکرد دارای وراثت پذیری نسبتاً پایینی بود. این امر زیاد هم دور از انتظار نیست زیراکه عوامل متعددی از جمله محیط اثر زیادی برآن دارد. در عین حال کمترین وراثت پذیری به صفات تعداد پنجه کل و عرض برگ پرچم تعلق گرفت (جدول ۶).

جدول ۵- گروه بندی ارقامی که در مقایسه دو کلاستر حاصل از داده‌های مرفولوژیکی و کلاستر بر اساس الگوی نوارهای پروتئینی در یک گروه قرار گرفتند

ردیف	ارقام
۱	حسن سرایی پیچیده غلاف، حسن سرایی آتشگاه، حسن سرایی، عنبربو، سنگ جو، غریب سیاه ریحانی، زیره، دمسیاه، حسنی، فوجی مینوری
۲	غریب، چمپابودار، علی کاظمی، سالاری،کالارو، طارم پاکوتاه
۳	گیل۱، شاه پسند، دولار,Norin-22, contury patana
۴	بجار،تایچونگ، IR60,zenit, IR64,IR28
۵	دشت، گیل ۳ ،آمل۲، آمل۳ ، آمل۱ ،DCL
۶	کانتوا، CY , Usen
۷	لبانت، ندا
۸	IR36، IR50
۹	خزر , sterella
۱۰	بینام، DC

جدول۶- واریانس ژنتیکی ، واریانس فنوتیپی و درصد وراثت‌پذیری عمومی صفات مورد مطالعه

صفات کمّی مورد مطالعه	واریانس فنوتیپی	واریانس ژنتیکی	وراثت پذیری عمومی
روز تا ۵۰٪ ظهور خوشه	۶۷/۱۶۵	۶۶/۵۱۱	٪۹۹
روز تا رسیدن	۵۴/۷۱	۵۴/۱۶۷	٪۹۹
تعداد دانه در خوشه	۱۱۵۹/۰۹	۱۹۱۰/۵۹	٪۹۷
طول دانه(شلتوک)	۱/۳۷۸	۱/۳۵۳	٪۹۸
قطر دانه(شلتوک)	۰/۱۹۳	۰/۱۹۰	٪۹۸
طول بالاترین میانگره	۲۵/۵۷۵	۲۴/۰۸۹	٪۹۴
طول خوشه	۹/۹۷۸	۹/۱۸۷	٪۹۲
ارتفاع گیاه	۳۹۰/۵۴۱	۳۷۳/۵۶۲	٪۹۵
وزن ۱۰۰ دانه	۰/۱۳۸	۰/۱۳۴	٪۹۶
نسبت طول به قطر دانه قهوه‌أی	۰/۵۱۴	۰/۴۷۸	٪۹۲
تعداد ساقه بارور	۱۳/۱۷۶	۱۲/۳۴۶	٪۹۳
تعداد پنجه کل	۱۳/۱۳۳	۱۱/۶۵۲	٪۸۸
عرض برگ پرچم	۰/۰۲۸	۰/۰۲۵	٪۸۸
طول برگ پرچم	۲۷/۸۱	۲۶/۰۸۹	٪۹۳
عملکرد دانه	۰/۰۵۶	۰/۰۵۰	٪۸۹
نسبت طول به عرض برگ پرچم	۲۱/۹۲۳	۲۰/۰۷۱	٪۹۱

Archive of SID
www.SID.ir

منابع مورد استفاده **REFERENCES**

۱. ربیعی، ب. ۱۳۷۵. مطالعه تنوع پروتئینی ۱۶رقم برنج ایرانی از طریق الکتروفورزSDS-PAGE و ارتباط آن با صفات کمّی در آزمایشهای مزرعه ای. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

۲. عبد میشانی، س. و ع. ا. شاه نجات بوشهری.۶ ۱۳۷. اصلاح نباتات تکمیلی. جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران

۳. عبد میشانی، س. و ع. ا. شاه نجات بوشهری. ۱۳۷۷. اصلاح نباتات تکمیلی. جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران

۴. فرشادفر، ع. ۱۳۷۰. مبانی ژنتیک گیاهی و اصلاح نباتات. مرکز انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی.

۵. قره یاضی، ب. ۱۳۷۵. کاربرد نشانگرهای DNA در اصلاح نباتات. مجموعه مقالات کلیدی چهارمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران

۶. معالی امیری، الف. و ب. یزدی صمدی. م. ر. قنادها، و س. عبدمیشانی. ۱۳۸۰. بررسی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف گلرنگ با استفاده از روش RAPD-PCR. مجله علوم کشاورزی ایران، شماره (۴) :۷۳۷-۷۴۵

۷. یزدی‌صمدی، ب.، ع. رضایی و م. ولی زاده. ۱۳۷۶. طرحهای آماری در پژوهشهای کشاورزی. جلد اول. انتشارات دانشگاه تهران.

8. Anonymous. 1996. Standard evaluation system for rice. IRRI.4 th Edition. Manila Philippines.

9. Hanamaratti, N. G. & S. J. Patile. 1998. Genetic divergence in upland rice (*Oryza sativa L)* genotypes under low land and up land conditions. Karnataka Journal of Agricultural Sciences. 11:1, 220-222

10. Kandhola, S. S. & D. V. S. Panwar. 1999. Genetic divergence in rice. Annalls of biology Ludhiana. 15:1, 35-39

11. Liping, D. & W. Jianfei. 1999. Analysis of main agronomic characters for japonica rice from taiho lake region. Journal of Nanjing Agricultural University. 22:3, 1-4

12. Mokata, A. S. & S. S. Mehetre. 1998. Genetic divergence in rice. Advancas in Plant Sciences. 11:2. 189-192

13. Montalvan, R. & A. Ando. 1998. Use of seed protein polymorphism for discrimination of improvement level and geographic origin of upland rice cultivars. Genetics and molecular biology. Londrina, pr, Brazil. 21:4, 531-535

14. Romesburg, H. C.1990. Cluster Analysis for Researchers,Second Edition,Robert E. Krieger Publishing Company,INC.321 p.

15. Santhy, V. & V. Niral. 1998. Biochemical markers for characterizing rice genotypes. International Rice Research Notes. New Dehli, India, 23:2-10

16. Sarawgi, A. K. & N. K. Rostogi. 1998. Genetic diversity for grain quality parameters in traditional rice(*Oryza sativa L.)*. Accessions from Madhya Pradash India. Tropical Agricultural Research and Extension. 1: 2, 103-106

17. Satoh, H., H. M. Anga, & D. Ilaila. 1990. SDS-PAGE analysis of storage proteins of curtivated rice collected in Tanzania. Occasional papers 18: 114-126

18. Valizadeh, M, K. K. Kang, & T. Kameya.1994, Genetic resemblance among nine medicago species. Journal of Agriculture Science and Technology (JAST), in press.

19. Zhang, S. M. & C. Bai. 2001. Two SDS-PAGE protein bands specific to subspecies indica and japonica of rice. Biotechnology Research Center. Zhongshan University

Archive of SID

www.SID.ir