

ارزیابی برنج‌های هوازی و ایرانی از لحاظ نشانگرهای پیوسته به صفات مرتبط با تحمل به خشکی و شوری و ارتباط آن‌ها با صفات جوانه‌زنی تحت تنش اسمزی

طیبه رئیسی^۱ و عاطفه صبوری^{۲*}

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۱۲)

چکیده

برنج‌های هوازی به‌عنوان یک قابلیت کارآمد در کاهش دشواری‌های ناشی از بحران آب به شمار می‌آیند. بررسی و ارزیابی تفاوت‌های ژنتیکی این برنج‌ها با رقم‌های برنج بومی ایرانی می‌تواند در شناسایی نواحی ژنگانی (ژنومی) تأثیرگذار در تحمل به تنش خشکی سودمند باشد. در این پژوهش ضمن بررسی صفات جوانه‌زنی ژنوتیپ‌ها تحت تنش اسمزی، تنوع هم‌دیف ژنی (الی) ۲۶ نشانگر SSR پیوسته به QTL‌های مرتبط با تحمل به خشکی یا شوری در ۵۳ ژنوتیپ برنج شامل ۳۱ ژنوتیپ برنج هوازی و ۲۲ رقم برنج غرقابی (ایرانی) بررسی شد. در مجموع ۱۱۸ هم‌دیف ژنی چند شکل با میانگین ۴/۵۴ به ازای هر جایگاه ریزماهواره تولید شد. بالاترین میزان PIC محاسبه‌شده با میزان ۰/۷۷ و ۰/۷۶ و بیشترین تنوع ژنی با میزان ۰/۸۰ و ۰/۷۹ به ترتیب مربوط به نشانگرهای RM10793 و RM493 بودند. بررسی کلی آماره‌های تنوع ژنتیکی نشان داد که دو نشانگر RM10793 و RM493 نسبت به دیگر نشانگرها مقادیر بالاتری داشتند و در جداسازی ژنوتیپ‌ها نقش بارزتری ایفا کردند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها نیز بر پایه ضریب جاکارد و با استفاده از الگوریتم اتصال همسایگی، آن‌ها را به دو گروه متناسب کرد. این گروه‌بندی با نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای بر پایه صفات جوانه‌زنی با استفاده از الگوریتم وارد، همخوانی شایان‌توجهی داشت که این امر می‌تواند بیانگر مؤثر بودن و تأیید نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در جداسازی ژنوتیپ‌ها از لحاظ تحمل به تنش اسمزی باشد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای ریزماهواره.

Investigation and comparison of aerobic and Iranian rice based on markers linked to traits related to drought and salinity tolerance and their relationship with germination traits under osmotic stress

Tayebeh Raiesi¹ and Atefeh Sabouri^{2*}

1, 2. Former M.Sc. Student and Assistant Professor of Plant Breeding, Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: Jun. 29, 2015 - Accepted: Dec. 13, 2016)

ABSTRACT

Aerobic rice is as useful potential in reducing of water problem. Comparison and investigation of genetic differences between Iranian rice varieties and aerobic rice can be useful in identification of genomic regions influencing in drought tolerance. In the present study in addition to an examination of germination genotypes under osmotic stress, allelic diversity were evaluated in 53 genotypes including 31 aerobic rice and 22 lowland Iranian rice varieties based on 26 SSR markers linked to QTL associated with drought and salinity tolerance. A total of 118 polymorphic alleles of microsatellite loci were produced with an average of 4.54 per marker. The highest calculated PIC level of 0.77 and 0.76 and the maximum range genetic diversity of 0.80 and 0.79 were related to RM10793 and RM493 respectively. Overview of genetic diversity statistics showed that two markers RM10793 and RM493 had higher values the other markers and more obvious role played in genotype differentiation. Grouping of genotypes according to Jaccard similarity coefficient using algorithms neighbor joining assigned them into two groups. This classification had significant compliance with the results of cluster analysis using the WARD algorithm based on germination traits. This may indicate the effectiveness and confirmation of used microsatellite markers in the separation of genotypes for osmotic tolerance.

Keywords: cluster analysis, microsatellite markers, genetic diversity.

مقدمه

برنج گیاهی تک‌لپه، یک‌ساله و رشد محدود با نام علمی (*Oryza sativa* L.)، از خانواده Gramineae است. این محصول پس از گندم رتبه دوم را در بین غلات داشته و از جمله مهم‌ترین ماده غذایی جهان به شمار می‌آید (Emam, 2007). برنج گیاهی است که بیشترین نیاز آبی را در بین غلات دارد (Karimi, 1996). در سطح جهانی بخش عمده برنج تولیدی از شالیزارهای غرقاب به دست می‌آید. این شالیزارها نیاز به آب تازه و کافی دارند (Emam, 2007). به‌طور کلی آب یکی از منابع مهم محدودکننده در تولید محصول برنج است (Vial, 2007). بدین منظور مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج IRRI فناوری استفاده از برنج‌های هوازی را برای کاهش دشواری‌های ناشی از بحران آب در تولید برنج معرفی کرد. برنج‌های هوازی به زمین غیر گل‌آلود و غیر غرقاب متحمل هستند و رشد آن‌ها همانند گیاهان زمین‌های مرتفع (غیراشباع) است. در کشور چین مصرف آب برای برنج‌های هوازی ۶۵ تا ۵۵ درصد کمتر از برنج غرقاب گزارش شده است. البته برنج‌های هوازی کارایی مصرف آب بالاتری دارند اما از نظر عملکرد با برنج‌های غرقاب یکسان نیستند. با توجه به قابلیت بالای برنج‌های هوازی، معرفی ژنوتیپ‌هایی از برنج‌های هوازی برای شرایط آبی که قادر باشند در خاک‌های هوازی رشد کنند لازم به نظر می‌رسد (Bouman et al., 2002). Ehdaie & Waines (1993) بیان کردند ژنوتیپ‌هایی که آب قابل دسترس را با کارایی بیشتری مصرف کرده و قادر به تحمل تنش خشکی باشند، یک هدف عمده برای افزایش عملکرد محصولات زراعی در محیط‌های مستعد تنش خشکی است. لذا شناسایی صفات مرتبط با تحمل به خشکی می‌تواند در گزینش ژنوتیپ‌های سازگار به کار گرفته شود.

تشخیص نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی که جزء نتایج برنامه‌های مکان‌یابی QTL است، از نیازهای اصلاح رقم‌های برنج با عملکرد بالا در نواحی خشک است. از میان نشانگرهای DNA نشانگرهای ریزماهواره به‌طور مؤثری برای مکان‌یابی و تعیین تنوع ژنتیکی بین

رقم‌های برنج استفاده شده‌اند (Kanagaraj et al., 2010; Yang et al., 2010). بررسی‌های بسیاری در زمینه تحمل به تنش خشکی و شوری در برنج صورت پذیرفته است.

Bernier et al. (2007) در بررسی روی جمعیت برنج به‌دست‌آمده از تلاقی IR74371-46-1-1/2 و Sabitri، یک QTL بزرگ‌اثر برای عملکرد دانه برنج تحت تنش خشکی شناسایی کردند. این QTL با نام qDTY_{12.1} در حد فاصل نشانگرهای RM28166- RM28199 روی کروموزوم ۱۲ مکان‌یابی شد. آنان این QTL را به‌عنوان نخستین QTL بزرگ‌اثر برای عملکرد دانه تحت تنش خشکی معرفی کردند. در سه پژوهش روی سه جمعیت مختلف برنج که به ترتیب ناشی از تلاقی N22 و Swarna، N22 و IR64، MTU1010 و N22 بودند، یک QTL بزرگ‌اثر (qDTY_{1.1}) برای عملکرد دانه تحت تنش خشکی به‌طور مشترک برای هر سه جمعیت شناسایی شد که این QTL، در حد فاصل نشانگرهای RM11943- RM12091 روی کروموزوم ۱ قرار داشت (Vikram et al., 2011). در بررسی دیگری که با استفاده از ۲۶۹ نشانگر SSR به‌منظور پوشش مناسب کل کروموزوم‌های برنج انجام شد، از جمعیت مشتق از تلاقی IR64 و Azucena استفاده شد. همچنین برای اعتبارسنجی QTL‌ها از جمعیت‌های دیگر از جمله جمعیت به‌دست‌آمده از تلاقی BPT5204/A67 و BPT5204/Dodiga استفاده شد. در این بررسی شمار ۲۲ QTL مرتبط با تحمل به تنش خشکی روی کروموزوم ۱ تا ۶ شناسایی شد. یکی از این QTL‌های بزرگ‌اثر مربوط به کنترل صفات مرتبط با جوانه‌زنی روی کروموزوم ۱ در حد فاصل نشانگرهای RM5- RM306 و نزدیک به ژن آلفا آمیلاز در شرایط تنش خشکی بود. همچنین در این پژوهش QTL دیگری مربوط به کنترل صفت سرعت جوانه‌زنی تحت تنش خشکی در حد فاصل نشانگرهای RM231-RM7 روی کروموزوم ۳ شناسایی شدند (Diwan et al., 2013). در بررسی دیگری، با استفاده از سه زمینه ژنتیکی شامل جمعیت‌های به‌دست‌آمده از تلاقی

وجود QTL و پیوستگی نشانگرهای شناسایی شده در جمعیت‌های مورد استفاده تأیید شده باشد (Collard & Mackill, 2008).

در این زمینه، این پژوهش با هدف (۱) بررسی و ارزیابی تنوع هم‌ردیف ژنی بین ژنوتیپ‌های هوازی و رقم‌های ایرانی از لحاظ نشانگرهای ریزماهوره پیوسته به صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی و شوری (۲) گروه‌بندی همه ژنوتیپ‌ها از لحاظ اطلاعات مولکولی به دست آمده از این نشانگرها (۳) بررسی میزان همخوانی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از لحاظ داده‌های مولکولی و گروه‌بندی آن‌ها از لحاظ صفات جوانه‌زنی تحت تنش اسمزی طرح‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در بهار و تابستان سال ۱۳۹۳ در دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان به انجام رسید. مواد گیاهی این پژوهش شامل شمار ۳۱ ژنوتیپ برنج هوازی و شمار ۲۲ ژنوتیپ برنج غرقابی (ایرانی) بود که به ترتیب از مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج IRRI و مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت تهیه شد که مشخصات مواد گیاهی دریافتی در جدول ۱ ارائه شده است.

Vandana/2×IR72 و Apo/2×IR72، Apo/2×Swarna یک بزرگ اثر مرتبط با عملکرد دانه در شرایط هوازی شناسایی کردند. این QTL بزرگ اثر qDTY6.1 در حدفاصل نشانگرهای RM510-RM19367 روی کروموزوم ۶ شناسایی شد. آنان تأثیر این QTL را به‌طور کلی در بیست محیط آب‌شناختی (هیدرولوژیکی) و پنج جمعیت با سه زمینه ژنتیکی متفاوت در فاصله پنج فصل بررسی کردند. این QTL در جمعیت‌های مختلف تأثیر شایان توجهی در شرایط مختلف هوازی همراه با تنش خشکی، هوازی بدون تنش خشکی و غرقاب داشت. بر پایه نتایج این پژوهش رقم Vandana دارای هم‌ردیف ژنی (الل) مطلوب در شرایط هوازی شناسایی شد. آن‌ها در مجموع QTL بزرگ اثر qDTY6.1 را یک QTL بسیار مؤثر و تأیید شده برای عملکرد دانه در شرایط هوازی اعلام کردند که می‌تواند به‌عنوان یک قابلیت کارا در برنامه‌های به‌نژادی مولکولی برنج در محیط‌های هوازی استفاده شود (Venuprasad et al., 2011).

اما نکته‌ای که باید در نظر داشت این است، هنگامی می‌توان به‌طور کاربردی در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر از نتایج برنامه‌های مکان‌یابی QTL و نشانگرهای پیوسته شناسایی شده استفاده کرد که

جدول ۱. مشخصات ژنوتیپ‌های برنج در این آزمایش

Table 1. Information of rice genotypes in present experiment

NO.	Code	Name	NO.	Code	Name	NO.	Name
1	AE1	Palawan	19	AE19	IR 83749-B-B-46-1	37	Anbarbou
2	AE2	IR66417-18-1-1-1	20	AE20	IR 82589-B-B-114-3	38	Salari
3	AE3	IR71525-19-1-1	21	AE21	IR 82589-B-B-84-3	39	Neda
4	AE4	IR60080-46A	22	AE22	IR 82590-B-B-90-4	40	Ahlamitarom
5	AE5	IR65907-116-1-B	23	AE23	IR 82590-B-B-94-4	41	Alikazemi
6	AE6	IRAT170	24	AE24	IR 82590-B-B-98-2	42	Khazar
7	AE7	Caiapo	25	AE25	IR 82635-B-B-143-1	43	Hashemi
8	AE8	Pegaso	26	AE26	IR 82635-B-B-32-4	44	Champaboudar
9	AE9	IRAT216	27	AE27	IR 83749-B-B-87-3	45	Gharib
10	AE10	IR 81024-B-254-1-B	28	AE28	IR 83752-B-B-12-3	46	Domsiah
11	AE11	IR 81422-B-B-200-4	29	AE29	Panda	47	Sepidroud
12	AE12	IR 82310-B-B-67-2	30	AE30	Vandana	48	Kadous
13	AE13	IR 82590-B-B-32-2	31	AE31	Nona Bokra	49	Dorfak
14	AE14	IR 82616-B-B-64-3	32	-	Ghasroldashti	50	Gohar
15	AE15	IR 82635-B-B-82-2	33	-	Sangetarom	51	Hasansaraei
16	AE16	IR 82639-B-B-103-4	34	-	Sangejo	52	Nemat
17	AE17	IR 82639-B-B-118-3	35	-	Rashtisard	53	Sadri
18	AE18	IR 82639-B-B-140-1	36	-	Shahpasand		

از شماره ۱ تا ۳۱ ژنوتیپ‌های هوازی و از ۳۲ تا ۵۳ رقم‌های غرقابی (ایرانی) هستند.

Number 1 to 31 are aerobic genotypes and 32 to 53 are lowland varieties.

ضریب توان دوم اقلیدسی و الگوریتم‌های مختلف مانند Ward, UPGMA و غیره انجام شد و سرانجام بهترین نمودار درختواره‌ای (دندروگرام) بر پایه معیارهایی مثل اطلاعات اولیه ژنوتیپ‌ها و بالا بودن ضریب کوفتیک برای تفسیر نتایج انتخاب شد.

انتخاب نشانگرهای ریزماهواره و بررسی مولکولی مواد گیاهی

برای انتخاب نشانگرهای پیوسته با مرتبط با QTL‌های بزرگ اثر کنترل‌کننده صفات مرتبط با تنش خشکی و شوری در برنج که در جمعیت‌ها و زمینه‌های ژنتیکی پرشمار به تأیید رسیده بودند، از مقاله‌ها و سایت معتبر غلات (گرامینه) (www.gramene.org) استفاده شد. اطلاعات مرتبط با این نشانگرها در جدول ۲ ارائه شده است.

در آغاز به منظور استخراج DNA از برگ‌های تازه و جوان ژنوتیپ‌ها در مرحله چهار الی پنج برگ نمونه‌های برگ‌ی تهیه شد. پس از استخراج DNA به روش CTAB، (Saghai Maroof, 1994)، کیفیت و کمیت تقریبی آن با ژل آگاروز ۱/۵ درصد تعیین شد. برای انجام واکنش زنجیره پلیمرازی، مخلوط واکنش پس از رقیق‌سازی DNA در حجم ۱۰ میکرولیتر، با اجزای ۲ میکرولیتر DNA با غلظت ۲۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۱ میکرولیتر از بافر (۱۰X) PCR، ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت ۶۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط dNTP (۲ میلی‌مولار)، ۰/۴۸ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)، ۰/۱۲ میکرولیتر آنزیم DNA Taq polymerase (۵ واحد در میکرولیتر) و ۵ میکرولیتر آب دیونیزه شده تهیه شد و واکنش به صورت Touchdown انجام شد. چرخه گرمایی شامل یک چرخه واسرشت اولیه برای DNA الگو در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت چهار دقیقه و به دنبال آن ده چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، ۴۵ ثانیه در دمای ۶۵ درجه سلسیوس (با کاهش هر ۱ درجه سلسیوس در هر چرخه تا رسیدن به دمای اتصال) و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و به دنبال آن ۲۶ چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، ۴۵ ثانیه در دمای ۵۵ درجه سلسیوس و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه

بررسی صفات جوانه‌زنی ژنوتیپ‌ها تحت تنش اسمزی با توجه به اینکه قابلیت تحمل ژنوتیپ‌های برنج هوازی نسبت به تنش خشکی به‌طور شایان توجهی بالاست برای ایجاد تمایز کافی بین ژنوتیپ‌های متحمل و حساس از سطح بالای تنش اسمزی ۱۶- بار ناشی از مانیتول استفاده شد. پتری‌دیش‌ها درون اتاقک رشد (انکوباتور) با دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس با رطوبت نسبی ۴۲ درصد منتقل شدند. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد.

برای انجام آزمون استاندارد جوانه‌زنی شمارش بذرهای جوانه‌زده پس از آغاز آزمایش تا زمان تثبیت شمار بذرهای جوانه‌زده، انجام شد. معیار بذرهای جوانه‌زده خروج ریشه‌چه به طول ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود (Willenborg *et al.*, 2005). پس از پایان جوانه‌زنی در هر مرحله طول ریشه‌چه و ساقه‌چه همه ۲۵ بذر در هر واحد آزمایشی با خط‌کش مدرج میلی‌متری اندازه‌گیری شد و وزن تر مجموع ریشه‌چه‌ها و ساقه‌چه‌های موجود در هر پتری‌دیش و وزن خشک آن‌ها نیز پس از قرار دادن در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت با ترازوی دیجیتالی حساس با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد، سپس با استفاده از رابطه‌های معین، درصد جوانه‌زنی (Camberato & Mccarty, 1999)، انرژی جوانه‌زنی (Roumani & Ehteshami, 2013)، ضریب سرعت جوانه‌زنی^۱ (Hunter *et al.*, 1984)، شاخص بنیه بذر (Abdul-Baki & Anderson, 1973)، درصد آب بافت گیاهچه (Roumani & Ehteshami, 2013)، ضریب رشد ناموزون یا Alometric (Khavazeh, 1998) و همچنین بیشترین درصد میزان جوانه‌زنی (Gmax)، سرعت جوانه‌زنی (R50)، یکنواختی جوانه‌زنی (GU)، زمان لازم از کاشت تا رسیدن به ۵، ۱۰، ۵۰، ۹۰ و ۹۵ درصد بیشینه جوانه‌زنی (D05, D10, D50, D90, D95)، با روش برنامه Garmin (Soltani & Maddah, 2010) محاسبه شد.

از میانگین تکرارها برای متغیرهای مختلف برای انجام تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. این تجزیه بر پایه

1. Coefficient of velocity of germination (CVG)

استفاده از الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید ۸ درصد جداسازی و به روش نیرتات نقره رنگ‌آمیزی شدند و در نهایت امتیازدهی نوارها انجام گرفت.

سلسیوس و پس از پایان ۲۶ چرخه بالا، نمونه‌ها به منظور انجام بسط نهایی پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس قرار گرفتند. سپس فرآورده‌های PCR با

جدول ۲. اطلاعات نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده

Table. Information of used microsatellite markers.

Number	Name	Reference	Number	Name	Reference
1	RM5	Diwan <i>et al.</i> , 2013	14	RM480	Gramene site
2	RM7	Diwan <i>et al.</i> , 2013	15	RM493	Thomson <i>et al.</i> , 2010
3	RM104	Vikram <i>et al.</i> , 2011	16	RM510	Venuprasad <i>et al.</i> , 2011
4	RM140	Thomson <i>et al.</i> , 2010	17	RM511	Bernier <i>et al.</i> , 2007
5	RM190	Gramene site	18	RM523	Bernier <i>et al.</i> , 2007
6	RM212	Wang <i>et al.</i> , 2005	19	RM3805	Venuprasad <i>et al.</i> , 2011
7	RM231	Diwan <i>et al.</i> , 2013	20	RM5672	Gramene site
8	RM270	Gramene site	21	RM10793	Thomson <i>et al.</i> , 2010
9	RM276	Gramene site	22	RM11943	Vikram <i>et al.</i> , 2011
10	RM302	Venuprasad <i>et al.</i> , 2011	23	RM12091	Vikram <i>et al.</i> , 2011
11	RM306	Diwan <i>et al.</i> , 2013	24	RM19367	Venuprasad <i>et al.</i> , 2011
12	RM319	Wang <i>et al.</i> , 2005	25	RM28099	Bernier <i>et al.</i> , 2007
13	RM431	Vikram <i>et al.</i> , 2011	26	RM28166	Bernier <i>et al.</i> , 2007

UPGMA و غیره با استفاده از نرم‌افزار Power Marker و رسم نمودار درختواره‌ای با استفاده از نرم‌افزار MEGA 5 انجام شد و سرانجام بهترین نمودار درختواره‌ای برای تفسیر نتایج انتخاب شد.

در نهایت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر پایه همه متغیرهای جوانه‌زنی به روش Ward و داده‌های مولکولی به دست آمده از نشانگرهای ریزماهواره مقایسه شدند و میزان همخوانی دو نوع گروه‌بندی تفسیر شد.

نتایج و بحث

بررسی آماره‌های تنوع ژنتیکی

برای ارزیابی میزان سودمندی نشانگرهای SSR مورد استفاده برای جداسازی همه ژنوتیپ‌ها از معیارهای تنوع ژنتیکی مختلف استفاده شد که در جدول ۳ آورده شده است. این نشانگرها در مجموع ۱۱۸ همردیف ژنی چند شکل با میانگین ۴/۵۴ به ازای هر جایگاه ریزماهواره از ۵۳ ژنوتیپ مورد بررسی برنج تولید کردند. دامنه همردیف‌های ژنی مشاهده شده بین ۲ تا ۷ همردیف ژنی متغیر بود. همچنین شمار کل همردیف ژنی مؤثر ۸۵/۱۶ بود که این میزان در جمعیت از ۱/۹۹ مربوط به نشانگر RM319 تا ۵/۰۱ مربوط به نشانگر RM10793 متغیر بود. در کنار این آماره‌ها، یکی از معیارهای مهم برای مقایسه نشانگرها از لحاظ توان تمایز آن‌ها، میزان داده‌های چند شکلی (PIC) است. مقادیر بالای این معیار

تجزیه‌های آماری

پس از امتیازدهی نوارها، محتوای اطلاعات چند شکل (PIC) با استفاده از نرم‌افزار Power Marker از رابطه ۱ محاسبه شد (Mohammadi, 2006).

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

این شاخص میزان چندشکلی یک نشانگر را نشان می‌دهد که دامنه تغییرپذیری آن از صفر تا یک است. هرچه این عدد بزرگ‌تر باشد نشان‌دهنده میزان بالای چندشکلی برای نشانگر است که در آن P_i و P_j فراوانی همردیف ژنی i ام و j ام در یک مکان مشخص در جمعیت را نشان می‌دهد.

دیگر آماره‌های تنوع ژنتیکی شامل شمار همردیف‌های ژنی مؤثر، شاخص نی و شاخص شانون (Shannon & Weaver, 1963) با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh *et al.*, 1997) محاسبه شدند. همچنین با در نظر گرفتن دو گروه برنج‌های هوازی و غرقابی ایرانی به عنوان دو جمعیت، تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از برنامه GenAlEx 6.41 انجام شد.

برای انجام تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی، پس از تشکیل ماتریس صفر و یک و انتقال آن به نرم‌افزار Power Marker و تشکیل ماتریس ضریب‌های جاکارد با استفاده از الگوریتم‌های مختلف مثل اتصال همسایگی یا NJ (Neighbor Joining)، Complete و

تنوع نی را در بین همه نشانگرها به خود اختصاص داد. Bounphanousay *et al.* (2008) در بررسی روی رقم‌های برنج با استفاده از ۲۴ نشانگر SSR میانگین تنوع ژنی را ۰/۵ برآورد کردند که از میانگین تنوع ژنی برآورد شده در این پژوهش (۰/۶۷) پایین‌تر است. از لحاظ معیار دیگر ارزیابی کارایی نشانگر در تعیین چندشکلی، یعنی شاخص شانون، بیشترین و کمترین مقدار آن را نشانگرهای RM10793 و RM319 به ترتیب با شاخص شانون ۱/۷۴ و ۰/۶۹ به خود اختصاص دادند که با نتایج PIC همخوانی داشت.

Luan *et al.* (2008) با بررسی تنوع ژنتیکی روی پنجاه ژنوتیپ برنج با استفاده از ۳۶ نشانگر ریز ماهواره، میانگین PIC، شاخص شانون و شاخص نی را به ترتیب ۰/۳۴، ۰/۶۵ و ۰/۳۷ برآورد کردند که در هر سه مورد کمتر از مقدار برآورد شده در این بررسی (۰/۶۲، ۱/۲۷ و ۰/۶۷) بود. مقایسه نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد عامل‌های چندی همچون شمار ژنوتیپ‌ها، شمار نشانگرها، نوع نشانگرها و میزان پوشش ژنگانی (ژنومی) آن‌ها می‌تواند در مقادیر آماره‌های تنوع ژنتیکی تأثیرگذار باشد. آنچه مسلم است در هر پژوهشی، نشانگرهایی که نسبت به دیگر نشانگرها مقادیر بالاتری از این شاخص‌ها را به خود اختصاص می‌دهند می‌توانند در جداسازی ژنوتیپ‌ها، کاربردی‌تر باشند. در این پژوهش نیز بررسی کلی آماره‌های تنوع ژنتیکی نشان داد که از بین ۲۶ نشانگر SSR مورد بررسی، دو نشانگر RM10793 و RM493 نسبت به دیگر نشانگرها مقادیر بالاتری را به خود اختصاص دادند و در حقیقت نقش آن‌ها در جداسازی ژنوتیپ‌ها بیش از دیگر نشانگرها بود.

تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر پایه داده‌های به‌دست‌آمده از نشانگرهای ریزماهواره

تجزیه خوشه‌ای بر پایه الگوریتم اتصال همسایگی (NJ) و ضریب جاکارد به‌عنوان بهترین نمودار درختواره‌ای برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها انتخاب و تفسیر شد (شکل ۱ نمایش تابشی (Radiation) نمودار درختواره‌ای را نشان می‌دهد). نتایج این تجزیه گویای این واقعیت است که با استفاده از داده‌های به‌دست‌آمده از نشانگرهای SSR به‌کاررفته در این

دلالت بر چندشکلی زیاد و وجود همردیف‌های ژنی کمیاب در یک جایگاه نشانگری است و بیانگر توان جداسازی و تمایز بالای آن نشانگر است (Ribeiro-Carvalho *et al.*, 2004). محتوای داده‌های چند شکل در این تحقیق بین ۰/۳۷ تا ۰/۷۷ و میانگین آن ۰/۶۲ بود. بالاترین میزان PIC محاسبه شده در آغازگرهای RM10793 و RM493 به ترتیب با میزان ۰/۷۶ و ۰/۳۷ و پایین‌ترین آن در آغازگر RM319 با میزان PIC ۰/۳۷ تعیین شد. Lapitan *et al.* (2007) ارتباط بین شمار همردیف ژنی مشاهده شده و میزان شاخص PIC را مشاهده کردند و بیان داشتند نشانگرهایی که بیشترین شمار همردیف ژنی را نشان دهند PIC بالایی نیز دارند که با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق همخوانی داشت. با توجه به اینکه میزان داده‌های چندشکلی توان جداسازی یک نشانگر را به‌واسطه شمار همردیف‌های ژنی چند شکل و فراوانی نسبی این همردیف‌های ژنی جمعیت نشان می‌دهد (Ribeiro-Carvalho *et al.*, 2004)، لذا مقادیر بالای به‌دست‌آمده برای این نشانگرها می‌تواند نشان‌دهنده کارایی بالایی آن‌ها در تمایز ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق باشد.

در یک پژوهش به‌منظور بررسی تجزیه ارتباط ژنتیکی میان دوازده رگه (لاین) والدینی برنج با استفاده از ۳۰ نشانگر ریزماهواره و بیست صفت ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی)، مقادیر PIC مورد محاسبه برای نشانگرهای SSR مورد استفاده بین ۰/۵۴ تا ۰/۹۶ متغیر بود (Singh *et al.*, 2011). شناسایی نشانگرهای که مقادیر بالاتری از آماره‌های تنوع ژنتیکی به‌ویژه شاخص PIC را به خود اختصاص می‌دهند می‌تواند در به‌کارگیری هدفمند نشانگرها در تحقیقات کاربردی آینده مؤثر باشد.

تنوع ژنتیکی که اغلب ناخالصی (هتروزیگوتی) مورد انتظار نامیده می‌شود، احتمال متفاوت بودن دو همردیف ژنی انتخاب شده به‌طور تصادفی از دو فرد را نشان می‌دهد (Nei, 1973). شاخص نی نیز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌هاست. برآورد شاخص نی در کل جمعیت نشان داد که میزان تنوع بین ۰/۴۹ تا ۰/۸۰ متغیر است و نشانگرهای RM10793 و RM493 به ترتیب بیشترین میزان تنوع نی را داشتند. نشانگر RM319 کمترین میزان

پایه نمودار درختواره‌ای ۵۳ ژنوتیپ برنج به دو دسته تقسیم شد و ژنوتیپ‌های هوازی در گروه‌های کوچک نزدیک به هم در دسته‌ای جدا قرار گرفتند و تا حدودی به نحو مطلوبی از ژنوتیپ‌های ایرانی جداسازی شدند.

تحقیق، می‌توان بسیاری از ژنوتیپ‌های هوازی یا رقم‌های خارجی به‌دقت شایان توجهی از رقم‌های غرقابی (ایرانی) که از نظر بسیاری از ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی متفاوت از یکدیگرند، از هم متمایز کرد. بر

جدول ۳. آماره‌های تنوع ژنتیکی برای ۲۶ نشانگر ریز ماهواره

Table 3. Genetic diversity statistics for 26 microsatellites markers

Marker	Major Allele Frequency	Observed number of alleles	Effective number of alleles	Gene Diversity	PIC	Nei gene diversity	Shanon Index
RM5	0.3396	6.0000	3.8852	0.7426	0.6988	0.7426	1.4816
RM7	0.5200	3.0000	2.5720	0.6112	0.5409	0.6112	1.0184
RM104	0.4528	3.0000	2.8062	0.6436	0.5706	0.6436	1.0650
RM140	0.4906	3.0000	2.6376	0.6209	0.5469	0.6209	1.0228
RM190	0.3774	6.0000	3.8322	0.7391	0.6983	0.7391	1.5044
RM212	0.3396	6.0000	4.5233	0.7789	0.7470	0.7789	1.6262
RM231	0.4583	4.0000	3.1220	0.6797	0.6273	0.6797	1.2521
RM270	0.3019	4.0000	3.8114	0.7376	0.6889	0.7376	1.3605
RM276	0.4151	7.0000	4.0534	0.7533	0.7242	0.7533	1.6467
RM302	0.4906	6.0000	3.3721	0.7035	0.6742	0.7035	1.4921
RM306	0.4583	3.0000	2.6976	0.6293	0.5531	0.6293	1.0391
RM319	0.5094	2.0000	1.9993	0.4998	0.3749	0.4998	0.6930
RM431	0.3774	5.0000	3.3321	0.6999	0.6433	0.6999	1.3036
RM480	0.4423	5.0000	3.3548	0.7019	0.6570	0.7019	1.3770
RM493	0.3208	6.0000	4.7853	0.7910	0.7609	0.7910	1.6569
RM510	0.3922	5.0000	3.1604	0.6836	0.6267	0.6836	1.2915
RM511	0.5000	3.0000	2.1589	0.5368	0.4295	0.5368	0.8325
RM523	0.3725	5.0000	3.6378	0.7282	0.6837	0.7251	1.4164
RM3805	0.3019	6.0000	4.4944	0.7775	0.7450	0.7775	1.6341
RM5672	0.5294	3.0000	2.2061	0.5467	0.4486	0.5467	0.8687
RM10793	0.2979	7.0000	5.0091	0.8004	0.7726	0.8004	1.7486
RM11943	0.4717	4.0000	2.9230	0.6579	0.5992	0.6579	1.1964
RM12091	0.6346	6.0000	2.2609	0.5577	0.5249	0.5577	1.1551
RM19367	0.5000	3.0000	2.5562	0.6088	0.5323	0.6088	1.0066
RM28099	0.5217	3.0000	2.5311	0.6049	0.5324	0.6049	1.0057
RM28166	0.4151	4.0000	3.4382	0.7091	0.6596	0.7091	1.3098
Total	11.5707	118.0000	85.1606	17.5440	16.0608	17.5408	33.0048
Mean	0.4320	4.5385	3.2754	0.6748	0.6177	0.6746	1.2697

ادامه جدول ۳. آماره‌های تنوع ژنتیکی برای ۲۶ نشانگر ریز ماهواره

Continued table 3. Genetic diversity statistics for 26 microsatellites markers

Marker	Major Allele Frequency	Observed number of alleles	Effective number of alleles	Gene Diversity	PIC	Nei gene diversity	Shanon Index
RM5	0.340	6	3.885	0.743	0.699	0.743	1.482
RM7	0.520	3	2.572	0.611	0.541	0.611	1.018
RM104	0.453	3	2.806	0.644	0.571	0.644	1.065
RM140	0.491	3	2.638	0.621	0.547	0.621	1.023
RM190	0.377	6	3.832	0.739	0.698	0.739	1.504
RM212	0.340	6	4.523	0.779	0.747	0.779	1.626
RM231	0.458	4	3.122	0.680	0.627	0.680	1.252
RM270	0.302	4	3.811	0.738	0.689	0.738	1.361
RM276	0.415	7	4.053	0.753	0.724	0.753	1.647
RM302	0.491	6	3.372	0.704	0.674	0.704	1.492
RM306	0.458	3	2.698	0.629	0.553	0.629	1.039
RM319	0.509	2	1.999	0.500	0.375	0.500	0.693
RM431	0.377	5	3.332	0.700	0.643	0.700	1.304
RM480	0.442	5	3.355	0.702	0.657	0.702	1.377
RM493	0.321	6	4.785	0.791	0.761	0.791	1.657
RM510	0.392	5	3.160	0.684	0.627	0.684	1.292
RM511	0.500	3	2.159	0.537	0.430	0.537	0.833
RM523	0.373	5	3.638	0.728	0.684	0.725	1.416
RM3805	0.302	6	4.494	0.778	0.745	0.778	1.634
RM5672	0.529	3	2.206	0.547	0.449	0.547	0.869
RM10793	0.298	7	5.009	0.800	0.773	0.800	1.749
RM11943	0.472	4	2.923	0.658	0.599	0.658	1.196
RM12091	0.635	6	2.261	0.558	0.525	0.558	1.155
RM19367	0.500	3	2.556	0.609	0.532	0.609	1.007
RM28099	0.522	3	2.531	0.605	0.532	0.605	1.006
RM28166	0.415	4	3.438	0.709	0.660	0.709	1.310
Total	11.5707	118	85.161	17.544	16.061	17.541	33.005
Mean	0.4320	4.538	3.275	0.675	0.618	0.675	1.270

تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر پایه متغیرهای جوانه‌زنی تحت تنش اسمزی

تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش اسمزی بالا ۱۶- بار بر پایه همه متغیرهای جوانه‌زنی مورد بررسی و تجزیه تابع تشخیص برای تعیین بهترین محل برش نمودار درختواره‌ای نشان داد که بیشترین تمایز بین گروه‌ها هنگامی به دست می‌آید که ژنوتیپ‌ها به دو گروه جداسازی شوند. نتایج به دست آمده از میانگین گروه‌ها به همراه انحراف آن‌ها از میانگین کل برای همه صفات بیانگر این واقعیت است که ژنوتیپ‌های گروه اول از نظر هیچ‌یک از صفات مورد بررسی به جزء زمان لازم از کاشت تا رسیدن به ۵، ۱۰، ۵۰، ۹۰ و ۹۵ درصد بیشترین جوانه‌زنی ارزش بالاتر از میانگین کل نداشتند اما گروه دوم از لحاظ همه صفات به جزء زمان لازم از کاشت تا رسیدن به ۵، ۱۰، ۵۰، ۹۰ و ۹۵ درصد بیشترین جوانه‌زنی ارزش بالاتری را از خود نشان دادند (به دلیل حجم بالای مطالب، جدول میانگین گروه‌ها ارائه نشده است). بنابراین با توجه به نتایج تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش ۱۶- بار، ژنوتیپ‌های گروه دوم از لحاظ هشت صفت از چهارده صفت مورد بررسی ارزش بالاتر از میانگین کل داشته و به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل‌تر نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش ۱۶- عمل کردند. این گروه شامل ژنوتیپ‌های AE1، AE2، AE3، AE4، AE5، AE6، AE7، AE8، AE9، AE10، AE11، AE12، AE13، AE14، AE15، AE16، AE17، AE18، AE20، AE22، AE24، AE26، AE28، AE29، AE30، AE31، کادوس، درفک و گوهر است که توانایی جوانه‌زنی بالایی در این سطح از تنش داشتند و اغلب جزء رقم‌های خارجی و ژنوتیپ‌های هوازی‌اند. دیگر ژنوتیپ‌ها که شامل پنج ژنوتیپ برنج هوازی AE19، AE21، AE23، AE25، AE27 و نوزده رقم برنج ایرانی بود به گروه دیگر منتسب شدند.

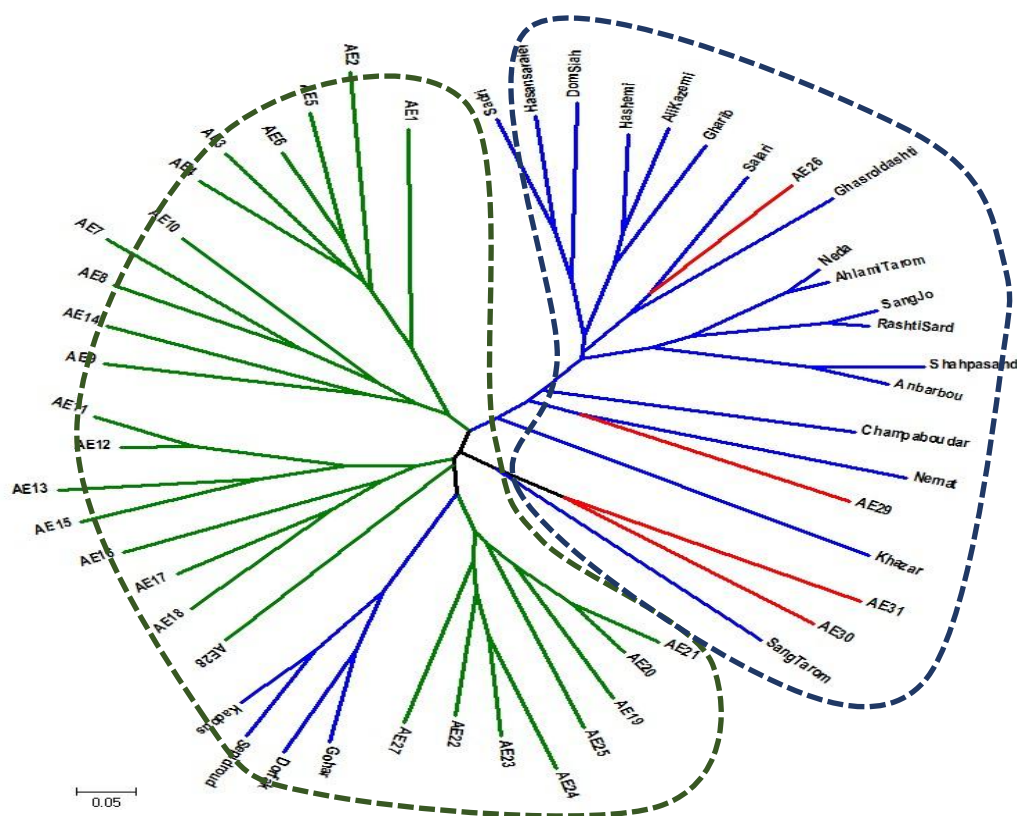
Sabouri *et al.* (2009) به‌منظور بررسی واکنش ویژگی‌های جوانه‌زنی ۲۷ رقم برنج ایرانی، آن‌ها را تحت شرایط تنش اسمزی به‌دست‌آمده از سوربیتول با پنج سطح هدایت الکتریکی (۰، ۲، ۴، ۶، ۸ دسی‌زیمنس بر متر) بررسی کردند. بر پایه تجزیه

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، ژنوتیپ‌های AE1، AE2، AE3، AE4، AE5، AE6، AE7، AE8، AE9، AE10، AE11، AE12، AE13، AE15، AE16، AE17، AE18، AE19، AE20، AE21، AE22، AE23، AE24، AE25، AE27، AE28، در تجزیه خوشه‌ای در یک دسته قرار گرفتند که همگی جزء ژنوتیپ‌های هوازی یا رقم‌های خارجی‌اند. در کنار این دسته، خوشه کوچکی به‌طور جداگانه شامل چهار رقم اصلاح‌شده ایرانی گوهر، درفک، سپیدرود و کادوس قرار گرفتند. از سوی دیگر رقم‌های ایرانی شامل صدری، حسن سرایی، دم‌سیاه، هاشمی، علی کاظمی، غریب، سالاری، قصرالدشتی، ندا، اهلومی طارم، سنگ جو، رشتی سرد، شاه سپند، عنبربو، چمپا بودار، نعمت، خزر، سنگ طارم، به همراه چهار ژنوتیپ AE26، AE29، AE30 و AE31 در دسته دوم قرار گرفتند. با توجه به اینکه از ۵۳ ژنوتیپ مورد بررسی تنها چهار ژنوتیپ غیر ایرانی و چهار رقم ایرانی در دسته‌های غیرخودی قرار گرفتند، بنابراین این دسته‌بندی تجزیه خوشه‌ای نزدیک به ۸۵ درصد با گروه‌بندی اولیه مبنی بر هوازی و غرقابی بودن ژنوتیپ‌های برنج همخوانی داشت. این امر بیانگر توانمندی شایان‌توجه نشانگرهای ریزماهواره انتخاب شده در این تحقیق در گروه‌بندی ژنوتیپ‌های هوازی و رقم‌های غرقابی ایرانی است. شاید بتوان استنباط کرد ژنوتیپ‌های هوازی که در دسته‌های جداگانه از رقم‌های غرقابی ایرانی قرار گرفتند می‌توانند از لحاظ نواحی ژنگانی مرتبط با تحمل به تنش خشکی و شوری واجد تفاوت‌های شایان‌توجهی با این رقم‌ها باشند.

در پژوهشی ۴۸ ژنوتیپ برنج بومی ایران و اصلاح شده و خارجی با استفاده از حدود سی نشانگر ریزماهواره ارزیابی شد که با استفاده از روش UPGMA و ضریب جاکارد ژنوتیپ‌ها در دو گروه اصلی طبقه‌بندی شدند. از سوی دیگر گروه‌بندی بر پایه صفات کمی مختلف انجام شد. در این بررسی با مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از دو گروه‌بندی پیشنهاد شد که در برنامه‌های درازمدت به‌نژادی، استفاده از نشانگرهای مولکولی در تلفیق با صفات کمی می‌تواند در تولید رقم‌های برتر سودمند باشد (Nori, 2003).

طبقه‌بندی رقم‌های برنج، صد ژنوتیپ ایرانی و خارجی برنج از نظر هفده صفت زراعی بررسی شدند و بر پایه تجزیه خوشه‌ای (کلاستر) به روش Ward ژنوتیپ‌های مورد بررسی در هفت گروه قرار داده شدند و از نظر محققان این روش گروه‌بندی به‌خوبی توانست رقم‌های ایرانی و خارجی مورد بررسی را از نظر صفات مورد بررسی از یکدیگر جداسازی کند و در گروه‌های جداگانه قرار دهد (Allahgholipor *et al.*, 2004).

خوشه‌ای شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی، رقم‌های بالا در چهار گروه مجزا (متحمل، نیمه متحمل، حساس و نیمه حساس) قرار گرفتند که رقم‌های طارم محلی، صدی، درفک و سنگ‌جو جز رقم‌های متحمل شناسایی شدند. در مقایسه با این پژوهش، درفک به همراه رقم‌های کادوس و گوهر با دیگر ژنوتیپ‌های هوازی بسیار متحمل‌تر از دیگر رقم‌های ایرانی ظاهر شدند. در پژوهشی به‌منظور تعیین تنوع ژنتیکی و



شکل ۱. تجزیه خوشه‌ای به روش اتصال همسایگی (NJ) با استفاده از ضریب جاکارد. انشعاب‌های سبز، آبی و قرمز رنگ به ترتیب گویای ژنوتیپ‌های هوازی، غرقابی و هوازی‌های هم‌گروه با رقم‌های غرقابی است.

Figure 1. Cluster analysis method Neighbor Joining (NJ) using Jaccard coefficient. Green, blue and red colors branches represent aerobic, lowland and aerobic same group with lowland varieties respectively.

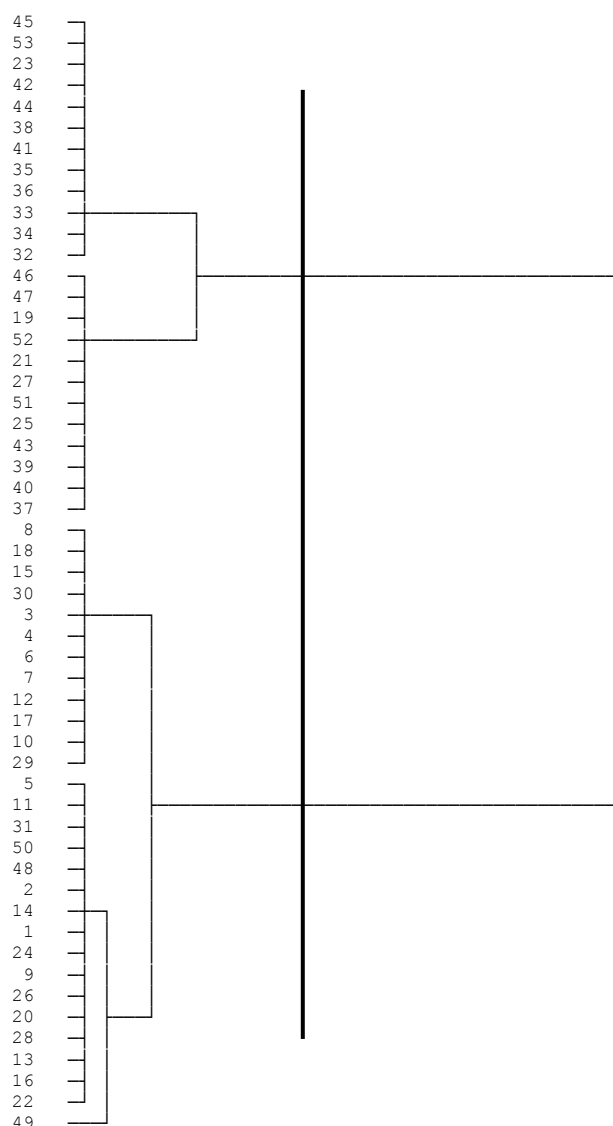
شناسایی شدند شامل ژنوتیپ‌های AE1، AE2، AE3، AE4، AE5، AE6، AE7، AE8، AE9، AE10، AE11، AE12، AE13، AE14، AE15، AE16، AE17، AE18، AE20، AE22، AE24، AE28، کادوس، درفک و گوهر بودند که در گروه‌بندی بر پایه داده‌های مولکولی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته به صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی و شوری

بررسی میزان همخوانی تجزیه خوشه‌ای به‌دست آمده از آزمون جوانه‌زنی و گروه‌بندی به‌دست آمده از داده‌های مولکولی

مقایسه نتایج به‌دست آمده نشان داد که در هر دو نوع گروه‌بندی، ۵۳ ژنوتیپ برنج به دو خوشه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌هایی که از لحاظ صفات جوانه‌زنی در شرایط تنش اسمزی ۱۶- بار برتر از دیگر ژنوتیپ‌ها

شرایط تنش رطوبتی استقرار بیشتر گیاه و تراکم بالاتر را در پی دارد که در نتیجه باعث افزایش عملکرد می‌شود (Baalbaki *et al.*, 1999). نتایج این پژوهش نیز گویای این واقعیت است که نشانگرهای ریزماهوره مورد استفاده که در جمعیت‌ها و زمینه‌های ژنتیکی پرشمار به تأیید رسیده بودند به نحو مطلوبی در جداسازی رقم‌های برنج ایرانی و ژنوتیپ‌های هوازی که قابلیت و توان بالایی در تحمل به تنش خشکی دارند موفق ظاهر شدند و این نتیجه می‌تواند به‌گونه‌ای دال بر تأیید این نشانگرها در ارتباط آن‌ها با صفات مرتبط با تنش باشد.

نزدیکی وهمسانی بسیار بالایی نشان دادند. از سوی دیگر قرار گرفتن رقم‌های کادوس، درفک و گوهر در دسته برنج‌های هوازی در هر دو نوع گروه‌بندی، همخوانی این دو تجزیه را بسیار روشن‌تر می‌کند. بررسی تأثیر تنش خشکی بر سرعت و درصد جوانه‌زنی بسیاری از گیاهان نشان می‌دهد که تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی آزمونی برای ارزیابی تحمل به تنش در بسیاری از گونه‌هاست، چون تنش خشکی باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود (Ghoulam & Fares, 2001). توان بالای جوانه‌زنی بذرها در



شکل ۲. نمودار درختواره‌ای به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های برنج به روش WARD در شرایط اسمزی ۱۶- بار بر پایه همه صفات (شماره ژنوتیپ‌ها در جدول ۱ ارائه شده است).

Figure 2. Dendrogram of cluster analysis of rice genotypes Ward method under -16 osmotic condition based on all studied traits (genotypes number showed in Table 1).

منتج از نشانگرهای بسیار پیوسته به QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با تنش خشکی و شوری و همچنین نتایج گروه‌بندی بر پایه ویژگی‌های مختلف جوانه‌زنی محتمل بودن نقش این نواحی در میزان تحمل ژنوتیپ‌ها به تنش را بیش‌ازپیش قوی‌تر می‌سازد. بدیهی است این نواحی ژنگانی می‌توانند در برنامه‌های بهنژادی بهبود تحمل به تنش‌های غیرزیستی در برنج‌های بومی ایرانی استفاده شوند.

نتیجه‌گیری کلی

در کل با توجه به بالا بودن آماره‌های تنوع ژنتیکی در دو نشانگر RM10793 و RM493 می‌توان به کارایی بالای این نشانگرها و نقش بارزتر آنها در تمایز ژنوتیپ‌های مختلف برنج اذعان داشت و از آنها در برنامه‌های اصلاحی دیگر به‌عنوان نشانگرهای کارا و مؤثر استفاده کرد. همخوانی شایان‌توجه نتایج گروه‌بندی مواد گیاهی با استفاده از داده‌های مولکولی

REFERENCES

1. Abdul-Baki, A. A. & Anderson, J. D. (1973). Vigour deterioration in soybean seeds by multiple criteria. *Journal of Crop Science*, 13, 630-633.
2. Abdolshahi, R., Omid, M., Talei, A. R. & Yazdi Samadi, B. (2010). Evaluation of bread wheat genotypes form drought tolerance. *Esci Journal of Crop Prduction*. 3 (1), 159-171. (in Farsi)
3. Allahgholipor, M., Mohamadsaleh, M. S. & Eebadi, G. H. A. (2004). Genetic variation in the classification of varieties of rice. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 35(4), 973-981. (in Farsi)
4. Baalbaki, R. Z., Zurayk, R. A., Bleik, M. M. & Tahouk, S. N. (1999). Germination and seedling development of drought tolerant and susceptible wheat under moisture stress. *Seed Science and Technology*, 27, 291-302.
5. Belhassen, E. (Ed) (1996). *Drought in higher plants: genetical, physiological and molecular biological analysis*. ENSA-INRA SGAP, Montpellier, France. 152 pp.
6. 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. *Journal of Crop Science*, 47(2), 507-518.
7. Bouman, B. A., Xiaoguang, M., Huaqi, Y., Zhiming, W., Junfang, W., Changgui, Z. & Bin, C. (2002). Aerobic Rice (Han Dao): A New Way of Growing Rice in Water-Short Areas, *Proceedings of the 12th ISCO Conference*, May 26-31, Beijing, China.
8. Bounphanousay, C., Jaisil, P., McNally, K. L., Sanitchon, J. & Sackville Hamilton, N. R. (2008). Variation of microsatellite markers in collection of Lao, black glutinous rice (*Oryza sativa* L.). *Asian Journal of Plant science*, 7 (2), 140-148.
9. Camberato, J. & Mccarty, B. (1999). Irrigation water quality: part I. Salinity. South CarolinaTurfgrass Foundation New, 6 (2), 6-8.
10. Collard, B. C. Y. & Mackill, D. J. (2008). Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363, 557-572.
11. Diwan, J. M., Channbyregowda, V., Shenoy, Salimath, P. & Bhat, R. (2013). Molecular mapping of early vigour related QTLs in rice. *Research Journal of Biology*, 1, 24-30.
12. Ehdaie, B. & Waines, J. G. (1993). Variation in water use efficiency and its components in wheat. *Crop Science*, 31, 1282-1288.
13. Emam E (2007). *Cereal production*. Shiraz University Press. pp190. (in Farsi)
14. Hunter. E. A., Glasbey, C. A. & Naylor R. E. L. (1984). The analyses of data from germination test. *Journal of Agricultural Sciences*, Cambridge, 102, 207-213.
15. Ghoulam, C. & Fares, K. (2001). Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Seed Science and Technology*, 29, 357-364.
16. Kanagara, P., Silvas, K. & Babu, C. (2010). Microsatellite markers linked to drought resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Current Science*, 98, 836-839.
17. Karimi, H. (1996). *Crops*. Tehran University Press. pp714. (in Farsi)
18. Khavazeh, M. (1998). Effect of salinity on germination, growth, and Cl, Na content of four arid and esertspecies. MSc Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan.
19. Lapitan, V. C., Brar, D. S., Abe, T. & Redona, E.D. (2007). Assessment of genetic diversity of Pilippine rice carrying good quality traits using SSR markers. *Journal of Breeding Science*, 57, 263-270.
20. Luan, Li., 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 Genetic*, 46, 248-266.

21. Mohammadi, S.A. (2006). Analysis of molecular data from perspective of genetic diversity, 9th Iranian crop science congress, Aburaihan Campus-University of Tehran, Aug, 27-29, Tehran, Iran. (in Farsi)
22. Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 106 (949), 283-292.
23. Nori, Z. (2006). *Molecular genetic diversity of rice varieties using microsatellite markers in comparison with the results of quantitative methods*. MSc. Thesis. University of Gilan. pp 120. (in Farsi)
24. Ribeiro-Carvalho, C., Guedes-Pinto, H. & Iregas, G. (2004). High levels of genetic diversity throughout the range of Portuguese wheat landrace Barbela. *Annals of Botany*, 94, 699-705.
25. Roumani, A. & Ehteshami, S. M. R. (2013). Effect of Different Levels of Salinity Strees on Germination Indices and Seedling Growth of Fenugreek (*Trigonella foenum L.*). 2nd National Congress on Medicinal Plants. 15, 16 May, Tehran, Iran.
26. Sabouri, H., Nahvi, M., Biabani, A., Torabi, A., Dadras, A. R. & Sabouri, A. (2009). Classification of Iranian rice genotypes based on Fischer linear discrimination functions under different levels of osmotic potential caused by Sorbitol. *EJANG. Electronic Journal of Agriculture and Natural Resources of Golestan*, 2(2), 49-65.
27. Saghai Mroof, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. & Allard, R.W. (1994). Extraordinarily polymorphic DNA in barely species diversity, chromosomal location, and population dynamics. In: *Proceeding of the Natioal Academy of Sceinces, USA*. 91, 5466-5570.
28. Shannon, C. E. & Weaver, W. (1963). *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana, Ill.
29. Singh, V. K., Upadhyay, p., Sinha, p., Mall, A. K., Jaiswal, S. K., Singh, A., Ellur, R. K., Biradar, S., Sundaram R. M., Singh, S., Ahmed, I., Mishra, B., Singh, A. K. & Kole, C. (2011). Determination of genetic relationships among elite thermosensitive genic male sterile (TGMS) of rice (*Oryza sativa L.*) employing morphological and simple sequence repeat (SSR) marker. *Journal of Genetics*, 90, 11-19.
30. Soltani, A. & Maddah, V. (2010). *Simple, Applied Programs for Education and Research in Agronomy*. Niak Press. Page 80.
31. Thomson, M. J., De Ocampo, M., Egdane, J., Rahman, M. A., Sajise, A. G., Adorada, D. L., Tumimbang, Raiz, E., Blumwald, E., Seraj, Z. I., Singh, R. K., Gregorio, G. B. & Ismail, A. M. (2010). Characterizing the *Saltol* quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice*, 3(2-3), 148-160.
32. Venuprasad, R., Bool, M. E., Quiatchon, L. & Atlin, G. N. (2011). A QTL for rice grain yield in aerobic environments with large effects in three genetic backgrounds. *Theoretical and Applied Genetics*, 124 (2), 323-32.
33. Vial, L. K. (2007). *Aerobic and Alternate-wet-and-dry (AWD) Rice Systems*. Nuffield Australia publishing, Griffith NSW 2680. Australia.
34. Vikram, P., M. Swamy, B. P. & Dixit, S. (2011). qDTY1.1, a major QTL for rice grain yield under reproductive-stage drought stress with a consistent effect in multiple elite genetic backgrounds. *BMC Genetics*. 12, 89.
35. Wang, Xu-S., Zhu, J. & Mansueto, L. (2005). Identification of candidate genes for drought stress tolerance in rice by the integration of a genetic (QTL) map with the rice genome physical map. *Journal of Zhejiang University. Science. B* 6, 382-388.
36. Willenborg, C. J., Wildeman, J. C., Miller, A. K., Rossnagel, B. G. & Shirliff, S. J. (2005). Oat germination characteristics differ among genotypes, seed size and osmotic potentials. *Crop Science*. 45, 2023-2029.
37. Yang, X., Yan, J., Shah, T., Warburton, M. L., Li, Q., Li, L., Gao, Y., Chai, Y., Fu, Z., Zhou, Y., Xu, S., Bai, G., Meng, Y., Zheng, Y. & Li, J. (2010). Genetic analysis and characterization of a new maize association mapping panel for quantitative trait loci dissection. *Theoretical and Applied Genetics*, 121, 417-431.
38. Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. J. B., Ye, Z. H. & Mao, J. X. (1997). *Popgene, the user-friendly shareware for population genetic analysis*. Edmonton, Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.