

ارزیابی تنوع مولکولی ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa* L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره
همبسته با خصوصیات زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه

Evaluation of molecular diversity in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using
microsatellite markers linked with agronomic and grain physico-chemical
characteristics

مهرزاد اله‌قلی پور^۱، عزت‌الله فرشادفر^۲ و بابک ربیعی^۳

چکیده

اله‌قلی پور، م.، ع. فرشادفر و ب. ربیعی. ۱۳۹۲. ارزیابی تنوع مولکولی ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa* L.) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره همبسته با خصوصیات زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه. مجله علوم زراعی ایران. ۱۵(۴): ۳۵۴-۳۳۷.

به منظور ارزیابی تنوع مولکولی و طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج، تعداد ۹۴ ژنوتیپ برنج موجود در کلکسیون موسسه تحقیقات برنج کشور مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این آزمایش از ۵۲ جفت آغازگر ریزماهواره پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده خصوصیات مهم زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه برنج با توزیع نسبتاً یکنواخت روی ۱۲ جفت کروموزوم برنج استفاده شد. در این آزمایش، تعداد آلل‌های چندشکل ۳۶۱ آلل با متوسط ۴/۷۵۰ آلل در هر مکان ژنی بود. نتایج نشان داد که نشانگرهای RM276 و RM5642 روی کروموزوم شماره ۶ و نشانگرهای RM14 و RM1 روی کروموزوم شماره ۱ بیشتر از ۹ آلل داشتند. بیشترین و کمترین مقدار محتوی چندشکل (PIC) برای نشانگرهای RM5642 و RM207 به ترتیب ۰/۸۵۴ و ۰/۵۱۵ بودند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های مولکولی با استفاده از روش دورترین همسایه و ضریب تشابه جاکارد منجر به گروه‌بندی ارقام در نه گروه گردید، به‌طوری‌که باعث تفکیک ارقام محلی با دارا بودن خصوصیات فیزیکوشیمیایی دانه مطلوب از ارقام اصلاح شده و سایر ژنوتیپ‌ها گردید. بدین ترتیب تعداد ۹ رقم از ۹ گروه متفاوت شامل ارقام دیلمانی، طارم‌محلی، لاین ۲۳، RI1843046 (هاشمی × صالح)، RI1843223 (محمدی × صالح)، IR50، لاین حاصل از تلاقی برگشتی بین دو رقم صالح و آجی‌بوجی، RI184421 (حسن‌سرائی × سپیدرود) و RI184472 (غریب × سپیدرود) به عنوان والدین تلاقی‌ها برای تهیه جمعیت‌های اصلاحی انتخاب شدند. بررسی ضرایب تشابه محاسبه شده بین ارقام انتخابی برای استفاده در برنامه اصلاحی نشان داد که میزان تشابه ارقام با یکدیگر بسیار پائین بوده و پیش‌بینی می‌شود که در بین نتایج حاصل از این ارقام به عنوان والدین تلاقی‌ها، تنوع لازم برای اصلاح هدفمند خصوصیات مهم زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه برنج وجود داشته باشد. نتایج نشان داد که استفاده از نشانگرهای مولکولی اختصاصی و همبسته با ژن‌های کنترل‌کننده خصوصیات مهم زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه به دلیل عدم تأثیرپذیری آنها از عوامل محیطی می‌تواند ابزار مناسبی برای تولید و اصلاح هدفمند ارقام جدید در جمعیت‌های اصلاحی با استفاده از روش انتخاب به کمک نشانگر باشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تنوع مولکولی، تجزیه خوشه‌ای، ضریب تشابه و نشانگر ریزماهواره.

این مقاله مستخرج از رساله دوره دکتری نگارنده اول می‌باشد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۳

۱- دانشجوی دوره دکتری دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه و عضو هیات علمی موسسه تحقیقات برنج، عضو انجمن علوم زراعت اصلاح نباتات ایران

(مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: alahgholipour@yahoo.com)

۲- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه

۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

مقدمه

آگاهی از میزان تنوع در میان ژنوتیپ‌های گیاهان زراعی و از جمله برنج، اولین گام در اصلاح برای صفات مهم زراعی است. تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های والدینی معمولاً به وسیله تفاوت‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و صفات مهم اقتصادی ارزیابی می‌شود. معایب این شیوه مرسوم، وقت گیر بودن، نیاز به تعداد نمونه زیاد و تاثیر عوامل محیطی در خلال اندازه‌گیری می‌باشد (Zheng *et al.*, 2006). توجه به این نکته مهم است که صفات مورفولوژیک اغلب از نظر تعداد محدود بوده و ممکن است ارتباط ژنتیکی حقیقی بین ژنوتیپ‌ها را به خوبی نشان ندهند. برعکس، تفاوت ژنتیکی بر اساس چندشکلی DNA زیاد و مستقل از عوامل محیطی بوده و مقدار نمونه کمی می‌تواند آگاهی‌بخش باشد (Kamoshita *et al.*, 2008). در بین نشانگرهای مولکولی، نشانگر ریزماهواره‌ها به علت چند شکلی بالا، همباز بودن و عدم تاثیر از شرایط محیطی به عنوان نشانگری مطمئن مورد توجه هستند و به طور گسترده‌ای در شناسایی و طبقه‌بندی ارقام گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Smith *et al.*, 2000).

داس و همکاران (Das *et al.*, 2012) با بررسی تنوع ژنتیکی بین ارقام مختلف برنج با استفاده از خصوصیات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی ریزماهواره ارقام باسماتی را از ارقام محلی غیر باسماتی تفکیک نمودند. جین و همکاران (Jain *et al.*, 2004) با مطالعه ۶۹ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۳۰ نشانگر ریزماهواره توانستند ارقام باسماتی و ژنوتیپ‌های متعلق به گروه‌های ایندیکا و ژاپونیکا را از هم متمایز نمایند. شینگ-جان و همکاران (Sheng-jun *et al.*, 2006) با بررسی تنوع ژنتیکی بین ۴۱ لاین والدینی برنج هیبرید به کمک نشانگرهای مولکولی ریزماهواره اعلام نمودند که لاین‌های والدینی در دو گروه اصلی نگهدارنده و برگرداننده باروری قرار دارند و اظهار داشتند که از نقطه نظر اصلاح برنج هیبرید، تفکیک و گروه‌بندی

لاین‌های والدینی برنج هیبرید به کمک نشانگرهای مولکولی ریزماهواره بهتر از مطالعه آنها به وسیله خصوصیات مورفولوژیک است. طیف کار و همکاران (Tabakhkar *et al.*, 2011) با مطالعه تنوع مولکولی در ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با مکان‌های ژنی کنترل‌کننده کیفیت دانه گزارش نمودند که بیشترین تعداد آلل‌های چندشکل در کل جمعیت مربوط به نشانگر RM276 روی کروموزوم ۶ بود. نتایج حاصل از تحقیق آنها نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی بین کلیه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و به خصوص بین ژنوتیپ‌های بومی برنج از نظر جایگاه‌های ریزماهواره وجود دارد، به طوری که می‌توان از تنوع موجود برای اصلاح خصوصیات کیفی دانه به ویژه در لاین‌های پر محصول استفاده نمود.

استفاده از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر قسمت‌های کدکننده ژنوم و یا نشانگرهای پیوسته با ژن‌های دخیل در عملکرد و اجزای آن، می‌تواند برآورد دقیقی از روابط ژنوتیپ‌ها را به وجود آورد (Bernardo, 2001). بهره‌برداری از والدین متقابل در دورگ‌گیری و برنامه هیبریداسیون باعث افزایش استفاده از هتروزیس شده و همچنین باعث ایجاد طیف وسیعی از تنوع در نسل‌های در حال تفکیک می‌گردد که شانس انتخاب لاین‌های مناسب افزایش می‌یابد. گزینش والدین با مطالعه تنوع ژنتیکی به طور موفقیت‌آمیزی در گونه‌های مختلف زراعی بر اساس خصوصیات مورفولوژیک (Bar-Hen *et al.*, 1995)، فیزیولوژیک (Suh *et al.*, 1997)، آیزوزایم (Hamrick and Godt, 1997) و پروتئین‌های ذخیره‌ای (Smith *et al.*, 1987) انجام شده است. استفاده از خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در برنامه‌های اصلاحی، اساس و پایه ارزیابی روش‌های اصلاح سنتی بوده و استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌تواند مکمل روش‌های اصلاح سنتی باشد (Xi *et al.*, 2008). بنابراین مطالعه و شناخت ارقام مختلف برنج و پی بردن به

خصوصیات بارز آنها می‌تواند کمک موثری در تولید ارقام اصلاح شده جدید پر محصول با دارا بودن کیفیت پخت و دیگر خصوصیات مطلوب مثل مقاومت به بیماری‌ها، ورس و زودرسی بنماید. لازم به ذکر است که ارقام اصلاح شده پر محصول که تاکنون معرفی شده‌اند، علی‌رغم پنجه‌زنی بالا و مقاومت نسبت به بیماری بلاست و عملکرد بالا، بدلیل ضعف خصوصیات کیفی (مخصوصاً کیفیت پخت) در رقابت با ارقام بومی توفیق چندانی نداشته‌اند و ازاین رو با استقبال کم در بازار مواجه و به قیمت نازلتری خریداری می‌شوند. دلیل این موضوع این بوده است که در اصلاح این ارقام در نسل‌های در حال تفرق فقط به عملکرد دانه و اجزای آن و صفات مرتبط به مقاومت به آفات و بیماری‌ها و ورس توجه شده و گزینش لاین‌ها بر مبنای خصوصیات کیفی مورد توجه قرار نگرفته است. بنابراین دستیابی به ارقام نسبتاً پر محصول که دارای خصوصیات مناسب پخت باشند، در اولویت برنامه‌های تحقیقاتی قرارداد (Allahgholipour *et al.*, 2012). بدین منظور، این پژوهش با هدف مطالعه و تعیین تنوع و گروه‌بندی ارقام برنج با استفاده از نشانگرهای مولکولی همبسته با QTL‌های صفات مرتبط با عملکرد و کیفیت دانه، ارزیابی چند شکلی ژنتیکی، شناسایی گروه‌های والدینی و متعاقب آن انتخاب والدین مناسب جهت تهیه جمعیت‌های اصلاحی برای دستیابی به ارقام و لاین‌های جدید پر محصول و کیفی برنج انجام گردید.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۹۴ ژنوتیپ برنج سازگار با شرایط اقلیمی استان گیلان، شامل ۲۳ رقم محلی، ۵۶ رقم و لاین اصلاح شده و ۱۵ رقم وارداتی و خارجی موجود در کلکسیون موسسه تحقیقات برنج کشور که تاکنون با استفاده از نشانگرهای مولکولی ارزیابی نشده‌اند، انتخاب و در قالب طرح بلوک‌های کامل

تصادفی با دو تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. در این آزمایش خصوصیات مانند عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار)، وزن صد دانه (گرم)، تعداد خوشه در بوته، تعداد دانه پر در خوشه، ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، روز تا ۵۰ درصد گلدهی، شکل دانه، میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن، میزان برنج سالم و خرد با نمونه‌برداری از ۱۰ بوته تصادفی در هر کرت طبق دستورالعمل موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI, 1996) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. اسامی، مشخصات و منشاء ارقام و لاین‌های برنج مورد استفاده در جدول یک ارائه شده است. برای ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه، از ۵۲ جفت آغازگر ریزوماهواره همبسته با QTL‌های خصوصیات زراعی و فیزیکی‌شیمیایی مرتبط با کیفیت دانه با استفاده از نقشه‌های SSR ارائه شده به وسیله چن و همکاران (Chen *et al.*, 1997)، تمنیخ و همکاران (Temnykh *et al.*, 2000) و مک‌کوش و همکاران (McCouch *et al.*, 2002) با توزیع نسبتاً یکنواخت روی ۱۲ جفت کروموزوم برنج استفاده گردید (جدول ۲). استخراج DNA از برگ‌های جوان گیاهچه‌های ۲۱ روزه در مرحله چهار برگی با استفاده از روش CTAB انجام شد (Murray and Thompson, 1980). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (T-Gradient, Biometra, USA) در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر واکنش شامل دو میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت تقریبی ۵ نانوگرم در میکرولیتر، ۰/۵ میکرولیتر از آغازگرهای روبه جلو و روبه عقب با غلظت ۵ میکرومولار، ۱/۲ میکرولیتر مخلوط بازهای آلی (dNTPs) با غلظت یک میلی‌مولار، ۰/۱۴ میکرولیتر آنزیم تک پلی‌مراس با غلظت ۵ واحد در میکرولیتر، ۰/۴۸ میکرولیتر کلرید منیزیم با غلظت ۵۰ میلی‌مولار و یک میکرولیتر بافر پی سی آر با غلظت ۱۰ برابر (۱۰X) انجام گردید. فرآورده‌های PCR تا انجام الکتروفورز در

جدول ۱- اسامی، منشاء و مشخصات ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی

Table 1. Name, origin of country and pedigree of rice genotypes used in this experiment

شماره No.	Genotype	ژنوتیپ	Pedigree	شجره	Origin	منشاء
1	Sangejo	سنگ جو	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
2	RI18430-30-1-2-1-1	لاین اصلاحی	Saleh / Hashemi	هاشمی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
3	Mohammadi	محمدی	Local cultivar	رقم محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
4	Salari	سالاری	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
5	Alikazemi	علی کاظمی	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
6	Hassansaraiee	حسن سرائی	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
7	Ahlamitaroom	اهلمی طارم	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
8	Anbarbo	عنبربو	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
9	Daylamani	دیلمانی	Local cultivar	رقم محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
10	Shahpasand	شاه پسند	Local cultivar	رقم محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
11	Garib	غریب	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
12	Domsefid	دم سفید	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
13	Domzard	دم زرد	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
14	Gharib sia Rayhani	غریب سیاه ریحانی	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
15	Tarom Mohali	طارم محلی	Local cultivar	رقم محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
16	Tarom Amiri	طارم امیری	Local cultivar	رقم محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
17	Binam	بینام	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
18	Hassani	حسنی	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
19	Hashemi	هاشمی	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
20	Domsiah	دمسیاه	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
21	Abjiboji	آبجی بوجی	Local cultivar	رقم محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
22	RI18430-40-1-1-1-1	لاین اصلاحی	Saleh / Hashemi	هاشمی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
23	Ghashenge	قشنگه	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
24	Champa Boodar	چمپا بودار	Local cultivar	رقم محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
25	RI18430-46-1-2-1-1	لاین اصلاحی	Saleh / Hashemi	هاشمی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
26	RI18430-52-1-2-1-2	لاین اصلاحی	Saleh / Hashemi	هاشمی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
27	RI18430-20-1-2-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Hashemi	هاشمی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
28	RI18430-56-1-2-3-1	لاین اصلاحی	Saleh / Hashemi	هاشمی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
29	Ramezanali Tarom	رمضانعلی طارم	Local cultivar	رقم محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
30	RI18431-4-2-3-1-1	لاین اصلاحی	Saleh / Abjiboji	آبجی بوجی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
31	RI18431-12-2-3-2-2	لاین اصلاحی	Saleh / Abjiboji	آبجی بوجی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
32	RI18431-21-1-3-2-2	لاین اصلاحی	Saleh / Abjiboji	آبجی بوجی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
33	Gohar	گوهر	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Basmati, India	باسماتی، هندوستان
34	RI18431-29-1-2-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Abjiboji	آبجی بوجی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
35	Line 23	لاین ۲۳	Introduction	رقم وارداتی	IRRI [*] , Philippines	ایری، فیلیپین
36	Line 830	لاین ۸۳۰	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
37	Line 831	لاین ۸۳۱	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
38	Line 840	لاین ۸۴۰	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
39	Line 841	لاین ۸۴۱	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
40	Neda	ندا	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
41	Nemat	نعمت	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
42	Dorfak	درفک	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
43	Kadous	کادوس	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
44	Saleh	صالح	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
45	Sepidrood	سپیدرود	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
46	Khazar	خزر	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
47	Shiroodi	شیرودی	Improved cultivar	رقم اصلاح شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
48	RI18432-9-1-3-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Mohammadi	محمدی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
49	RI18432-23-1-2-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Mohammadi	محمدی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران
50	RI18432-28-1-3-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Mohammadi	محمدی / صالح	Guilan, Iran	گیلان، ایران

*International Rice Research Institute

ادامه جدول ۱-

Table 1 continued-

شماره	Genotype	ژنوتیپ	Pedigree	شجره	Origin	منشأ
51	RII8432-67-2-1-3-2	لاین اصلاحی	Saleh / mohamadi	محمادی / صالح	Guilan,Iran	گیلان، ایران
52	RII8432-30-2-2-3-1	لاین اصلاحی	Saleh / mohamadi	محمادی / صالح	Guilan,Iran	گیلان، ایران
53	Taychoung	تایچونگ	Introduction	رقم وارداتی	China	چین
54	Fojiminori	فوجی‌مینوری	Introduction	رقم وارداتی	China	چین
55	Usen	یوسن	Introduction	رقم وارداتی	Egypt	مصر
56	IR36	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI*, Philippines	ایری، فیلیپین
57	IR58	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
58	IR28	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
59	IR30	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
60	IR50	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
61	IR60	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
62	Zinet	زینت	Introduction	رقم وارداتی	Egypt	مصر
63	RII8434-7-1-2-3-1	لاین اصلاحی	Saleh / Hassani	حسنی / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
64	RII8434-10-1-2-2-2	لاین اصلاحی	Saleh / Hassani	حسنی / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
65	RII8435-7-1-3-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Ahlmitarom	اهلمی طارم / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
66	RII8435-10-2-2-3-1	لاین اصلاحی	Saleh / Ahlmitarom	اهلمی طارم / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
67	Line 44	لاین ۴۴	PR27137-CR153	رقم خارجی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
68	Line 45	لاین ۴۵	PSBRC44(IR59468-B-B-3-2)	رقم خارجی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
69	18431 / Abjiboji	لاین اصلاحی	Saleh / Abjiboji // Abjiboji	آبجی‌بوجی // آبجی‌بوجی / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
70	RII8436-8-1-2-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Hassansaraiee	حسن‌سرائی / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
71	RII8436-15-1-2-3-2	لاین اصلاحی	Saleh / Hassansaraiee	حسن‌سرائی / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
72	RII8436-11-1-2-2-2	لاین اصلاحی	Saleh / Hassansaraiee	حسن‌سرائی / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
73	RII8437-12-2-1-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Salari	سالاری / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
74	RII8437-42-1-3-3-2	لاین اصلاحی	Saleh / Salari	سالاری / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
75	RII8437-6-1-2-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Salari	سالاری / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
76	RII8437-10-1-3-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Salari	سالاری / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
77	RII8439-1-2-3-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Gharib	غریب / صالح	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
78	RII8439-9-1-2-2-1	لاین اصلاحی	Saleh / Gharib	غریب / صالح	Guilan,Iran	گیلان، ایران
79	RII8439-20-1-2-3-2	لاین اصلاحی	Saleh / Gharib	غریب / صالح	Guilan,Iran	گیلان، ایران
80	RII8439-16-1-2-1-1	لاین اصلاحی	Saleh / Gharib	غریب / صالح	Guilan,Iran	گیلان، ایران
81	RII8440-1-1-2-1-2	لاین اصلاحی	Sepidrood / Abjiboji	آبجی‌بوجی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
82	IRFAON2010-216	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	Guilan,Iran	گیلان، ایران
83	RII8440-2-1-2-3-1	لاین اصلاحی	Sepidrood / Abjiboji	آبجی‌بوجی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
84	RII8441-3-1-2-3-2	لاین اصلاحی	Sepidrood / Hashemi	هاشمی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
85	IRON2010-112	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
86	RII8442-1-1-1-2-1	لاین اصلاحی	Sepidrood / Hassansaraiee	حسن‌سرائی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
87	RII8442-10-2-1-2-3	لاین اصلاحی	Sepidrood / Hassansaraiee	حسن‌سرائی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
88	RII8442-22-2-1-3-1	لاین اصلاحی	Sepidrood / Hassansaraiee	حسن‌سرائی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
89	IRON2010-410	لاین اصلاحی	Introduction	رقم وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
90	RII8443-3-1-2-3-1	لاین اصلاحی	Sepidrood / Mohammadi	محمادی / سپیدرود	Guilan ,Iran	گیلان، ایران
91	RII8443-10-2-2-3-1	لاین اصلاحی	Sepidrood / Mohammadi	محمادی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
92	RII8444-6-2-1-3-2	لاین اصلاحی	Sepidrood / Ahlmitarom	اهلمی طارم / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
93	RII8445-24-1-1-2-1	لاین اصلاحی	Sepidrood / Hassani	حسنی / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران
94	RII8447-2-1-2-1-1	لاین اصلاحی	Sepidrood / Gharib	غریب / سپیدرود	Guilan,Iran	گیلان، ایران

*International Rice Research Institute

حرارتی بصورت دمای کاهشی طبق روش دان و همکاران (Don et al., 1991) برنامه‌ریزی شد. فرآورده‌های PCR روی ژل پلی اکریل آمید ۱۰ درصد

دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور حذف نوارهای شبه ریزماهواره و جلوگیری از اتصال غیر تخصصی آغازگرها، ۱۰ دور اول چرخه

از هم تفکیک و سپس با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و با دستگاه ژل داک (BioRad, USA) عکس برداری شدند. بر اساس الگوهای نواری واضح و روشن حاصل از الکتروفورز، نمره دهی در صورت حضور باند (۱) و عدم حضور باند (صفر) انجام شد. ماتریس بدست آمده برای محاسبه ضرایب تشابه مختلف از جمله ضریب تطابق ساده، ضرایب تشابه دایس و جاکارد استفاده شده و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش‌های مختلف نظیر نزدیک‌ترین همسایه‌ها، دورترین همسایه‌ها و UPGMA انجام شد و برای هر یک از آنها ضریب همبستگی کوفاکتیک محاسبه و دندروگرام تجزیه خوشه‌ای رسم شد. میزان اطلاعات چند شکلی (Polymorphism Information Content) به تفکیک برای هر نشانگر ریزماهواره در ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از رابطه یک برآورد شد (Arias *et al.*, 2009).

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n 2 p_i^2 p_j^2 \quad (\text{رابطه ۱})$$

در این رابطه p_i نشان‌دهنده فراوانی آلل i ام و j بیانگر رقم j ام است. برای تعیین واقعی گروه‌ها و تأیید گروه‌بندی از تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نرم افزار Genalex ver 6.2 استفاده شد. کلیه محاسبه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای NTSYS-pc ver. 2.02 (Rohlf, 1999) برای داده‌های صفر و یک و POPGENE ver. 1.32 و Yeh *et al.*, 1999 بر اساس حروف A، B، C و..... انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver 17 میانگین خصوصیات مورفولوژیک و فیزیکوشیمیایی دانه ژنوتیپ‌های برنج برای هر گروه حاصل از تجزیه خوشه‌ای محاسبه و با استفاده از آزمون t با میانگین کل هر گروه مقایسه گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه مولکولی نوارهای الکتروفورز نشان داد که تمامی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره در ۹۴ ژنوتیپ مورد مطالعه چندشکل بوده

و در مجموع ۳۶۱ آلل را ایجاد نمودند. تعداد آلل موثر، تعداد آلل مشاهده شده و محتوای اطلاعات چندشکل محاسبه و به همراه خصوصیات مهم زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه برای هر نشانگر، در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تعدادی از نشانگرها مثل RM276 پیوسته با عملکرد دانه و RM5642 پیوسته با میزان آمیلوز روی کروموزوم ۶ و نشانگرهای RM14 و RM1 همبسته با وزن صد دانه، تعداد خوشه در بوته و عملکرد دانه روی کروموزوم ۱ بیشتر از ۹ آلل مشاهده شده داشتند، در حالی که نشانگرهای دیگر مثل RM16، RM207، RM208 و RM317 واقع در کروموزوم‌های متفاوت و پیوسته با عملکرد دانه، تعداد دانه پر در خوشه، تعداد خوشه در بوته و ارتفاع بوته دارای ۳-۴ آلل بودند. شینگ‌جان و همکاران (Sheng-jun *et al.*, 2006) با مطالعه تنوع ژنتیکی در بین ۴۱ لاین والدینی برنج هبرید با استفاده از ۶۶ آغازگر ریزماهواره، تعداد آلل‌های مشاهده شده را در مجموع ۳۰۱ آلل با دامنه بین ۱۳-۲ آلل گزارش نمودند. نتایج مشابهی توسط آکاگی و همکاران (Akagi *et al.*, 1997) مبنی بر چندشکلی کمتر و تعداد آلل‌های کمتر برای نشانگرهای RM1 و RM3 گزارش گردیده است. میزان اطلاعات چندشکل (PIC) که بیانگر عکس العمل تنوع و فراوانی آللی بین ژنوتیپ‌ها است، از یک مکان ژنی به مکان دیگر متفاوت و برای همه نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی در این آزمایش یکسان نبود. در این آزمایش، میزان اطلاعات چند شکل برای مکان‌های ژنی مختلف بین ۰/۵۱۵ تا ۰/۸۵۴ با میانگین ۰/۷۳۱ بود. بیشترین و کمترین میزان اطلاعات چند شکل به ترتیب مربوط به نشانگر RM5642 واقع در کروموزوم ۶ (۰/۸۵۴) و RM207 روی کروموزوم ۲ (۰/۵۱۵) بود. تعدادی از نشانگرهای ریزماهواره دیگر مثل RM240 (۰/۸۴۸)، RM592 (۰/۸۴۵) و RM1 (۰/۸۳۸) پیوسته با عملکرد دانه، وزن صدانه، تعداد دانه پر در خوشه، ارتفاع بوته، روز تا

جدول ۲- صفات گیاهی مرتبط با نشانگر، تعداد آلل‌های مشاهده شده، موثر و میزان اطلاعات چندشکلی برای کلیه نشانگرهای ریزماهواره استفاده شده برای ارزیابی تنوع

مولکولی ژنوتیپ‌های برنج

Table 2. SSR markers linked with rice genotypes characteristics, observed and effective number of alleles and polymorphic information content for all primers

ردیف No.	نشانگر ریزماهواره SSR marker	شماره کروموزوم No. of Chromosome	تعداد آلل مشاهده شده Observed No. alleles (Na)	تعداد آلل موثر Effective No. alleles (Ne)	میزان اطلاعات چندشکلی PIC	صفات گیاهی مرتبط با نشانگر Plant Characteristics
1	RM 1	1	11	7.124	0.838	HGW, FGN, GY, FLL, PN
2	RM 3	6	8	6.346	0.824	GT
3	RM 7	3	6	4.128	0.719	AC, HRR
4	RM 11	7	8	4.588	0.752	HGW, FGN, GY, FLL, HRR, PN
5	RM 14	1	11	6.598	0.824	HGW, AC, GY, PH, PN
6	RM 16	3	4	3.830	0.752	PN, PH
7	RM 17	12	8	5.691	0.803	HGW, FGN, PH
8	RM 55	3	4	3.278	0.640	HGW, AC, FGN, GY, HRR, PH, PN
9	RM 103	6	7	4.697	0.754	GT
10	RM 104	1	6	4.708	0.743	HGW, FGN, GY, HRR, PN, PH
11	RM 119	4	6	4.443	0.743	FGN, PH
12	RM 125	7	5	2.779	0.588	HGW, AC, GT, GY,
13	RM 128	1	6	4.945	0.767	HGW, GT, FGN, GY, PH, FLL
14	RM 152	8	6	3.495	0.543	GY, PN
15	RM 164	5	6	5.191	0.780	HGW, FFD, GT, FGN, GY, PN, PH
16	RM 168	3	5	2.604	0.543	HGW, AC, FGN, GY, FLL, PH, PN
17	RM 171	10	6	5.032	0.771	HGW
18	RM 190	6	9	5.070	0.773	AC, GT, HRR, PH, GS
19	RM 202	11	7	5.364	0.791	HGW, GT, FGN, GY, FLL, PN, PH,
20	RM 204	6	6	4.186	0.724	HGW, GT, GY, FGN, GS, FLL, PN, PH
21	RM 205	9	6	3.356	0.652	HGW, PH
22	RM 207	2	4	2.494	0.515	FGN, PH, GY
23	RM 208	2	3	1.689	0.521	HGW, GY, FGN, PH
24	RM 209	11	7	3.221	0.648	HGW, AC, GY, HRR, PN, PH
25	RM 215	9	7	5.436	0.792	HGW, FGN, GY, PN, PH
26	RM 219	9	6	4.455	0.741	GT, AC, GY, PH

(عملکرد دانه) GY= Grain Yield, (وزن صد دانه) HGW=hundred Grain Weight, (تعداد دانه پر در خوشه) FGN= Filled Grain Number, (تعداد خوشه در بوته) PN= Panicle Number, (ارتفاع بوته) PH= Plant Height,

(طول برگ برچم) FLL= Flag Leaf Length, (روز تا ۵۰ درصد گلدهی) FPF= Fifty Percent Flowering, (شکل دانه) GS= Grain Shape, (میزان آمیلوز) AC= Amylose Content, (دمای ژلاتینی شدن) GT= Gelatinization Temperature,

(میزان برنج سالم) HRR= Head Rice Recovery

ادامه جدول ۲
Table 2 Continued

ردیف No.	نشانهگر ریزوماهواره SSR marker	شماره کروموزوم No. of Chromosome	تعداد آلل مشاهده شده Observed No. alleles (Na)	تعداد آلل موثر Effective No. alleles (Ne)	میزان اطلاعات چندشکلی PIC	صفات گیاهی مرتبط با نشانهگر Plant Characteristics
27	RM 223	8	7	4.663	0.755	HGW, FGN, GY, FLL, PN, PH
28	RM 239	10	4	2.689	0.556	HGW, AC
29	RM 240	2	9	7.324	0.848	HGW, FFD, FGN, GY, HRR, FLL, PN, PH
30	RM 250	2	6	4.246	0.732	HGW, FFD, FGN, FLL, GY, PN
31	RM 252	4	7	3.421	0.676	HGW, FFD, FGN, GY, PN, PH
32	RM 253	6	8	4.347	0.737	HGW, AC, FGN, GT, GY, FLL
33	RM 255	4	5	3.144	0.633	HGW, FGN, GY, FLL, PH, PN
34	RM 257	9	6	3.725	0.689	HGW, GY, PN, PH
35	RM 258	10	8	6.281	0.822	HGW, PH
36	RM 262	2	7	4.107	0.725	HGW, FFD, FGN, GY, PN, PH
37	RM 276	6	13	9.154	0.791	GY
38	RM 283	1	7	5.409	0.789	HGW, AC, FGN, PN
39	RM 316	9	8	5.335	0.787	GT
40	RM 317	4	4	3.412	0.661	GY, PN, PH
41	RM 340	6	5	3.060	0.623	HGW, GY, FLL, PN, PH, FGN
42	RM 445	7	9	4.998	0.773	HGW
43	RM 475	2	7	3.712	0.701	HGW, FGN, PH, PN, GY
44	RM 484	10	8	5.022	0.775	HGW, GT, PH
45	RM 491	12	6	4.275	0.706	PH
46	RM 549	6	6	4.370	0.734	PL
47	RM 551	4	8	6.281	0.823	HGW
48	RM 592	5	10	7.149	0.845	GY
49	RM 3097	12	9	6.914	0.836	AC
50	RM 5371	6	7	5.828	0.806	AC
51	RM 5642	5	12	8.604	0.854	AC
52	W 2 R	6	7	4.795	0.824	AC

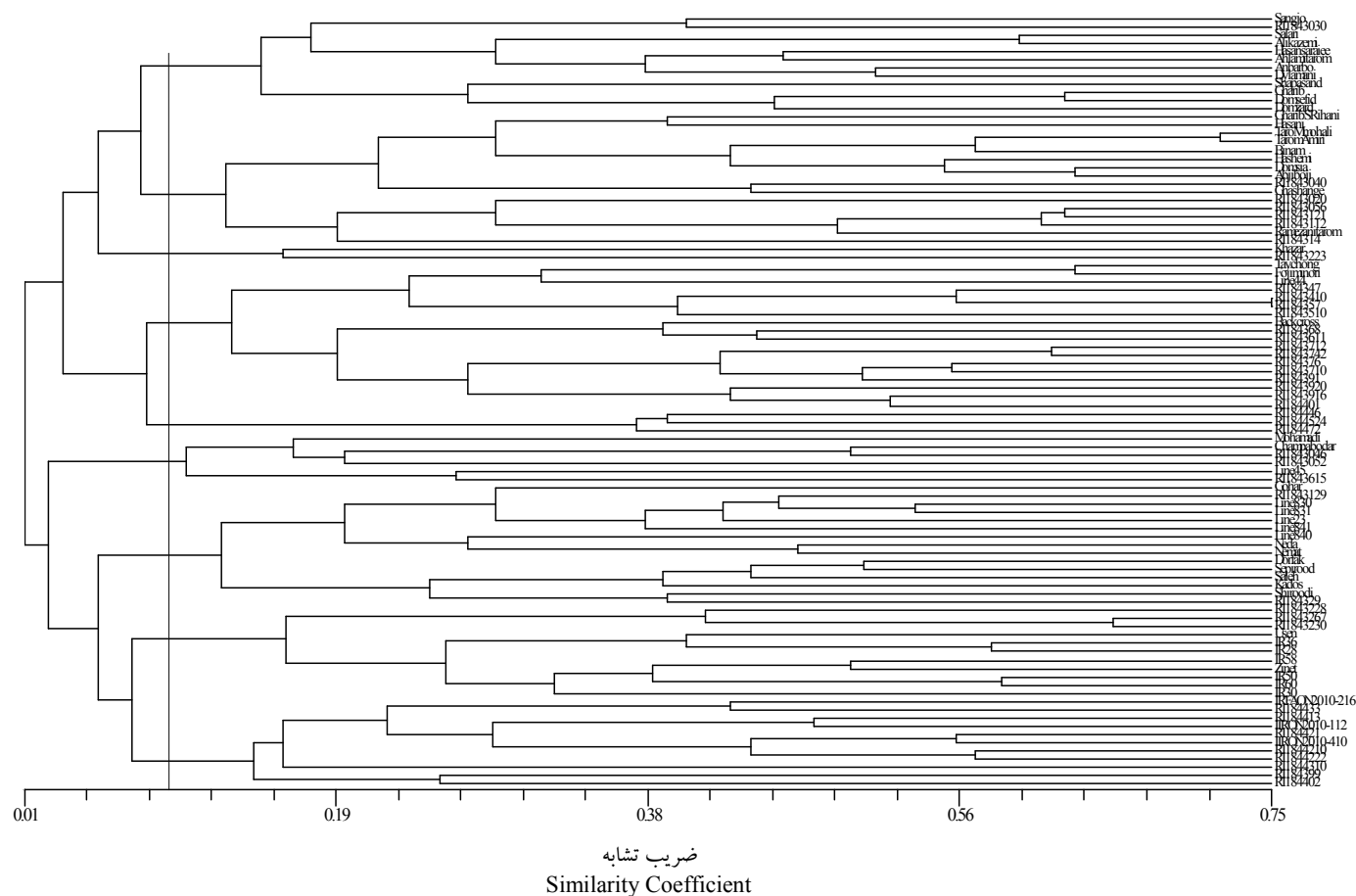
HGW=hundred Grain Weight, (وزن صد دانه)، FGN= Filled Grain Number, (تعداد خوشه در بوته)، PN= Panicle Number, (ارتفاع بوته)، PH= Plant Height, (عملکرد دانه)، GY= Grain Yield, (طول برگ پرچم)، FLL= Flag Leaf Length, (روز تا ۵۰ درصد گلدهی)، FPF= Fifty Percent Flowering, (شکل دانه)، GS= Grain Shape, (میزان آمیلوز)، AC= Amylose Content, (دمای ژلاتینی شدن)، GT= Gelatinization Temperature, (میزان برنج سالم)، HRR= Head Rice Recovery

۵۰ درصد گلدهی، طول برگ پرچم و تعداد خوشه در بوته از نظر ارزش اطلاعات چند شکل، بعد از نشانگر RM5642 بیشترین مقدار را نشان دادند. مقادیر بالای ارزش اطلاعات چند شکل در این آزمایش حاکی از آن است که نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با QTL‌های عملکرد و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دانه، چند شکلی بالایی داشته و برای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج مورد استفاده در این تحقیق در سطح DNA بسیار مناسب می‌باشند. در این آزمایش، تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na) در ۹۴ ژنوتیپ مختلف برنج بین ۱۳-۳ با متوسط ۷ آلل و تعداد آلل موثر (Ne) بین ۹/۱۵۴-۱/۶۸۹ با متوسط ۴/۷۵۰ آلل موثر بود.

امینی‌نسب و همکاران (Amininasab et al., 2012) با مطالعه تنوع ژنتیکی در ۲۰ رقم برنج با استفاده از ۱۹ نشانگر ریزماهواره پیوسته با ژن‌های کنترل کننده تحمل به خشکی گزارش نمودند که تمامی نشانگرها چندشکلی بالایی را نشان دادند و در مجموع تعداد ۱۴۲ آلل با میانگین ۷/۴۷ آلل در هر جایگاه ژنی را اعلام کردند. محتوای اطلاعات چندشکل بالا، تنوع زیاد و فراوانی آلل‌ها را در بین ارقام نشان می‌دهد، در واقع هر چه میزان اطلاعات چندشکل بالاتر باشد، تعداد آلل‌ها در هر مکان ژنی نیز بیشتر می‌شود. طبخ کار و همکاران (Tabakhkar et al., 2011) با مطالعه چهار گروه از ارقام برنج گزارش نمودند که ارقام وارداتی بالاترین (۰/۴۵) و ارقام آپلند پایین‌ترین (۰/۱۹) میزان محتوای اطلاعات چندشکل را داشتند. آنها همچنین این معیار تنوع در ارقام اصلاح شده ایرانی و محلی را به ترتیب برابر با ۰/۴۲ و ۰/۳۷ اعلام نمودند.

از مقایسه نتایج حاصل از روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای و ضرایب تشابه مختلف، در نهایت تجزیه خوشه‌ای به روش دورترین همسایه‌ها بر مبنای ضریب تشابه جاکارد به دلیل ارائه دندروگرام مناسب (بدون وجود زنجیره‌ای شدن)، همبستگی کوفتیک بالاتر و به خصوص گروه‌بندی مناسب و مطابق با

صفات مورفولوژیک و اطلاعات شجره‌نامه آنها، انتخاب شد که منجر به طبقه‌بندی ۹۴ ژنوتیپ برنج با مقدار تشابه بین ۰/۷۵-۰/۱۰۱ در ۹ گروه متفاوت گردید (شکل ۱). ضریب همبستگی کوفتیک بین ماتریس تشابه (ماتریس ورودی) حاصل از ضریب جاکارد و ماتریس خروجی حاصل از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۰/۹۴ بود. مقدار بالای ضریب همبستگی کوفتیک نشان می‌دهد که تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد بر اساس داده‌های بدست آمده از نشانگرهای ریزماهواره اختصاصی در گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی بسیار مناسب بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی با در نظر گرفتن گروه‌ها به عنوان تیمار و ژنوتیپ‌های درون هر گروه به عنوان تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی نشان داد که اختلاف بین جمعیت‌ها (گروه‌ها) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بوده و انتخاب گروه‌ها به درستی انجام شده است. به عبارت دیگر تنوع یا واریانس بین گروه‌ها بیشتر از واریانس درون گروه‌ها بود که نشان دهنده متفاوت بودن گروه‌ها از یکدیگر و مشابه بودن افراد درون هر گروه با هم بود (جدول ارائه نشده است). نتایج حاصل از گروه‌بندی نشان داد که گروه اول با دارا بودن ۱۲ رقم با متوسط عملکرد ۳۸۹۰ کیلوگرم در هکتار، وزن صدانه ۲/۵۵ گرم، تعداد دانه پر در خوشه ۱۰۰/۱۲ عدد و تعدادخوشه در بوته ۱۳/۴۷ عدد، جزء ارقام کم محصول به شمار آمده و به استثنای وزن صدانه، دارای اختلاف معنی‌داری نسبت به میانگین کل ژنوتیپ‌ها بودند. ارقام موجود در گروه اول با دارا بودن ارتفاع بوته ۱۵۲/۱۲ سانتی‌متر، روز تا ۵۰ درصد گلدهی ۹۳/۸۸ روز، طول برگ پرچم ۲۸/۵۷ سانتی‌متر و شکل دانه ۳/۶۹، جزء ژنوتیپ‌های بسیار پابلند با برگ‌های بلند و خمیده، دانه بلند و میان‌رس محسوب می‌شوند. ارقام تشکیل دهنده این گروه مانند علی کاظمی، حسن سرائی و دیلمانی، آمیلوز متوسط بوده و دارای میزان برنج سالم بیشتر و دانه خرد کمتری



شکل ۱- گروه بندی ژنوتیپ های برنج بر اساس نشانگرهای ریزوماهواره پیوسته با خصوصیات زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه

Fig.1. Grouping of rice genotypes based on SSR markers associated to agronomic and grain physico-chemical traits

هستند و دارای کیفیت پخت و خوراک خوبی بوده و بعد از پخت نرم باقی می‌مانند (جدول ۳). نشانگر RM1 با ۱۰۰ درصد نوار مشابه و نشانگرهای RM7، RM11، RM16، RM207 و RM208 با ۹۱/۷ درصد نوار مشابه، باعث تمایز این گروه از سایر گروه‌ها گردیدند که با QTL‌های صفات عملکرد و اجزای آن، ارتفاع بوته، طول برگ پرچم، میزان آمیلوز و میزان برنج سالم پیوسته بودند. گروه دوم حاصل از تجزیه خوشه‌ای شامل ۱۶ ژنوتیپ بود که ارقام حسنی، طارم محلی و هاشمی به همراه لاین‌های خالص نظیر RI1843040 حاصل از تلاقی صالح و هاشمی و RI184314 حاصل از تلاقی رقم صالح و آبجی‌بوجی در این گروه قرار گرفتند. کلیه ارقام بومی برنج ایرانی به استثنای دو رقم محمدی و چمپا بودار در دو گروه اول قرار داشتند. ارقام برنج ایرانی با داشتن شجره و زمینه یکسان از نظر ژنتیکی، شباهت زیادی با یکدیگر داشته و به همین دلیل تمامی آنها در گروه‌های نزدیک به هم قرار گرفتند. عملکرد دانه متوسط (۵۰۲۰ کیلوگرم در هکتار)، ارتفاع بوته بلند (۱۳۵/۴۶ سانتی متر)، روز تا ۵۰ درصد گلدهی (۸۷/۸۸ روز) و میزان آمیلوز متوسط (۲۱/۵۲ درصد) از خصوصیات ارقام تشکیل دهنده گروه دوم می‌باشد. ارقام تشکیل دهنده این گروه برای دو نشانگر RM125 و RM205 دارای ۱۰۰ درصد نوار مشابه بوده و برای نشانگرهای RM104، RM128، RM316 و RM340 میزان نوار مشابه مشاهده شده ۹۳/۷ درصد بود که با QTL‌های صفات عملکرد دانه و اجزای آن، ارتفاع بوته، طول برگ پرچم، میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن و میزان برنج سالم پیوسته بودند. در گروه سوم فقط رقم اصلاح شده خزر و ژنوتیپ RI1843223 (محمدی×صالح) با متوسط عملکرد دانه ۴۴۸۰ کیلوگرم در هکتار و ارتفاع بوته ۱۱۹/۰۸ سانتی متر قرار داشت. ژنوتیپ‌های موجود در این گروه از نظر دو نشانگر RM208 و RM549 پیوسته با QTL‌های عملکرد دانه، وزن صد دانه، تعداد دانه پر

در خوشه، ارتفاع بوته و طول خوشه دارای ۱۰۰ درصد نوار مشابه و یک‌شکل بودند. لاین‌های خالص شامل RI184347 و RI1843410 حاصل تلاقی بین صالح و حسنی، دو لاین خالص RI184357 و RI1843510 حاصل تلاقی بین صالح و اهلمی طارم به همراه لاین حاصل از تلاقی برگشتی بین رقم اصلاح شده صالح (والد دهنده) و رقم محلی آبجی‌بوجی (والد دوره‌ای) به انضمام چند لاین خالص دیگر، ارقام و لاین‌های گروه چهارم را تشکیل دادند. این ارقام با دارا بودن عملکرد ۵۲۴۰ کیلوگرم در هکتار، وزن صد دانه ۲/۷۰ گرم، تعداد دانه پر و خوشه بیشتر، از ارتفاع بوته کمتری برخوردار بودند که می‌توانند در دستیابی به ارقام مقاوم به خوابیدگی بوته با ظرفیت کودپذیری بالا مورد استفاده قرار گیرند. میان‌رس بودن، میزان آمیلوز متوسط و میزان برنج سالم بیشتر و خرد کمتر از دیگر خصوصیات مهم ژنوتیپ‌های این گروه می‌باشد (جدول ۳). از نشانگرهای اختصاصی که در تمایز این گروه نقش داشتند می‌توان به نشانگرهای RM3، RM7، RM205 و RM219 اشاره کرد که با QTL‌های کنترل کننده صفات عملکرد دانه، وزن صد دانه، ارتفاع بوته، دمای ژلاتینی شدن، میزان آمیلوز و میزان برنج سالم همبسته بوده و ارقام تشکیل دهنده این گروه از نظر نشانگرهای مذکور از ۱۰۰-۹۲/۸ درصد هم‌شکل بودند و باعث تفکیک این گروه از سایرین شدند. سه لاین خالص شامل RI184446، RI1844524 و RI184472 حاصل تلاقی رقم اصلاح شده سپیدرود با ارقام محلی در گروه پنجم واقع شدند که دارای عملکرد دانه و اجزای عملکرد متوسط و برگ‌های بلندی بوده و میان‌رس، آمیلوز متوسط و دارای میزان برنج خرد بالایی بودند. ارتفاع بوته مناسب و دانه بلندی این ارقام از صفاتی است که می‌تواند در دستیابی به ارقام پاکوتاه و دانه بلند مورد استفاده قرار گیرد. لاین‌های تشکیل دهنده این گروه برای سه نشانگر RM55، R2W و RM5371 همبسته با صفت میزان آمیلوز و دو نشانگر

جدول ۳ - میانگین خصوصیات مورفولوژیک و فیزیکوشیمیایی دانه در گروه‌های مختلف حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های برنج بر اساس نشانگرهای ریزماهواره

Table 3. Mean of morphologic and physico-chemical characteristics in different clusters of rice genotypes based on SSR markers

گروه‌بندی Clusters	عملکرد دانه GY	وزن صد دانه HGW	تعداد دانه پر در خوشه FGN	تعداد خوشه در بوته PN	روز تا ۵۰ درصد گلدهی FPF	ارتفاع بوته PH	شکل دانه GS	طول برگ پرچم FLL	میزان آمیلوز AC	دمای ژلاتینی شدن GT	میزان برنج سالم HRR	میزان برنج خرد BR
Cluster 1	3.89 ^{**}	2.55 ^{ns}	100.12 ^{**}	13.47 ^{**}	93.88 ^{ns}	152.12 ^{**}	3.69 [*]	28.57 ^{ns}	20.59 ^{**}	4.35 [*]	60.79 ^{**}	10.85 ^{**}
Cluster 2	5.02 ^{ns}	2.68 ^{ns}	124.92 ^{ns}	15.37 ^{ns}	87.88 ^{**}	135.46 [*]	3.88 ^{ns}	28.85 ^{ns}	21.52 ^{**}	4.93 ^{ns}	57.38 ^{ns}	13.26 ^{ns}
Cluster 3	4.48 [*]	2.72 [*]	117.39 ^{ns}	15.92 ^{ns}	96.00 ^{ns}	119.08 ^{ns}	3.88 ^{ns}	22.65 ^{**}	23.68 ^{ns}	5.70 ^{ns}	58.77 ^{ns}	11.34 ^{**}
Cluster 4	5.24 ^{ns}	2.70 ^{ns}	125.69 ^{ns}	16.81 ^{ns}	92.00 ^{ns}	113.99 ^{ns}	4.06 ^{ns}	29.36 ^{ns}	22.22 ^{ns}	6.14 [*]	55.94 ^{ns}	18.67 ^{**}
Cluster 5	4.55 ^{ns}	2.74 [*]	115.50 ^{ns}	16.33 ^{ns}	96.17 ^{ns}	120.20 ^{ns}	4.61 ^{**}	36.81 ^{**}	23.87 ^{ns}	4.47 [*]	56.58 ^{ns}	17.40 [*]
Cluster 6	5.23 ^{ns}	2.71 [*]	131.41 ^{ns}	16.17 ^{ns}	86.33 ^{**}	131.53 ^{ns}	3.76 ^{ns}	28.32 ^{ns}	23.33 ^{ns}	3.91 [*]	59.38 [*]	14.27 ^{ns}
Cluster 7	6.03 [*]	2.59 ^{ns}	138.18 ^{**}	20.46 ^{**}	98.69 [*]	109.97 [*]	4.50 ^{**}	25.48 ^{ns}	23.96 ^{ns}	5.91 ^{ns}	55.84 ^{ns}	13.53 ^{ns}
Cluster 8	5.66 [*]	2.57 ^{ns}	137.80 ^{**}	22.95 ^{**}	92.25 [*]	100.84 ^{**}	3.64 [*]	23.06 [*]	26.09 ^{**}	6.55 ^{**}	55.64 ^{ns}	16.56 ^{ns}
Cluster 9	5.27 ^{ns}	2.35 ^{**}	128.13 ^{ns}	18.45 ^{ns}	99.50 [*]	114.44 ^{ns}	4.30 ^{ns}	25.22 ^{ns}	23.54 ^{ns}	5.06 ^{ns}	54.44 ^{**}	16.81 ^{ns}
Mean	5.04	2.62	124.35	17.33	94.41	121.96	4.03	27.59	23.31	5.22	57.20	14.74

ns: Not significant

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد
 GY= Grain Yield, (وزن صد دانه), HGW=hundred Grain Weight, (تعداد دانه پر در خوشه), FGN= Filled Grain Number, (تعداد خوشه در بوته), PH= Plant Height, (ارتفاع بوته), PN= Panicle Number, (تعداد خوشه در بوته), GS= Grain Shape, (شکل دانه), FPF= Fifty Percent Flowering, (روز تا ۵۰ درصد گلدهی), FLL= Flag Leaf Length, (طول برگ پرچم), GT= Gelatinization Temperature, (دمای ژلاتینی شدن), AC= Amylose Content, (میزان آمیلوز), HRR= Head Rice Recovery, (میزان برنج سالم), BR= Broken Rice (میزان برنج خرد)

ns: غیرمعنی‌دار

RM240 RM283 و پیوسته با QTL های کنترل کننده خصوصیات عملکرد دانه و اجزای آن، طول برگ پرچم و ارتفاع بوته، ۱۰۰ درصد هم‌شکل بودند. شش رقم محمدی، چمپا‌بودار، دو لاین خالص RI1843046 و RI1843052 حاصل تلاقی بین دو رقم صالح و هاشمی، لاین ۴۵ (لاین زودرس، دانه متوسط و متحمل به سرما) و لاین خالص RI1843615 (حسن سرائی × صالح) ارقام تشکیل دهنده گروه ششم بودند. این ژنوتیپ‌ها، علیرغم داشتن خصوصیات مشابه ارقام محلی، به دلیل برخورداری از عملکرد دانه و میزان آمیلوز بالا که از مشخصه‌های مهم ارقام این گروه است، در گروهی جدا از طبقه ارقام محلی قرار گرفتند. زودرسی از شاخص‌ترین خصوصیات ژنوتیپ‌های این گروه است که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین این ژنوتیپ‌ها از نظر سه نشانگر R2W، RM168 و RM204 پیوسته با عملکرد دانه و اجزای آن، روز تا ۵۰ درصد گلدهی و میزان آمیلوز دارای ۱۰۰ درصد نوارهای مشابه و هم‌شکل بودند. نکته قابل توجه در این گروه‌بندی این است که تمامی ارقام و لاین‌های معرفی شده در سال‌های اخیر به استثنای رقم خزر در گروه هفتم واقع شده‌اند. داشتن خصوصیات مورفولوژیک مشابه، دلیل روشنی برای قرار گرفتن این ژنوتیپ‌ها در یک گروه می‌باشد. عملکرد دانه و اجزای عملکرد بالا، ارتفاع بوته مناسب و میزان آمیلوز بالا، میان‌رس تا دیررس بودن، شکل بلند دانه و بالا بودن میزان برنج خرد از خصوصیات بارز ارقام تشکیل دهنده این گروه می‌باشد. قرار گرفتن تمامی ارقام معرفی شده در یک گروه نشان می‌دهد که استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره همبسته با QTL های خصوصیات مورفولوژیک و فیزیکی دانه در تفکیک و شناسایی این ارقام نسبت به نشانگرهای مورفولوژیک که به شدت تحت تاثیر عوامل محیطی هستند، دارای کارآیی بیشتری می‌باشد که در این بین می‌توان به نشانگرهای RM107، RM255 و RM262 اشاره نمود که

با عملکرد دانه و اجزای آن، ارتفاع بوته، طول برگ پرچم و روز تا ۵۰ درصد گلدهی پیوسته بوده و ژنوتیپ‌های موجود در این گروه دارای ۹۳/۸ درصد نوار یک شکل برای سه نشانگر مذکور بودند. کلیه ارقام و لاین‌های خارجی با منشاء فیلیپین شامل IR36، IR28، IR58، IR50، IR60 و IR30 به همراه دو لاین زنیت و یوسن با منشاء مصر و دو لاین خالص و اصلاح شده RI1843267 و RI1843230 حاصل از تلاقی دو رقم صالح و محمدی در گروه هشتم واقع شدند. عملکرد بالا و پاکوتاهی به همراه میزان آمیلوز و میزان برنج خرد بالا از خصوصیات مثبت و منفی این ژنوتیپ‌ها به شمار می‌آید که می‌تواند در مواقع لزوم مورد استفاده اصلاح‌گران قرار گیرد. ژنوتیپ‌های تشکیل دهنده این گروه از نظر سه نشانگر RM125، RM205 و RM253 کاملاً هم‌شکل بوده (۱۰۰ درصد) و نوارهای مشابهی را نشان دادند. سه لاین وارداتی IRFAON-216، IRON-112 و IRON-421 با منشاء فیلیپین، به انضمام لاین‌های خالص RI184413 (هاشمی × سپیدرود)، RI184421، RI1844210 و RI1844222 حاصل تلاقی بین ارقام سپیدرود و حسن سرائی، RI184433 و RI1844310 حاصل تلاقی بین ارقام سپیدرود و محمدی و دو لاین خالص RI184399 (غریب × صالح) و RI184402 (آبجی‌بوجی × سپیدرود) در گروه نهم واقع شدند. متوسط بودن میزان آمیلوز و عملکرد دانه به همراه ارتفاع بوته مناسب و شکل دانه بلند از صفات بارز ارقام این گروه می‌باشد. لاین‌های تشکیل دهنده این گروه برای سه نشانگر RM208، RM262 و RM340 همبسته با QTL های کنترل کننده خصوصیات عملکرد دانه و اجزای آن، طول برگ پرچم و ارتفاع بوته، ۱۰۰ درصد هم‌شکل بودند.

طبخ کار و همکاران (Tabakhkar et al., 2012) به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی در ارقام بومی و اصلاح شده برنج با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره

جدول ۴ – میزان ضریب تشابه و درصد چندشکلی بین ژنوتیپ‌های برنج انتخابی به عنوان والدین تلاقی‌ها بر اساس نشانگرهای ریزماهواره همبسته با خصوصیات مهم زراعی

Table 4. Similarity coefficient and polymorphism percent among selected rice genotypes as parents based on SSR markers associated with agronomic traits

ژنوتیپ‌های برنج Rice genotypes	طارم محلی Tarom Mohali	(هاشمی × صالح) RI1843046	لاین ۲۳ Line 23	(محمدی × صالح) RI184329	لاین ۵۰ IR50	آبجی بوجی / (آبجی بوجی × صالح) Backcross	(حسن سرائی × سپیدرود) RI184421	(غریب × سپیدرود) RI184472
Daylamni	0.544 (58.5)	0.244 (76)	0.213 (80.7)	0.283 (74.5)	0.044 (92.2)	0.200 (82)	0.234 (78.8)	0.200 (81.6)
Tarom Mohali		0.159 (81.6)	0.196 (82.4)	0.333 (70)	0.209 (84)	0.296 (73.5)	0.152 (86.3)	0.136 (85.4)
RI1843046			0.178 (82)	0.091 (91.8)	0.161 (79.6)	0.233 (77.1)	0.111 (88)	0.139 (87.2)
Line 23				0.130 (88.2)	0.264 (74.5)	0.067 (92)	0.191 (78.8)	0.089 (89.8)
RI184329					0.180 (80)	0.386 (59.2)	0.152 (86.3)	0.227 (77.1)
IR50						0.207 (77.6)	0.198 (80.4)	0.069 (93.8)
Backcross							0.267 (70)	0.302 (68.1)
RI184421								0.289 (71.4)

The numbers in parenthesis show polymorphism percent

اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد چندشکلی هستند

همبسته با ژن‌های کنترل کننده صفات کیفی دانه، تعداد ۴۸ لاین اصلاح شده و بومی برنج را با استفاده از روش UPGMA و ضریب تطابق ساده در چهار گروه طبقه‌بندی نمودند، به‌طوری‌که ارقام محلی خوش کیفیت در گروهی جداگانه قرار گرفتند. آنها اعلام نمودند که نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های کنترل کننده صفات کیفی دانه ابزار مناسبی برای شناسایی و پیش‌بینی کیفیت ارقام برنج به خصوص در نسل‌های در حال تفکیک در برنامه‌های اصلاحی است. در این بررسی نیز قرار گرفتن لاین‌ها و واریته‌های با جد مشترک در گروه‌های مشابه، بیانگر موثر بودن نشانگر مولکولی ریزماهواره همبسته با QTL‌های خصوصیات زراعی و مرتبط با کیفیت پخت دانه در ارزیابی تنوع ژنتیکی برنج بود. بدین ترتیب تعداد ۹ رقم شامل رقم دیلمانی با توجه به عملکرد دانه و اجزای عملکرد پایین، پابندی، کیفیت پخت مطلوب و میزان برنج سالم بالا از گروه اول، رقم طارم محلی با توجه به زودرسی، پابندی و کیفیت پخت و میزان برنج سالم بالا از گروه دوم، لاین RI1843223 (محمدی × صالح) با توجه به ارتفاع بوته متوسط، طول برگ کوتاه و دمای ژلاتینی بالا از گروه سوم، لاین حاصل از تلاقی برگشتی بین دو رقم صالح و آجی‌بوجی با توجه به پاکوتاهی، شکل بلند دانه و عملکرد دانه متوسط از گروه چهارم، لاین RI184472 (غریب × سپیدرود) با توجه به ارتفاع بوته بالا، شکل دانه بلند و میزان آمیلوز بالا از گروه پنجم، لاین RI1843046 (هاشمی × صالح) با توجه به زودرسی از گروه ششم، لاین ۲۳ با توجه به عملکرد دانه و اجزای عملکرد بالا و ارتفاع بوته مناسب از گروه هفتم، لاین IR50 با توجه به عملکرد دانه بالا، پاکوتاهی و میزان آمیلوز بالا از گروه هشتم و لاین RI184421 (حسن سرائی × سپیدرود) با توجه به وزن صد دانه پایین، دیررسی، پاکوتاهی و میزان آمیلوز بالا از گروه نهم، به عنوان والدین تلاقی‌ها انتخاب گردیدند. انتخاب ارقام والدینی بر اساس خصوصیات

مثبت و منفی آنها جهت فراهم نمودن تلاقی‌های مکمل به منظور ایجاد تنوع بیشتر صورت می‌گیرد. بررسی ضرایب تشابه محاسبه شده بین ارقام انتخابی برای استفاده در برنامه اصلاحی نشان داد که میزان تشابه ارقام با یکدیگر بسیار پائین بوده و انتظار می‌رود که پس از تلاقی‌های لازم، تفرق لازم از نظر خصوصیات مهم زراعی در جمعیت‌های اصلاحی که لازمه گزینش است، بروز نماید. تنها دو رقم محلی دیلمانی و طارم محلی انتخابی از دو گروه اول و دوم بیشترین شباهت (۰/۵۴۵) را در میان ارقام انتخابی با یکدیگر داشتند و به تبع آن درصد چندشکلی کمتری (۵۸/۵ درصد) را نشان دادند. کمترین میزان شباهت بین دو رقم دیلمانی با لاین IR50 (۰/۰۴۴) بود که درصد چندشکلی بالایی (۹۲/۲ درصد) را نشان دادند (جدول ۴). این دو رقم از نظر اکثر نشانگرها چندشکل بوده و بنابراین انتظار می‌رود که نتایج حاصل از آنها از تنوع بیشتری برخوردار باشند. همچنین برآورد درصد چندشکلی براساس نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده نیز حاکی از بالا بودن چندشکلی بین آنها بوده و پیش‌بینی می‌شود که در بین نتایج حاصل از این ارقام به عنوان والدین تلاقی‌ها، تنوع لازم برای اصلاح هدفمند خصوصیات مهم زراعی و فیزیکی‌شیمیائی دانه بروز نماید. از آنجائیکه گروه‌بندی ارقام مورد بررسی بر اساس نشانگرهای ریزماهواره اختصاصی و همبسته با ژن‌های کنترل کننده صفات مهم صورت گرفته است، می‌توان از روش انتخاب به کمک نشانگر نسبت به گزینش هدفمند لاین‌های واجد صفت یا صفات مورد نظر به منظور تولید ارقام اصلاحی جدید با عملکرد و کیفیت پخت مناسب و مقاوم به خوابیدگی با طول دوره رشد مناسب، بهره‌برداری نمود. به کمک نشانگرهای اختصاصی هر گروه، امکان شناسایی ارقام و لاین‌های مشابه هر گروه نیز فراهم می‌گردد که می‌تواند در مواقع لزوم مورد استفاده قرار گیرد.

References

- Akagi, H., Y. Yokozeki, A. Inagaki and T. Fujimura. 1997.** Highly polymorphic microsatellites of rice consist of AT repeats, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. *Theor. Appl. Genet.* 94: 61–67.
- Allahgholipour, M., A. Moumeni, M. Nahvi, M. Yekta and S. S. Zarbafi. 2012.** Identification of parental combinations for improvement of rice grain quality, yield and yield components in rice. *Cereal Res.* 1 (1): 1-10. (In Persian with English abstract).
- Amininasab, R., M. A. Ebrahimi, A. A. Ebadi and M. Ghodsi. 2012.** Study of genetic variation in Iranian rice (*Oryza sativa* L.) varieties by using molecular markers linked with drought resistance genes. *Crop Biotechnol.* 2 (2): 15-27. (In Persian with English abstract).
- Arias, R. S., L. L. Ballard, B. E. Scheffler. 2009.** UPIC: Perl scripts to determine the number of SSR markers to run. *Bioinformation* 3(8): 352-360.
- Bar-Hen, A., A. Charcosset, M. Bourgoïn and J. Guiard. 1995.** Relationship between genetic markers and morphological traits in a maize inbred lines collection. *Euphytica* 84: 145-154.
- Bernardo, R. 2001.** Breeding potential of intera and interheterotic group crosses in maize. *Crop Sci.* 41: 68-71.
- Chen, X., S. Temnykh, Y. Xu, Y. G. Cho and S. R. McCouch. 1997.** Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 95: 553-567.
- Das, B., S. Sengupta, M. Ghosh and T. K. Ghose. 2012.** Assessment of diversity among a set of aromatic rice genotypes from India. *Int. J. Biodivers. Conserv.* 4(5): 206-218.
- Don, R. H., P. T. Cox, B. J. Wainwright and J. S. Mattick. 1991.** Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acid Res.* 19: 4008-4009.
- Hamrick, J. L. and M. J. W. Godt. 1997.** Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Sci.* 37: 26-30.
- IRRI, 1996.** Standard Evaluation System for rice. International of Rice Research Institute. Philippines.
- Jain, S., R. K. Jain and S. R. McCouch. 2004.** Genetic analysis of Indian aromatic and quality rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using panels of fluorescently-labeled microsatellite Markers. *Theor. Appl. Genet.* 109: 965–977.
- Kamoshita, A and R. C. Babu. 2008.** Phenotypic and genotypic analysis of drought resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field Crops Res.* 109: 1-23.
- McCouch, S. R., L. Teytelman, Y. Xu, K. B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein. 2002.** Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res.* 9: 199-207.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant. *Nucleic Acids Res.* 8: 4321-4325.

- Rohlf, F. J. 2000.** NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. Exeter Publications, New York, USA.
- Sheng-jun, W., L. Zuo-mei and W. Jian-min. 2006.** Genetic diversity among parents of hybrid rice based on cluster analysis of morphological traits and simple sequence repeat markers. *Rice Sci.* 13(3): 155-160.
- Smith, J. S. C., S. Paszkiewicz, O. S. Smith and J. Schaffer. 1987.** Electrophoretic, chromatographic and genetic techniques for identifying associations and measuring genetic diversity among corn hybrids: 187-203. In *Proc. 42nd Annual Corn and Sorghum Research Conference*. Chicago, IL. American Seed Trade Association, Washington, DC, USA.
- Smith, J. S. C., S. Kresovich, M. S. Hopkins, S. Mitchell, R. E. Dean, W. L. Woodman, M. Lee and K. Porter. 2000.** Genetic diversity among elite sorghum inbred lines with simple sequence repeats. *Crop Sci.* 40(1): 226-232.
- Suh, H. S., Y. I. Sato and H. Morishima. 1997.** Genetic characterization of weedy rice (*Oryza sativa* L.) based on morpho-physiology, isozymes and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 94: 316-321.
- Tabakhkar, N., B. Rabiei and A. Sabouri. 2011.** Evaluation allele frequency and polymorphism of microsatellite markers linked to gene loci controlling rice grain quality. *Iran. J. Field Crop Sci.* 42 (3): 495-507. (In Persian with English abstract).
- Tabakhkar, N., B. Rabiei and A. Sabouri. 2012.** Genetic diversity of rice cultivars by microsatellite markers tightly linked to cooking and eating quality. *Austr. J. Crop Sci.* 6 (6): 980-985.
- Temnykh, S., W. D. Park, N. Ayres, S. Cartinhour, N. Hauck, L. Lipovich, Y. G. Cho, T. Ishii and S. R. McCouch. 2000.** Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.* 100: 697-712.
- Xi, Z. Y., F. H. He, R. Z. Zeng, Z. M. Zhang, X. H. Ding, W. T. Li and G. Q. Zhang. 2008.** Characterization of donor genome contents of backcross progenies detected by SSR markers in rice. *Euphytica* 160: 369-377.
- Yeh, F. C., R. C. Yang and T. J. B. Boyle. 1999.** Microsoft Window-based freeware for population genetic analysis (POPGENE), version 1.31.
- Zheng, B. and L. Yang. 2008.** Mapping QTLs for morphological traits under two water supply conditions at the young seedling stage in rice. *Plant Sci. J.* 175: 767-776.

Evaluation of molecular diversity in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using microsatellite markers linked with agronomic and grain physico-chemical characteristics

Allahgholipour, M¹., E. Farshadfar² and B. Rabiei³

ABSTRACT

Allahgholipour, M., E. Farshadfar and B. Rabiei. 2014. Evaluation of molecular diversity in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using microsatellite markers linked with agronomic and grain physico-chemical characteristics. **Iranian Journal of Crop Sciences**. 15(4): 337-354. (In Persian).

Ninety-four rice genotypes were evaluated for genetic diversity using 52 rice SSR markers linked with some important agronomic and grain quality characteristics which well distributed on 12 chromosomes of rice. The total number of polymorphic alleles was 361 alleles with the average of 4.750 alleles per SSR locus. Results revealed that some markers such as RM276 and RM5642 on chromosome 6 and RM14 and RM1 on chromosome 1 have more than 9 observed alleles. The highest and lowest PIC values were observed for primers RM5642 (0.854) and RM207 (0.515), respectively. Cluster analysis using complete linkage method based on Jaccard similarity coefficient for molecular data showed that all genotypes were classified in nine clusters. Nine cultivars/lines from different cluster including Daylamani, Tarommohali, Line 23, RI1843046 (Saleh×Hashemi), RI1843223 (Saleh×Mohamadi), IR50, Back cross line [(Saleh×Abjiboji) ×Abjiboji], RI184421 (Sepidrod×Hassansaraiee) and RI184472 (Sepidrod×Gharib) were selected as parents to be used in rice breeding programs. The similarity coefficient was very low among the selected parental cultivars/lines. Therefore, high diversity in breeding populations is expected by using these selected cultivars/lines as parents of crosses for improvement of important agronomic and physico-chemical characteristics. Marker assisted selection as a powerful technique can be used for development of the new rice cultivars because these parental cultivars/lines were recognized by some SSR markers linked with QTLs for agronomic and grain quality characteristics.

Key words: Cluster analysis, Molecular diversity, Rice, Similarity coefficient and SSR markers.

Received: August, 2013 Accepted: December, 2013

1- Ph.D Student, Razi University, Kermanshah, Iran, and Faculty member of Rice Research Institute of Iran, Rasht, Iran (Corresponding author) (Email: alahgholipour@yahoo.com)

2- Professor, Razi University, Kermanshah, Iran

3- Professor, University of Guilan, Rasht, Iran