مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۲، شماره ۳، ۱۳۹۰ (۵۰۷-۴۹۵)

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

نرجس طبخ‌کار[1]، بابک ربیعی[2]* و عاطفه صبوری[3]
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان
(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۶ - تاریخ تصویب: ۹۰/۲/۲۸)

چکیده

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

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

مقدمه

کیفیت دانه برنج یک خصوصیت پیچیده و شامل کیفیت ظاهری، کیفیت تبدیل و کیفیت پخت و خوراک است. صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج، اهمیت زیادی در کشورهای مصرف‌کننده برنج دارند، به‌طوری که ارزش اقتصادی و قیمت ارقام مختلف را تعیین می‌کنند و نقش اصلی را در پذیرش ارقام جدید در بین مصرف‌کنندگان دارند (Fitzgerald et al., 2008). صفات کیفی دانه می‌توانند به آسانی با انتخاب لاین‌های والدینی مناسب به ارقام هیبرید منتقل شوند (Verma & Srivastava, 2005)، به‌طوری که اگر لاین‌های والدینی به دقت انتخاب شوند، ارقام هیبرید نیز می‌توانند کیفیتی به خوبی ارقام بومی داشته باشند (Virmani et al., 2003). انتخاب والدین از مناطق

* نویسنده مسئول: بابک ربیعی تلفن: ۰۹۱۱-۱۳۷۷۹۴۴ E-mail: rabiei@guilan.ac.ir

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

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

در بررسی تنوع ژنتیکی بین سه گروه برنج سنتی باسماتی، اصلاح‌شده باسماتی و خارجی با استفاده از دو گروه نشانگر SSR و ISSR، تنوع بین ارقام بومی هندی کمتر از دو گروه دیگر عنوان شد و اینطور تحلیل گردید که احتمالاً ارقام بومی مطالعه‌شده دارای اجداد مشترک بوده‌اند (Nagaraju et al., 2002). در آزمایشی که با استفاده از ۱۱۱ نشانگر SSR انجام شد، تنوع ژنتیکی بین یک مجموعه متفاوت از ژرم‌پلاسم برنج مطالعه گردید (Ni et al., 2002). در مجموع ۷۵۳ آلل با میانگین ۶/۸ آلل در هر مکان شناسایی شد و ارقام ژاپونیکا در مقایسه با ایندیکا تنوع ژنتیکی بیشتری نشان دادند. کلیه تجزیه‌ها تنها با ۳۰ نشانگر ریزماهواره نیز انجام شد و نتایج مشابه‌ای به‌دست آمد. این محققین پیشنهاد نمودند که با تعداد نشانگر نسبتاً کمتر نیز می‌توان تنوع ژنتیکی را برآورد نمود و ارقام را از هم تفکیک نمود (Ni et al., 2002). در مطالعه فراوانی آللی ارقام ایرانی با نشانگرهای آیزوزایم گزارش شد که ارقام ایرانی در مقایسه با برنج‌های آسیایی شاخص تنوع و فراوانی آللی بیشتری دارند (Mirdarikvand et al., 2003). در آزمایشی تنوع و شباهت ژنتیکی بین ۵۶ رقم برنج بومی با استفاده از دو نشانگر AFLP و ISSR بررسی شد. هر دو نشانگر سطح چندشکلی بالایی داشتند و دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ارقام بومی و اصلاح‌شده را به وضوح از هم تفکیک نمود (Bao et al., 2006).

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

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

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

استخراج DNA ژنومی و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)

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

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

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

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

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

انتخاب نشانگرها

با بررسی منابع و جستجو در پایگاه اطلاعات ژنتیکی گرامنه (http://www.gramene.org/microsat/ssr.html) تعداد ۲۷ جفت نشانگر ریزماهواره که با QTLهای کنترل‌کننده خصوصیات اصلی تعیین‌کننده کیفیت دانه یعنی کیفیت ظاهری، کیفیت تبدیل و کیفیت پخت و خوراک پیوستگی بالایی داشتند، انتخاب شدند (جدول۲). کلیه نشانگرها، پس از تهیه توالی بازی آنها توسط شرکت MWG-Biotech آلمان سنتز و خریداری شدند.

الکتروفورز و رنگ‌آمیزی

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

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

منشأ	ژنوتیپ	منشأ	ژنوتیپ	منشأ	ژنوتیپ	منشأ	ژنوتیپ
	اصلاح‌شده IRRI	ایران	گیل۱	ایران	سنگ‌جو		بومی ایرانی
ایری	IR24	ایران	گیل۳	ایران	سالاری	ایران	دم‌سفید
ایری	IR28	ایران	کادوس	ایران	غریب سیاه ریحانی	ایران	دم‌زرد
ایری	IR30	ایران	شفق	ایران	هاشمی	ایران	دم‌سرخ
ایری	IR36	ایران	ساحل	ایران	عنبربو	ایران	دم‌سیاه
ایری	IR50	ایران	فجر	ایران	حسن‌سرایی	ایران	سنگ‌طارم
ایری	IR60	ایران	لاین ۶	ایران	علی‌کاظمی	ایران	طارم‌محلی
ایری	IR64	ایران	سپیدرود	ایران	غریب	ایران	طارم‌دیلمانی
	آپلند	ایران	ندا	ایران	دیلمانی	ایران	طارم‌منطقه
سوریه	Diwani	ایران	خزر		اصلاح‌شده ایرانی	ایران	حسنی
هندوستان	Vandana	ایران	بهار	ایران	صالح	ایران	چمپابودار
امریکا	New Bonnet	ایران	نعمت	ایران	مهر	ایران	بینام
		ایران	بجار	ایران	دشت	ایران	شاه‌پسند

جدول ۲- مشخصات نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با خصوصیات کیفی دانه برنج

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

تجزیه و تحلیل آماری

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

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

$$P_i = n_i \times n_t^{-1} \quad (۱$$

در این رابطه n_i و n_t به ترتیب تعداد افراد دارای آلل مورد نظر و تعداد کل افراد (نمونه‌ها) می‌باشند. میزان اطلاعات چند شکل یا PIC، (Polymorphism information content) برای کلیه ارقام از رابطه زیر به‌دست آمد (Botstein et al., 1980):

$$PIC=1-\sum_{i=1}^{n}p_i^{2}-2\sum_{i=1}^{n-1}\sum_{j=i+1}^{n}p_i^2p_j^2 \quad (۲$$

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

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

نمونه‌ها است، از رابطه زیر به‌دست آمد:

$$H = -\sum_{i}^{k} P_i \ln P_i \quad (۳$$

در این رابطه P_i فراوانی آلل iام و k تعداد کل آلل‌های مشاهده شده در آن مکان ژنی است. به منظور تجزیه اطلاعات چندشکلی از نرم‌افزارهای PowerMarker نسخه ۳/۲۵ (Liu & Muse, 2005) و POPGENE نسخه ۱/۳۲ (Yeh & Boyle, 1997) استفاده شد. تشابه ژنتیکی بین ارقام با روش تطابق ساده (Sokal & Michener, 1958) محاسبه شد و برای گروه‌بندی ارقام از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و نرم‌افزار NTSYS-pc نسخه ۲/۰۲ ((Rohlf, 1999)) استفاده گردید. همچنین فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها با استفاده از روش نی (Nei, 1987) برآورد شد.

نتایج و بحث

شاخص تنوع شانن

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

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

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

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

محتوی اطلاعات چندشکل (PIC)

محتوی اطلاعات چندشکل یکی از معیارهای ارزیابی قدرت تمایز نشانگرها بوده و معیار دقیق‌تری نسبت به میزان تنوع هر ژن می‌باشد که مستقل از تعداد نمونه مورد مطالعه است (Botstein et al., 1980). کمترین میزان PIC برای نشانگر RM211 با مقدار ۰/۱۹ و بیشترین مقدار آن برای نشانگر RM276 با میزان معادل ۰/۷۷ به‌دست آمد و این در حالی بود که میانگین اطلاعات چندشکل برای کل ارقام و نشانگرهای مورد مطالعه ۰/۵۴ برآورد شد (جدول ۳). Bounphanousay et al. (2008) میانگین PIC را ۰/۴۴ برآورد نمودند که از ۰/۱۷ تا ۰/۷۶ متغیر بود. در جمعیت مورد مطالعه Luan et al. (2008) نیز میانگین PIC، ۰/۳۳۹ گزارش شد که در هر دو مورد کمتر از مقدار به‌دست آمده در این مطالعه بود، اما Lapitan et al. (2007) با میانگین ۰/۶۸ مقدار PIC بالاتری را در ارقام با کیفیت ونزوئلا مشاهده نمودند. همچنین برآورد شاخص PIC برای ۴ گروه ارقام مورد مطالعه نشان داد که ارقام IRRI بالاترین و ارقام آپلند پایین‌ترین میزان PIC (به ترتیب ۰/۴۵ و ۰/۱۹) را داشتند. همچنین مقدار PIC در ارقام اصلاح‌شده ایرانی و بومی نیز به ترتیب برابر با ۰/۴۲ و ۰/۳۷ بود. به این ترتیب به نظر می‌رسد تنوع بسیار خوبی در بین ارقام IRRI و ارقام اصلاح‌شده ایرانی وجود دارد و از آنجایی که نشانگرهای ریزماهواره مطالعه شده در این تحقیق، نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده خصوصیات کیفی دانه بودند، بنابراین تنوع فوق نشان‌دهنده تنوع بین این ارقام از نظر کیفیت دانه بوده و می‌توان از آن برای اصلاح کیفیت دانه در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود.

فراوانی آللی

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

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

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

ادامه جدول ۴

نشانگر	شماره آلل	اندازه آلل	فراوانی آللی (درصد)				
			میانگین ژنوتیپ‌ها	بومی	اصلاح‌شده ایرانی	IRRI	آپلند
RM253	۴	۱۳۰	۱۵	۲۹/۴۱	۰	۱۶/۶۷	۰
	۵	۱۳۳	۲۷/۵	۵۸/۸۲	۷/۱۴	۰	۰
	۶	۱۳۸	۱۵	۰	۲۸/۵۷	۱۶/۶۷	۳۳/۳۴
	۷	۱۴۱	۳۰	۰	۵۷/۱۴	۶۶/۶۷	۰
RM276	۱	۹۳	۴/۳۵	۰	۶/۲۵	۰	۳۳/۳۴
	۲	۱۰۶	۲۸/۲۶	۰	۶۸/۷۵	۲۸/۵۷	۰
	۳	۱۰۸	۶/۵۲	۵	۰	۰	۶۶/۶۷
	۴	۱۰۹	۶/۵۲	۱۰	۶/۲۵	۰	۰
	۵	۱۱۰	۲/۱۷	۰	۰	۱۴/۲۸	۰
	۶	۱۱۲	۶/۵۲	۱۵	۰	۰	۰
	۷	۱۱۴	۲۸/۲۶	۶۰	۶/۲۵	۰	۰
	۸	۱۳۴	۲/۱۷	۵	۰	۰	۰
	۹	۱۴۵	۱۵/۲۲	۵	۱۲/۵	۵۷/۱۴	۰
RM314	۱	۱۱۱	۱۷/۳۹	۴/۷۶	۳۳/۳۴	۲۸/۵۷	۰
	۲	۱۲۱	۳۹/۱۳	۹/۵۲	۶۰	۵۷/۱۴	۱۰۰
	۳	۱۲۸	۴۳/۴۸	۸۵/۷۱	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۰
RM584	۱	۱۳۵	۲۹/۷۹	۴۷/۶۱	۶/۲۵	۱۴/۲۸	۶۶/۶۷
	۲	۱۴۷	۳۴/۰۴	۴۷/۶۱	۲۵	۱۴/۲۸	۳۳/۳۴
	۳	۱۶۰	۲/۱۳	۰	۶/۲۵	۰	۰
	۴	۱۶۹	۳۴/۰۴	۴/۷۶	۶۲/۵	۷۱/۴۳	۰
RM418	۱	۱۴۶	۴/۳۵	۰	۰	۰	۶۶/۶۷
	۲	۲۴۰	۲/۱۷	۰	۶/۶۷	۰	۰
	۳	۲۷۱	۸/۷	۴/۷۶	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۳۳/۳۴
	۴	۲۸۲	۸۲/۶۱	۹۵/۲۴	۸۰	۸۵/۷۱	۰
	۵	۲۹۳	۲/۱۷	۰	۶/۶۷	۰	۰
RM501	۱	۱۵۸	۴۶/۶۷	۵/۲۶	۸۷/۵	۴۲/۸۶	۱۰۰
	۲	۱۶۵	۴۴/۴۴	۷۳/۶۹	۱۲/۵	۵۷/۱۴	۰
	۳	۱۷۰	۸/۸۹	۲۱/۰۵	۰	۰	۰
RM542	۱	۹۴	۴۸/۸۹	۵	۸۰	۸۵/۷۱	۱۰۰
	۲	۹۷	۲/۲۲	۵	۰	۰	۰
	۳	۱۱۵	۱۱/۱۱	۲۵	۰	۰	۰
	۴	۱۲۷	۳۷/۷۸	۶۵	۲۰	۱۴/۲۸	۰
RM42	۱	۱۶۸	۴۳/۴۸	۸۵/۷۱	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۰
	۲	۱۷۱	۵۶/۵۲	۱۴/۲۸	۹۳/۳۴	۸۵/۷۱	۱۰۰
RM502	۱	۲۶۱	۵۵/۵۶	۱۵	۸۶/۶۷	۸۵/۷۱	۱۰۰
	۲	۲۷۰	۴۴/۴۴	۸۵	۱۳/۳۴	۱۴/۲۸	۰
RM328	۱	۱۸۰	۴۴/۴۴	۱۰	۶۰	۸۵/۷۱	۱۰۰
	۲	۱۸۸	۵۵/۵۶	۹۰	۴۰	۱۴/۲۸	۰
RM228	۱	۱۴۰	۶۲/۸۶	۷۳/۳۴	۵۸/۳۴	۳۳/۳۴	۱۰۰
	۲	۱۴۷	۱۱/۴۳	۰	۲۵	۱۶/۶۷	۰
	۳	۱۵۲	۱۱/۴۳	۱۳/۳۴	۸/۳۴	۱۶/۶۷	۰
	۴	۱۶۰	۸/۵۷	۱۳/۳۴	۸/۳۴	۰	۰
	۵	۱۹۰	۵/۷۱	۰	۰	۳۳/۳۴	۰

ادامه جدول ۴

نشانگر	شماره آلل	اندازه آلل	فراوانی آللی (درصد)				
			میانگین ژنوتیپ‌ها	بومی	اصلاح‌شده ایرانی	IRRI	آپلند
RM311	۱	۱۶۴	۴/۲۶	۹/۵۲	۰	۰	۰
	۲	۱۶۸	۴۶/۸۱	۷۶/۱۹	۲۵	۱۴/۲۸	۳۳/۳۴
RM311	۳	۱۷۲	۱۲/۷۷	۴/۷۶	۲۵	۱۴/۲۸	۰
	۴	۱۸۳	۲۳/۴	۴/۷۶	۴۳/۷۵	۱۴/۲۸	۶۶/۶۷
	۵	۱۸۷	۸۵/۱	۰	۶/۲۵	۴۲/۸۸	۰
	۶	۱۹۰	۴/۲۶	۴/۷۶	۰	۱۴/۲۸	۰
RM202	۱	۱۶۵	۱۷/۳۹	۰	۴۳/۷۵	۱۴/۲۸	۰
	۲	۱۶۸	۶/۵۲	۱۰	۶/۲۵	۰	۰
	۳	۱۷۴	۱۷/۳۹	۴۰	۰	۰	۰
	۴	۱۷۷	۴۱/۳	۴۰	۵۰	۲۸/۵۷	۳۳/۳۴
	۵	۱۸۳	۱۷/۳۹	۱۰	۰	۵۷/۱۴	۶۶/۶۷
RM229	۱	۱۱۹	۲۰	۲۵	۱۳/۳۴	۲۸/۵۷	۰
	۲	۱۲۱	۴/۴۴	۰	۶/۶۷	۱۴/۲۸	۰
	۳	۱۲۳	۳۱/۱۱	۵۰	۲۰	۱۴/۲۸	۰
	۴	۱۲۴	۳۱/۱۱	۵	۵۳/۳۴	۴۲/۸۶	۶۶/۶۷
	۵	۱۲۹	۲/۲۲	۵	۰	۰	۰
	۶	۱۳۱	۱۱/۱۱	۱۵	۶/۶۷	۰	۳۳/۳۴
RM287	۱	۱۰۰	۱۲/۷۷	۲۸/۵۷	۰	۰	۰
	۲	۱۰۲	۸/۵۱	۴/۷۶	۶/۲۵	۲۸/۵۷	۰
	۳	۱۰۷	۸/۵۱	۱۴/۲۸	۶/۲۵	۰	۰
	۴	۱۰۹	۲/۱۳	۰	۰	۱۴/۲۸	۰
	۵	۱۱۱	۲۷/۶۶	۳۳/۳۴	۱۲/۵	۱۴/۲۸	۱۰۰
	۶	۱۱۵	۸/۵۱	۱۴/۲۸	۰	۱۴/۲۸	۰
	۷	۱۲۰	۳۱/۹۱	۴/۷۶	۷۵	۲۸/۵۷	۰
RM332	۱	۱۶۰	۴/۴۴	۵	۶/۲۵	۰	۰
	۲	۱۶۳	۴۰	۵۵	۳۷/۵	۱۶/۶۷	۰
	۳	۱۷۰	۲۸/۸۹	۲۵	۴۳/۷۵	۱۶/۶۷	۰
	۴	۱۷۲	۱۳/۳۳	۱۵	۰	۱۶/۶۷	۶۶/۶۷
	۵	۱۷۵	۴/۴۴	۰	۶/۲۵	۰	۳۳/۳۳
	۶	۱۷۸	۸/۸۹	۰	۶/۲۵	۵۰	۰
RM270	۱	۱۰۶	۴/۲۶	۰	۶/۲۵	۰	۳۳/۳۳
	۲	۱۰۸	۷۴/۴۷	۸۵/۷۱	۸۱/۲۵	۲۸/۵۷	۶۶/۶۷
	۳	۱۰۹	۲۱/۲۸	۱۴/۲۸	۱۲/۵	۷۱/۴۳	۰
RM2935	۱	۲۳۰	۲/۳۸	۰	۰	۰	۳۳/۳۳
	۲	۲۳۶	۳۳/۳۳	۵	۶۶/۶۷	۴۲/۸۶	۶۶/۶۷
	۳	۲۳۸	۵۲/۳۸	۸۰	۲۵	۴۲/۸۶	۰
	۴	۲۴۲	۱۱/۹	۱۵	۸/۳۴	۱۴/۲۸	۰

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

آلل تهی

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

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

تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ارقام برنج

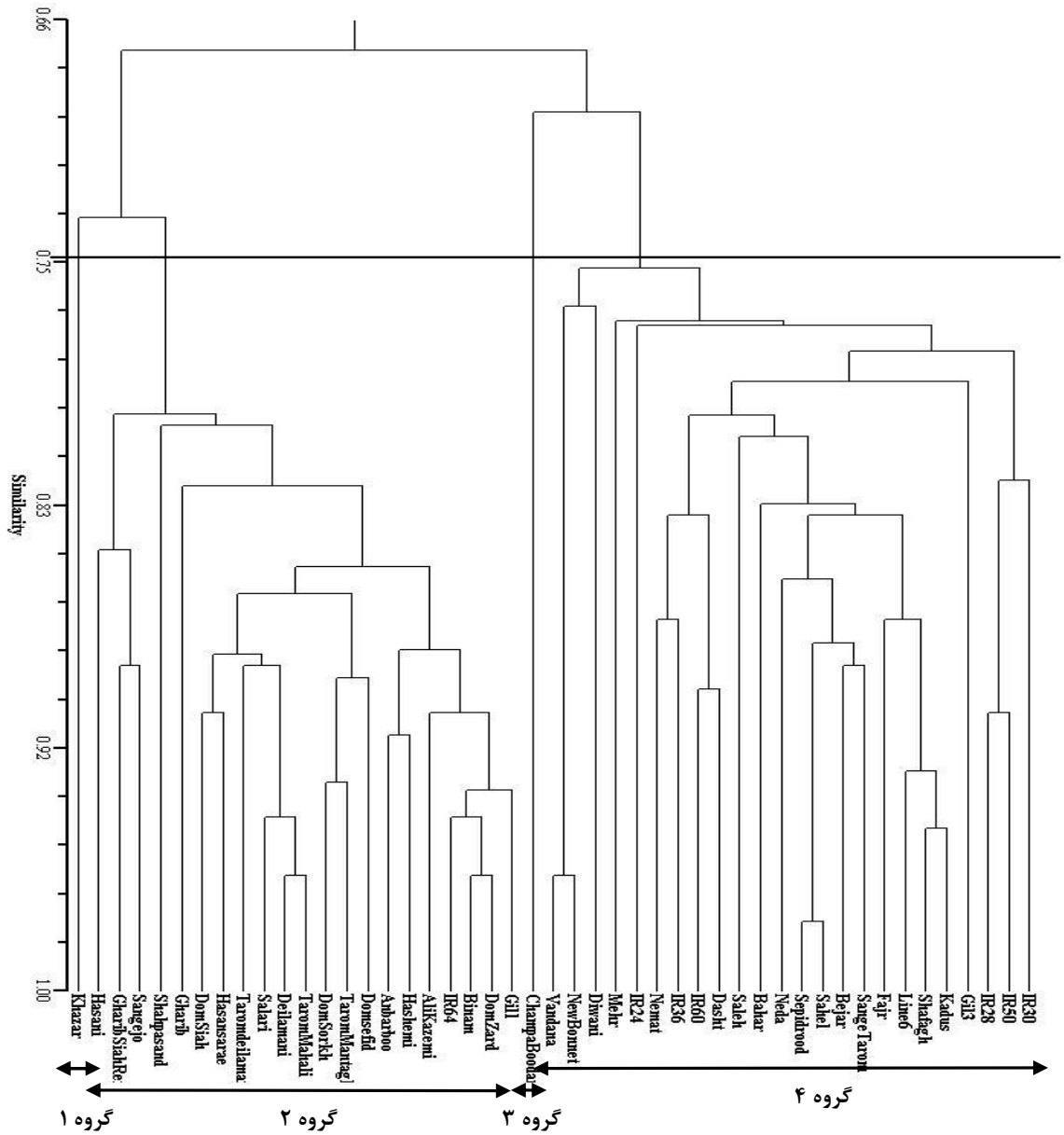
برای برآورد تشابه ژنتیکی بین ارقام از ضرایب مختلف استفاده شد و در نهایت از آن‌جایی‌که دندروگرام حاصل از روش UPGMA با ضریب تطابق ساده بالاترین ضریب همبستگی کوفنتیک را داشت این دندروگرام برای تفسیر انتخاب شد. ضریب همبستگی کوفنتیک بین ماتریس تشابه حاصل از ضریب تطابق ساده با ماتریس خروجی حاصل از دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۹۳ درصد بود و نشان داد که روش تجزیه خوشه‌ای مورد استفاده به خوبی توانسته است اطلاعات حاصل از نشانگرها را برای تفکیک ارقام برنج مورد استفاده قرار دهد. برش دندروگرام از ناحیه ۷۵ درصد تشابه ارقام را به چهار گروه تفکیک نمود (شکل ۱). در گروه ۱ تنها رقم خزر قرار گرفت. خزر از ارقام اصلاحی ایرانی می‌باشد که مقدار آمیلوز و کیفیت پخت متوسطی دارد و از این نظر با ارقام بومی قابل مقایسه نیست. گروه ۲ شامل ۲۱ ژنوتیپ با سطح تشابه ۸۰ درصد بود. کلیه ارقام موجود در این گروه از ارقام با کیفیت بالا بودند که به غیر از دو رقم گیل۱ و IR64، سایر ژنوتیپ‌ها از ارقام صدری و طارم بومی ایرانی و با کیفیت بالا بودند. IR64 یک ژنوتیپ کیفی معرفی شده از IRRI و رقم گیل۱ نیز یک رقم اصلاح‌شده حاصل از ارقام بومی می‌باشد و به دلیل تعدادی از خصوصیات یکسان با ارقام بومی در این گروه قرار گرفته‌اند. در گروه ۳ تنها یک رقم چمپابودار قرار گرفت. ویژگی ارقام چمپا، گرد بودن دانه و کیفیت متوسط تا خوب آنها بعد از پخت است و علاوه بر آن، عملکرد نسبتاً بالایی نیز دارد و شاید به همین دلیل این رقم در گروه جداگانه‌ای قرار گرفته است. در گروه ۴ نیز ۲۴ رقم با سطح تشابه حدود ۷۵ درصد قرار گرفتند. این گروه شامل دو زیرگروه بود. زیر گروه اول شامل سه رقم دیوانی، واندانا و نیوبونت بود که هر سه از ارقام آپلند خارجی با کیفیت پایین بودند. این ارقام با سطح تشابه ۷۶ درصد در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. در زیرگروه دوم، ۲۱ رقم با میزان تشابه ۷۷ درصد قرار داشتند که عمدتاً شامل ارقام اصلاح‌شده ایرانی و ارقام معرفی شده از IRRI بود. قرار گرفتن ارقام اصلاح شده ایرانی در کنار ارقام خارجی به این دلیل بود که عموماً ارقام اصلاح‌شده ایرانی در اثر گزینش ژرم‌پلاسم‌های IRRI و یا دورگ‌گیری بین ارقام بومی و IRRI بوجود آمده‌اند و همین مشابهت ژنتیکی باعث شده که در یک گروه قرار بگیرند. تمامی ارقام این گروه به‌غیر از رقم بومی سنگ‌طارم، علی‌رغم بالا بودن میزان عملکرد از نظر کیفی مورد پسند ذائقه ایرانی نیستند و کیفیت پخت ضعیف تا متوسط دارند.

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

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

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

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



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ۴۷ رقم برنج مورد مطالعه با روش UPGMA بر مبنای ضریب تطابق ساده حاصل از اطلاعات ۲۷ نشانگر ریزماهواره پیوسته با خصوصیات کیفی دانه

Bounphanousay et al. (2008) نیز گزارش نمودند که نشانگرهای ریزماهواره توانستند ژنوتیپ‌های مورد مطالعه آنها را به خوبی از نظر صفات ظاهری گروه‌بندی نمایند. نتایج مشابه‌ای توسط Luan et al. (2008) و Ni et al. (2002) نیز گزارش شده است که نشان می‌دهد ریزماهواره‌ها از توان بالایی برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و تفکیک آنها از یکدیگر برخوردارند.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به معیارهای مختلف محاسبه شده در گروه‌های مختلف برنج می‌توان گفت که تنوع ژنتیکی نسبتاً خوبی در هر گروه از ارقام و نیز بین گروه‌های متفاوت وجود داشت. از آنجایی که همه نشانگرهای مورد مطالعه در این تحقیق پیوستگی بسیار بالایی با ژن‌های کنترل‌کننده خصوصیات کیفی دانه برنج داشتند، بنابراین تنوع موجود در نشانگرها نشان‌دهنده تنوع بین خصوصیات کیفی دانه ارقام مورد مطالعه بوده و از اینرو می‌توان از تنوع فوق جهت اصلاح کیفیت ارقام در برنامه‌های به‌نژادی مخصوصاً انتخاب والدین مناسب

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

REFERENCES

1. Amarawathi, Y., Singh, R., Singh, A. K., Singh, V. P., Mohapatra, T., Sharma, T. R. & Singh, N. K. (2008). Mapping of quantitative trait loci for Basmati quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding*, 21, 49-65.
2. Bao, J., Corke, H. & Sun, M. (2006). Analysis of genetic diversity and relationships in *waxy* rice (*Oryza sativa* L.) using AFLP and ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 323-330.
3. Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32, 314-331.
4. Bounphanousay, C., Jaisil, P., McNally, K. L., Sanitchon, J. & Sackville Hamilton, N. R. (2008). Variation of microsatellite markers in a collection of Lao's black glutinous rice (*Oryza sativa* L.). *Asian Journal of Plant Science*, 7(2), 140-148.
5. Cho, Y. I., Park, C. W., Kwon, S. W., Chin, J. H., Ji, H. S., Park, K. J., McCouch, S. & Koh, H. J. (2004). Key DNA markers for predicting heterosis in F_1 hybrids of *Japonica* rice. *Breeding Science*, 54, 389-397.
6. Endo, T. & Morishima, H. (1983). Rice. In "Tanksley, S. D. & Orton, T. J. (Eds), *Isozyme in plant Genetic & Breeding*, Part B. pp 129-146". Elsveier Scientific Publishers B. V., Amsterdam.
7. Fitzgerald, M. A., McCouch, S. R. & Hall, R. D. (2008). Not just a grain of rice: The quest for quality. *Trends Plant Science*, 14(3), 133-139.
8. Kibria, K., Nur, F., Begum, S. N., Islam, M. M., Paul, S. K., Rahman, K. S. & Azam, S. M. M. (2009). Molecular marker based genetic diversity analysis in aromatic rice genotypes using SSR and RAPD markers. *Journal of Sustainable Crop Production*, 4(1), 23-34.
9. Lapitan, V. C., Brar, D. S., Abe, T. & Redona, E. D. (2007). Assessment of genetic diversity of Philippine rice carrying good quality traits using SSR markers. *Breeding Science*, 57, 263-270.
10. Liu, K. & Muse, S. V. (2005). PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 21, 2128-2129.
11. Liu, Q. Q., Li, Q. F., Cai, X. L., Wang, H. M., Tang, S. Z., Yu, H. X., Wang, Z. Y. & Gu, M. H. (2006). Molecular marker-assisted selection for improved cooking and eating quality of two elite parents of hybrid rice. *Crop Science*, 46, 2354-2360.
12. Luan, L., Wang, X., Long, W. B., Liu, Y. H., Tu, S. B., Zhao, Z. P., Kong, F. L. & Yu, M. Q. (2008). Microsatellite analysis of genetic variation and population genetic differentiation in autotetraploid and diploid rice. *Biochemical Genetics*, 46, 248-266.
13. McCouch, S. R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K. B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y., Zhang, Q., Kono, I., Yano, M., Fjellstrom, R., DeClerck, G., Schneider, D., Cartinhour, S., Ware, D. & Stein, L. (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research*, 9, 199-207.
14. Mirdarikvand, M., Nematzadeh, GH., Alami, A. & Ghareyazi, B. (2003). Allelic frequency and polymorphism of isozyme markers in Iranian rice. *Iranian Journal of Crop Science*, 6 (2), 145-159. (In Farsi)
15. Mohammadi, S. A. & Prasanna, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43, 1235-1248.
16. Mohammadi-Nejad, G., Arzani, A., Rezaei, A. M., Singh, R. K. & Gregorio, G. B. (2008). Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the *saltol* QTL. *African Journal of Biotechnology*, 7(6), 730-736.
17. Nagaraju, J., Kathirvel, M., Ramesh Kumar, R., Siddiq, E. A. & Hasnain, S. E. (2002). Genetic analysis of traditional and evolved Basmati and Non-Basmati rice varieties by using fluorescence-based ISSR-PCR and SSR markers. *Agriculture Science*, 99(9), 5836-5841.
18. Nei, M. (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
19. Ni, J., Colowit, P. M. & Mackill, D. J. (2002). Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. *Crop Science*, 42, 601-607.

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