



بررسی تنوع مرفولوژیک و ژنتیکی ارقام برنج با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با صفات تحمل به خشکی

زهرة ولیزاده صومعه^۱، حبیب‌الله سمیع‌زاده لاهیجی^{۲*} و بابک ربیعی^۳

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۲۲ - تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۸)

چکیده

در این مطالعه، تنوع مرفولوژیک و ژنتیکی ۳۲ ژنوتیپ برنج با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با QTLهای کنترل کننده صفات تحمل به خشکی مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعداد کل نوارهای تولید شده به وسیله هر یک از نشانگرها در محدوده ۳ نوار در مکان RM317 تا ۸ نوار در مکان‌های RM3، RM228 و RM231 متغیر بود. نشانگر RM317 از نظر تعداد آلل موثر، تنوع ژنی نی، شاخص اطلاعات شانون و محتوای اطلاعات چند شکل (PIC)، دارای بالاترین مقادیر در بین نشانگرهای مورد مطالعه بود. ژنوتیپ‌های مورد بررسی بر اساس صفات مرفولوژیک در شرایط بدون تنش و تنش ۴- بار و نیز بر اساس داده‌های مولکولی به سه گروه تفکیک شدند. در مجموع نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با توجه به معیارهای محاسبه شده در گروه‌های مختلف برنج، تنوع ژنتیکی مناسبی بین گروه‌های مختلف و نیز بین ارقام هر گروه وجود دارد. واکنش ارقام مورد مطالعه به تنش ۴- بار نیز نشان داد که رقم شیروودی و لاین‌های ۴۴ و ۸۳۱ دارای بیشترین طول ریشه و بیشترین میزان تحمل به تنش خشکی بودند، در حالی که ارقام بینام، دم‌زرد و صدری کمترین طول ریشه و بیشترین حساسیت به تنش خشکی را داشتند. در بین نشانگرها نیز نشانگرهای RM153، RM317 و RM325 با داشتن بیشترین تعداد آلل موثر و بالاترین میزان تنوع، ارقام برنج را بهتر از سایر نشانگرهای مورد مطالعه از نظر خصوصیات بررسی شده در شرایط تنش تفکیک کردند که در صورت تایید نتایج در آزمایش‌های تکمیلی دیگر، می‌توان از آنها در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر در شرایط تنش خشکی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: برنج، تحمل به خشکی، تنوع ژنتیکی، صفات مرفولوژیک، نشانگرهای ریزماهواره

مقدمه

برنج گیاهی است که بیشترین نیاز آبی را در بین غلات دارد. تنش خشکی در برخی از مراحل رشد و نمو گیاه در مقایسه با مراحل دیگر، صدمات بیشتری به محصول وارد می‌کند. در غلات از جمله برنج، دوره بحرانی نیاز آبی گیاه معمولاً زمان تشکیل اندام‌های تولیدمثلی و مرحله گرده افشانی و باروری است (Safaei Chaeikar *et al.*, 2008). تنوع ژنتیکی اساس و پایه کار اصلاح نباتات است، به طوری که یک به‌نژادگر در صورتی می‌تواند شانس موفقیت زیادی در برنامه اصلاحی خود داشته باشد که تنوع و شانس انتخاب مواد مناسب برای او موجود باشد (Allahgholipour *et al.*, 2005). به همین دلیل آگاهی از ساختار ژنتیکی ارقام بومی یک اصل مهم در برنامه‌های اصلاح گیاهان بوده و می‌تواند خط مشی صحیحی برای انتخاب ارقام مناسب از بین جمعیت‌های به‌نژادی فراهم نماید (Mohammadi and Prasana, 2003).

ریزماهورها یا توالی‌های تکراری ساده، یکی از نشانگرهایی هستند که برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان بسیار مناسب می‌باشند. این توالی‌های تکراری، شامل موتیف‌های کوتاه هستند که معمولاً طولی بین ۲ تا ۶ جفت نوکلئوتید دارند. ریزماهورها (SSR) نشانگرهای ژنتیکی بسیار محبوب هستند که دارای توارث همبازر، فراوانی بالا، وسعت زیادی از تنوع آلی، سهولت ارزیابی تنوع اندازه از طریق PCR با جفت آغازگرهای طرفین و تکرارپذیری بالا می‌باشند (Mondini *et al.*, 2009). ریزماهورها برای انجام تحقیقات در زمینه‌های مختلفی مانند بررسی تنوع ژنتیکی (Kibria *et al.*, 2009; Tabkhkar *et al.*, 2012)، تعیین مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی (Rabiei *et al.*, 2004; Amarawathi *et al.*, 2008)، تعیین الگوی هتروژیک (Renming *et al.*, 2009) و انتخاب به وسیله نشانگر (Liu *et al.*, 2008) استفاده شده است.

در آزمایش تان و همکاران (Thanh *et al.*, 1999) بر روی ۳۳ توده برنج آپلند ویتنام همراه با ۱۳ لاین برنج انتخاب شده از چندین کشور دیگر، تفاوت در مورفولوژی ریشه در بسیاری از صفات مورد بررسی ریشه از قبیل حداکثر طول ریشه، وزن خشک ریشه، نسبت عمق ریشه به ساقه و نسبت وزن ساقه به ریشه مشاهده شد. در آزمایش دیگری، تنوع ژنتیکی ارقام برنج با استفاده از نشانگرهای

ریزماهوره مورد مطالعه قرار گرفت. در مجموع با استفاده از ۱۴ جفت آغازگر ۴۱ آلل شناسایی شد که به طور متوسط ۲/۹ آلل در هر مکان ژنی می‌باشد. دو دندروگرام بر اساس ۳۵ آلل ریزماهوره و ۱۰ صفت مورفولوژیک برای ۳۸ ژنوتیپ ایجاد شده و مقایسه شدند. این نتایج اطلاعات مفید را برای انتخاب ترکیبات مناسب برای نقشه برداری جایگاه صفت کمی (QTLs) مربوط به مقاومت به خشکی در برنج فراهم می‌کند.

در بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین ۲۳۶ ژنوتیپ برنج آپلند و لولند جمع‌آوری شده از جنوب غربی چین با استفاده از ۲۸ نشانگر ریزماهوره و گروه‌بندی به روش نزدیکترین همسایه‌ها نشان داد که تمامی ۲۳۶ ژنوتیپ در دو گروه مربوط به ایندیکا و ژاپونیکا قرار گرفتند و بیش از ۷۵ درصد از توده‌های آپلند به عنوان ژاپونیکا شناسایی شدند. مطالعه نشان داده است که، سطوح نسبتاً بالایی از تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسما برنج آپلند چینی وجود دارد، که می‌تواند به عنوان منابع ارزشمند ژنتیکی برای بهبود صفات مهم اقتصادی در برنج، از قبیل مقاومت به خشکی فراهم کند (Tang *et al.*, 2010).

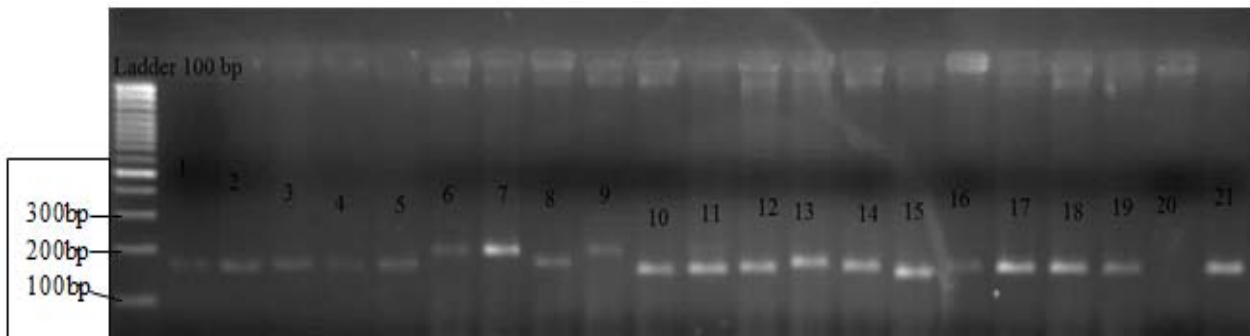
یوسف و همکاران (Youssef *et al.*, 2010) با به‌کارگیری دو نشانگر مولکولی، شامل چندشکلی قطعات تکثیر شده تصادفی DNA (RAPD) و ریزماهوره‌های (SSR) پیوسته با مقاومت به خشکی، در بررسی تنوع ۴ رقم حساس و ۶ لاین برنج متحمل به خشکی مشاهده کردند که از ۱۶ آغازگر RAPD مورد آزمایش، تنها ۵ آغازگر چند شکل بودند و میزان چند شکلی ۷۳/۰۲ درصد بود. تجزیه خوشه‌ای تمام ارقام و لاین‌های جدید را در دو گروه جدا کرد و آغازگرهایی که در DNA ژنومی لاین‌های متحمل به خشکی وجود داشتند، در ارقام حساس غایب بودند که می‌توان آنها را به عنوان نشانگرهای مقاومت به خشکی در نظر گرفت.

در این پژوهش، ساختار ژنتیکی ارقام برنج به وسیله نشانگرهای ریزماهوره پیوسته با خصوصیات مرتبط با تحمل به خشکی از قبیل طول ریشه، وزن خشک ریشه، نسبت طول ریشه به ساقه، لوله شدن برگ و ظرفیت تنظیم اسمزی ارزیابی شد. هدف از این مطالعه، بررسی فراوانی آلی و چندشکلی نشانگرها در جمعیت‌های مورد مطالعه و انتخاب سودمندترین آنها برای استفاده در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر برای مقاومت به خشکی بود.

جدول ۱- نام و منشأ ژنوتیپ‌های برنج استفاده شده در تحقیق

Table 1. Name and origin of rice genotypes used in this study

شماره	ژنوتیپ	منشأ	شماره	ژنوتیپ	منشأ
No.	Genotype	Origin	No.	Genotype	Origin
1	Binam	Iran (native)	17	Hasani	Iran (native)
2	ChampaBoodar	Iran (native)	18	DomSorkh	Iran (native)
3	Hasansarae	Iran (native)	19	Dorfak	Iran (improved)
4	DomSefid	Iran (native)	20	Salari	Iran (native)
5	Gharib	Iran (native)	21	DomZard	Iran (native)
6	IR36	IRRI	22	DomSiah	Iran (native)
7	Kadous	Iran (improved)	23	Line830	IRRI
8	Anbarboo	Iran (native)	24	Bejar	Iran (improved)
9	IR28	IRRI	25	Sepidrood	Iran (improved)
10	Nemat	Iran (improved)	26	Sadri	Iran (native)
11	IR50	IRRI	27	IR60	IRRI
12	IR30	IRRI	28	Gohar	Iran (improved)
13	Khazar	Iran (improved)	29	Saleh	Iran (improved)
14	Neda	Iran (improved)	30	Line44 (PR)	Iran (improved)
15	Deilamani	Iran (native)	31	Line831	Iran (improved)
16	Hashemi	Iran (native)	32	Shiroudi	Iran (improved)



شکل ۱- الگوی نواری نشانگر RM336 در ۲۱ ژنوتیپ از برنج‌های مورد مطالعه. ستون Ladder نشانگر اندازه 100 bp است.

Figure 1. Banding pattern of RM336 in the 21 studied rice genotypes. Ladder is DNA size marker 100 bp.

مواد و روش‌ها

نهایی ۱۰ میکرولیتر در هر نمونه، ۵۰ نانوگرم DNA الگو، دو میلی‌مولار مخلوط چهار نوع dNTP، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$ ، ۰/۰۱ میلی‌مول از هر آغازگر مستقیم و معکوس، یک واحد آنزیم Taq پلی‌مراز و بافر PCR 1X با هم مخلوط شدند. برنامه حرارتی PCR در این تحقیق به صورت Touchdown و دارای سه چرخه دمایی مختلف بود. چرخه اول شامل ۳ دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای واسرشته شدن اولیه DNA الگو، چرخه دوم شامل ۱۰ سیکل بود که هر سیکل شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد برای اتصال آغازگرها به DNA الگو و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط آغازگرها بود. در این مرحله، دما در هر سیکل یک درجه کاهش یافت تا به دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد رسید (دمای دقیق با توجه به

مواد گیاهی این تحقیق، سه گروه متفاوت از لاین‌های مادری برنج بود که شامل ۱۴ رقم ایرانی، ۹ رقم اصلاح شده ایرانی و ۹ رقم IRRI بود (جدول ۱). ۳۰ روز پس از نشاء گیاهچه‌های جوان، نمونه‌های برگ‌ی تهیه و تا زمان استخراج DNA در دمای $-۸۰^{\circ}C$ در یخچال نگهداری شدند. استخراج DNA به روش CTAB (Saghai Maroof *et al.*, 1984) انجام شد. کیفیت و کمیت DNA توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و اسپکتروفتومتری تعیین گردید. قبل از انجام واکنش PCR، تمامی نمونه‌های استخراجی تا غلظت ۵۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. تکثیر DNA ژنومی با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) با دستگاه ترموسایکلر Biometra انجام شد. برای تهیه مخلوط واکنش در حجم

تشخیص و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. تجزیه به مختصات اصلی و تست متل نیز با استفاده از نرم‌افزار GenStat نسخه ۱۲ (GenStat, 2009) انجام شد.

به منظور تعیین اثر تنش خشکی بر خصوصیات ریشه در مرحله جوانه زنی و رشد گیاهچه، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. پتانسیل خشکی شامل ۲ سطح (بدون تنش و ۴- بار) بود. پتانسیل خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلاکول ۶۰۰۰ تهیه شد و برای پتانسیل صفر از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده گردید (Michel and Kaufmann, 1972). برای ضدعفونی بذرها از هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد و سپس بذور چند بار با آب مقطر شستشو داده شدند. ظروف پتری دیش به ابعاد ۸ سانتی‌متری که در کف آنها کاغذ صافی واتمن قرار گرفت و به هر ظرف ۱۰ میلی لیتر از محلول‌های آماده شده اضافه گردید و در داخل هر پتری ۱۰ عدد بذر کشت گردید و در داخل انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از ۱۴ روز، خصوصیات مورفولوژیک از قبیل طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و نسبت وزن خشک ریشه‌چه به ساقه‌چه در هر کدام از سطوح تنشی اندازه‌گیری شد که نتایج مربوط به تنش ۴- بار در جدول ۹ ارائه شده است و برای هر کدام از سطوح تنشی، دندروگرام با استفاده از روش وارد (WARD) رسم شد. تجزیه تحلیل‌های آماری برای صفات مورفولوژیک با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد.

نتایج و بحث

تکثیر DNA ژنومی ۳۲ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۱۹ نشانگر ریزماهوره نشان داد که ۱۵ نشانگر چند شکل بودند. تعداد کل قطعات تکثیر شده در محدوده ۳ تا ۸ نوار قرار داشت. تعداد قطعات تکثیر شده چند شکل نیز به طور متوسط به ازای هر نشانگر ۶ نوار بود. میزان اطلاعات چند شکل (PIC) که معادل تنوع ژنتیکی بوده و قدرت تفکیک یک نشانگر را به واسطه تعداد آلل‌های چند شکل و فراوانی نسبی این آلل‌ها در جمعیت تحت مطالعه نشان می‌دهد، به تفکیک برای هر یک از نشانگرهای مورد مطالعه محاسبه و

دمای ذوب هر آغازگر تعیین شد، به طوری که چهار درجه کمتر از دمای ذوب آن آغازگر باشد). چرخه سوم شامل ۲۶ سیکل بود که هر سیکل شامل ۳۰ ثانیه دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و یک دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود و جهت تکمیل رشته‌های ناقص باقیمانده واکنش با یک مرحله بسط نهایی پنج دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد خاتمه یافت. با بررسی منابع و جستجو در پایگاه اطلاعات ژنتیکی گرامنه (<http://www.gramene.org/micosat/ssr.html>)، تعداد ۱۵ جفت آغازگر ریزماهوره که پیوستگی بالایی با صفات مرتبط با تحمل به خشکی داشتند، انتخاب شدند (جدول ۲). فرآورده‌های حاصل از نشانگرهای SSR روی ژل آگارز ۳ در صد و تعدادی دیگر با استفاده از ژل پلی اکریلامید واسرشته ساز ۶ درصد از یکدیگر تفکیک شدند. برای رنگ آمیزی از اتیدیوم بروماید ۵ درصد استفاده شد.

با توجه به اینکه ارقام مورد مطالعه به عنوان والدین خالص در موسسه تحقیقات برنج کشور یا موسسه 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 نشان دادند. داده‌های مولکولی بر اساس وجود باند "یک" و عدم وجود باند "صفر" برای هر نشانگر حاصل شد. میزان اطلاعات چندشکل یا PIC (Polymorphism information content) ارزش یک نشانگر برای کشف چندشکلی درون یک جمعیت را نشان می‌دهد و از طریق رابطه ۱ و با استفاده از نرم‌افزار Excel محاسبه گردید (Powell et al., 1996). در این فرمول، P_i فراوانی آلل یا باند n و n تعداد آلل می‌باشد.

$$PIC = 1 - \sum p_i^2 \quad (1)$$

پارامترهای مربوط به ساختار ژنتیکی ژنوتیپ‌ها، تعداد آلل‌های موثر (Hartl and Clarke, 1997) شاخص شانون (Shannon, 1948) و شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1987)، با استفاده از نرم‌افزار POPGENE32 نسخه ۱/۳۱ (Yeh, 1999) محاسبه شد.

روابط ژنتیکی بین نمونه‌ها با استفاده از ضریب تطابق ساده محاسبه شد و برای گروه‌بندی ارقام از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و نرم‌افزار NTSYS-pc نسخه ۲/۰۲ (Rohlf, 1999) استفاده گردید. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای به وسیله تجزیه تابع

جدول ۲- مشخصات نشانگرهای ریزماهوره پیوسته با QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی
 Table 2. Characteristics of microsatellite markers linked to QTLs controlling traits associated with drought tolerance

نشانگر Marker	شماره کروموزوم Chromosome no.	موتیف Motif	صفات تحمل به خشکی Drought tolerance traits
RM443	1	(GT)10	Root length
RM403	1	(GA)8	Root length
RM200	1	(GA)16	Root length
RM231	3	(CT)16	Root dry weight
RM317	4	(GC)4(GT)18	Condensation resistance to yellow leaf
RM241	4	(CT)31	Condensation resistance to yellow leaf
RM153	5	(GGC)10	Osmoregulation capacity
RM413	5	(AG)11	The amount of potassium in shoot
RM3	6	(GA)2GG(GA)25	The leaf resistance of the rolling
RM336	7	(CTT)18	Root dry weight
RM325	8	(CAT)4TAG(CAT)5	The leaf resistance of the rolling
RM25	8	(GA)18	Osmoregulation capacity
RM264	8	(GA)27	The amount of potassium in shoot
RM228	10	(CA)6(GA)36	The leaf resistance of the rolling
RM12	12	(GA)21	Root to shoot ratio

جدول ۳- شاخص شانون و محتوای اطلاعات چندشکل حاصل از ۱۵ نشانگر ریزماهوره در ۳۲ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه
 Table 3. Shannon index and polymorphic information content (PIC) of 15 microsatellite markers in the 32 studied rice genotypes

آغازگر Primer	تعداد کل باند Total number of bands	تعداد آل موثر Effective number of alleles	تنوع ژنی نی Nei's gene diversity	شاخص اطلاعات شانون Shannon's information index	محتوای اطلاعات چندشکل PIC
RM443	6	2.1090	0.1956	0.1339	0.25
RM403	5	2.1799	0.2393	0.2527	0.27
RM200	7	2.1622	0.2363	0.2586	0.23
RM231	8	2.1067	0.1946	0.1940	0.22
RM317	3	2.4342	0.4116	0.4692	0.45
RM241	6	2.1919	0.2433	0.2544	0.23
RM153	4	2.3027	0.3109	0.3686	0.34
RM413	7	2.1694	0.2336	0.2442	0.22
RM3	8	2.1332	0.2118	0.2154	0.20
RM336	6	2.1895	0.2118	0.2781	0.23
RM325	4	2.2958	0.3207	0.3570	0.38
RM25	6	2.2136	0.2568	0.2734	0.25
RM264	6	2.1835	0.2540	0.2872	0.32
RM228	8	2.1488	0.2103	0.2055	0.17
RM12	7	2.1622	0.2363	0.2586	0.25
میانگین Average	6	2.1812	0.2537	0.2589	0.26

آل تهی (Null allele) برای یک مکان ژنی خاص در یک رقم یا ژنوتیپ زمانی مشاهده می شود که فرآورده حاصل از تکثیر توسط واکنش PCR در جریان الکتروفورز و رنگ آمیزی ژل قابل مشاهده نباشد (Lapitan *et al.*, 2007). از بین ۱۵ نشانگر در این تحقیق، ۸ نشانگر حداقل در یکی از ارقام مورد مطالعه آل تهی داشتند که بیشترین آل تهی در مکان ریزماهوره RM443 و RM403 مشاهده

نتایج در جدول ۳ ارائه شده است. دامنه PIC در این تحقیق از ۰/۱۷ (RM228) تا ۰/۴۵ (RM317) و به طور متوسط ۰/۲۶ بود (جدول ۳). لوآن و همکاران (Luan *et al.*, 2008) با استفاده از ۳۶ نشانگر ریزماهوره در بین ۵۰ واریته برنج، میانگین PIC تمامی نشانگرها، ۰/۳۳۹ گزارش شد.

لوآن و همکاران (Luan *et al.*, 2008) و نی و همکاران (Ni *et al.*, 2008) نیز گزارش شده است که نشان می‌دهد ریزماهوره‌ها از توان بالایی برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و تفکیک آنها از یکدیگر برخوردارند.

صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای، به وسیله تجزیه تابع تشخیص مورد آزمون قرار گرفت و مشخص شد که صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۹۶/۹ درصد بوده است، به طوری که از ۱۵ ژنوتیپ قرار گرفته در گروه دوم، ۱۴ ژنوتیپ به وسیله تجزیه تابع تشخیص نیز در این گروه قرار گرفتند و فقط یکی از ژنوتیپ‌های این گروه به گروه اول در کنار ۷ ژنوتیپ دیگر منتقل شد (جدول ۴).

نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که ۱۰ بردار اول توانستند مجموعاً ۳۷/۲۵ درصد از واریانس کل را توجیه کنند (جدول ۵). سه بردار اول توانستند مجموعاً ۱۴/۰۸ درصد از واریانس کل را توجیه کنند. در داده‌های مولکولی، در صورتیکه دو یا سه بردار اول ۱۰ تا ۲۰ درصد از تغییرات مربوط به نشانگرها را توجیه نمایند، اگر چه ممکن است برای نمایش گرافیکی مناسب نباشد، ولی از نظر ژنتیکی نشان دهنده نمونه‌برداری مطلوب نشانگرها از کل ژنوم می‌باشد (Syahsar *et al.*, 2010).

واکنش متفاوت گیاهچه تحت شرایط تنش آب، در ژنوتیپ‌های متفاوت که با مقاومت به خشکی در برنج و توضیح ژنتیکی آن همراه است، می‌تواند در اصلاح برای مقاومت به تنش مفید باشد (Srividhya *et al.*, 2011).

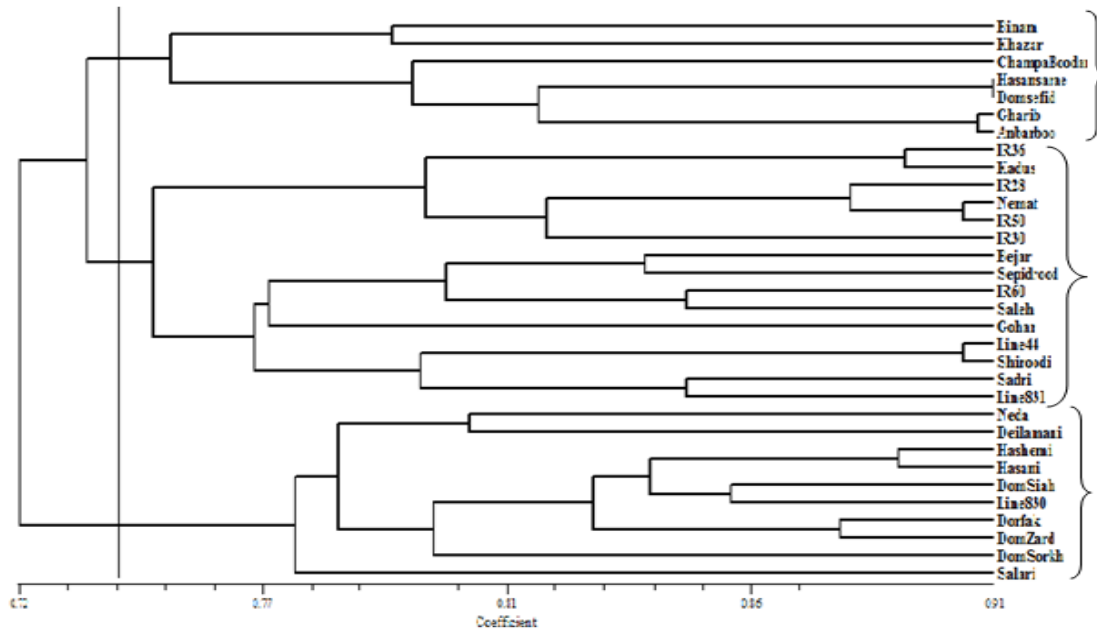
نتایج حاصل از تجزیه واریانس بر اساس طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (جدول ۶) نشان داد که تفاوت معنی‌داری در بین ژنوتیپ‌ها، سطوح تنش و اثر متقابل ژنوتیپ × تنش برای کلیه صفات مطالعه شده در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. وجود اثر متقابل معنی‌دار ژنوتیپ × تنش نشان می‌دهد که واکنش ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش مورد مطالعه یکسان نبوده و ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متفاوتی در سطوح تنش مختلف داشتند.

در گروه‌بندی ارقام بر اساس صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده و نسبت صفات محاسبه شده، ماتریس فاصله با استفاده از روش اقلیدسی برآورد شد و دندروگرام با استفاده از روش WARD در هر کدام از سطوح تنش رسم شد (شکل‌های ۴ و ۵). برش دندروگرام در سطح بدون تنش در فاصله ۱۲/۵ واحد، ژنوتیپ‌ها را در ۳ خوشه و برش

شد (۲ و ۴ آلل تهی). در تحقیقی که لاپیتان و همکاران (Lapitan *et al.*, 2007) انجام دادند در مجموع از ۱۵۱ نشانگر ریزماهوره، ۵۶ نشانگر آلل تهی نشان دادند. از آنجایی که فراوانی آلل تهی در محاسبه تنوع ژنی در هر مکان ریزماهوره در نظر گرفته نمی‌شود، از این رو وجود آلل‌های تهی ممکن است منجر به کاهش هتروزیگوسیتی و انحراف از تعادل مورد انتظار هاردی واینبرگ اینگونه نشانگرها در جمعیت مورد مطالعه شود (Lapitan *et al.*, 2007)، ولی بررسی این نشانگرها در تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها منجر به غربال نشانگرهای مناسب که در تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها قابل مشاهده و بررسی باشند، به ویژه در روش انتخاب به کمک نشانگر خواهد شد.

مطالعه تنوع ارقام بر اساس ضریب‌های تشابه مختلف و الگوریتم‌های مختلف گروه‌بندی نشان داد که بیشترین ضریب همبستگی کوفنتیک (۰/۸۰) مربوط به استفاده از ضریب تطابق ساده با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بود. برش دندروگرام از ناحیه تشابه ۰/۷۴، ارقام را به سه گروه تفکیک کرد (شکل ۲). در گروه ۱ ارقام بینام، خزر، چمپابودار، حسن‌سرای، دم سفید، غریب و عنبربو قرار گرفتند. خزر از ارقام اصلاح شده ایرانی است که به همراه ارقام بومی از نظر مقاومت به خشکی در یک گروه قرار گرفت. در گروه ۲ نیز ۱۵ رقم با تشابه تقریبی ۰/۷۵ قرار گرفتند. این گروه شامل دو زیر گروه بود. زیر گروه اول شامل ۶ رقم با ضریب تشابه ۰/۸ و زیرگروه دوم شامل ۹ رقم با ضریب تشابه ۰/۷۷ بود. در این گروه اکثر ارقام IRRI در کنار ارقام بومی و اصلاح شده قرار گرفتند. قرار گرفتن ارقام اصلاح شده ایرانی در کنار ارقام خارجی به این دلیل است که عموماً ارقام اصلاح شده ایرانی در اثر گزینش ژرم پلاسماهای IRRI و یا دورگیری بین ارقام بوم و IRRI بوجود آمده‌اند و همین مشابهت ژنتیکی باعث شده که در یک گروه قرار بگیرند و لاین ۴۴ (ژنوتیپ PR) که یک ژنوتیپ مقاوم به سرما می‌باشد (Allahgholipour *et al.*, 2012) نیز در این گروه قرار گرفته است. در گروه سوم نیز ۹ رقم قرار گرفتند که در این گروه نیز ارقام بومی و اصلاح شده ایرانی به جز لاین ۸۳۰ که یک ژنوتیپ با منشا ژاپونیکا از IRRI می‌باشد، در کنار یکدیگر قرار گرفتند.

مینگ و همکاران (Ming *et al.*, 2010) نیز گزارش نمودند که نشانگرهای ریزماهوره توانستند ژنوتیپ‌های مورد مطالعه آنها را گروه‌بندی نمایند. نتایج مشابهی توسط



شکل ۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از روش UPGMA و ضریب تطابق ساده بر اساس نشانگرهای ریزماهوره

Figure 2. Grouping of rice genotypes using simple matching coefficient and UPGMA by microsatellite markers

جدول ۴- ارزیابی نسبت موفقیت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از تجزیه تابع تشخیص

Table 4. The success percentage of grouping of the rice genotypes using discrimination function analysis

گروه Group	تعداد ژنوتیپ‌ها Number of genotypes	میزان صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در هر گروه Accuracy of grouping of the genotypes in each group (%)		
		1	2	3
1	7	7		
		100%		
2	15	1	14	
		6.7%	93.3%	
3	10			10
				100%
صحت گروه‌بندی کل Total accuracy		96.9%		

جدول ۵- تجزیه به مختصات اصلی با استفاده از نشانگرهای SSR

Table 5. Principal coordinate analysis using SSR markers

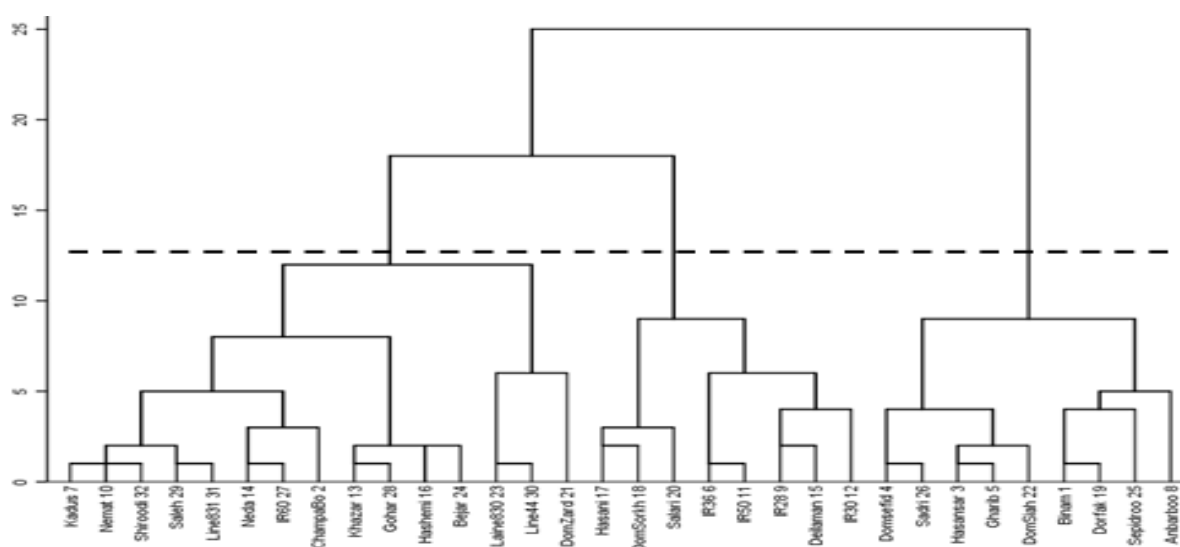
بردار Vector	ریشه مشخصه Latent root	سهام واریانس توجیه شده Variation percentage	سهام تجمعی واریانس توجیه شده Cumulative variation percentage
1	4.975	5.32	5.32
2	4.389	4.7	10.02
3	3.792	4.06	14.08
4	3.425	3.67	17.75
5	3.385	3.62	21.37
6	3.255	3.48	24.85
7	3.184	3.41	28.26
8	2.963	3.17	31.43
9	2.862	3.06	34.49
10	2.538	2.76	37.25

جدول ۶- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی بررسی شده در آزمایشگاه

Table 6. Analysis of variance for morphological traits studied in the laboratory

منابع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی Degree of freedom	وزن خشک ساقه‌چه (گرم) Shoot dry weight (gr)	وزن خشک ریشه‌چه (گرم) Root dry weight (gr)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر) Shoot length (mm)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر) Root length (mm)	نسبت وزن خشک ریشه به ساقه Root to shoot dry weight	نسبت طول ریشه به ساقه Root to shoot ratio
ژنوتیپ Genotype (G)	31	0.0025**	0.0027**	0.2293**	0.3292**	0.1452**	0.613**
تنش Stress (S)	2	0.5857**	0.529**	62.65**	59.466**	0.3336**	26.62**
ژنوتیپ × تنش S×G	62	0.0017**	0.0018**	0.1875**	0.247**	18.299**	0.375**
خطای آزمایش Error	192	0.0003	0.0002	0.022	0.0171	0.2937	0.0241

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪. * and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively.



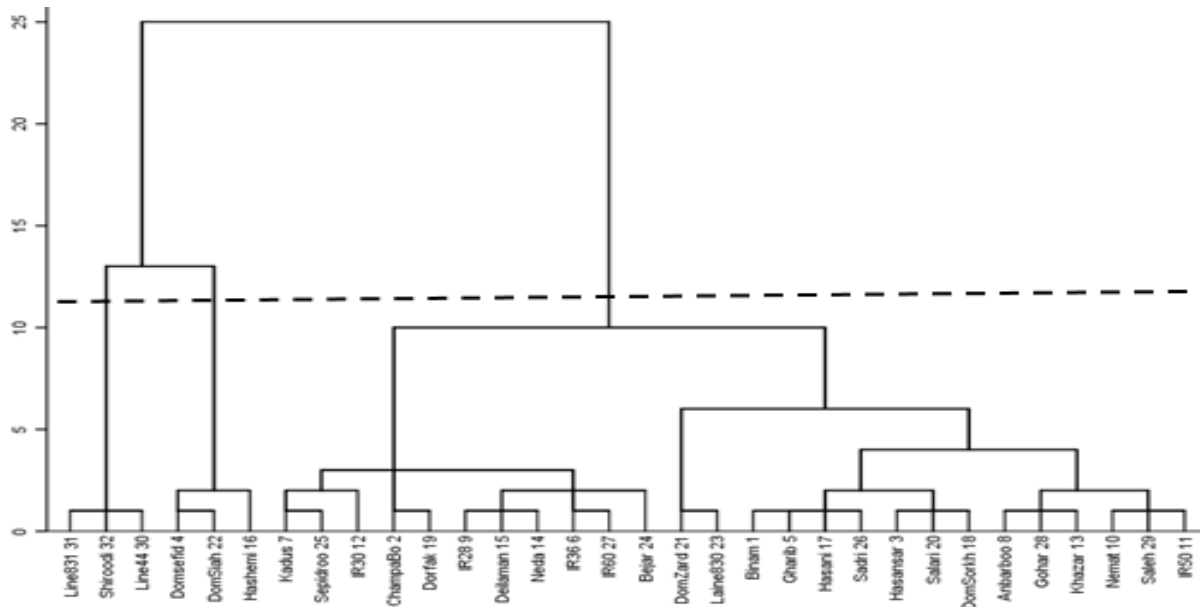
شکل ۴- گروه‌بندی ۳۲ ژنوتیپ برنج بر اساس داده‌های مورفولوژیک تحت شرایط بدون تنش

Figure 4. Grouping of 32 rice genotypes based on morphological data under non-stress condition

جدول ۷- ارزیابی نسبت موفقیت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از تجزیه تابع تشخیص تحت شرایط بدون تنش

Table 7. The success percentage of grouping of the rice genotypes using discrimination function analysis under non-stress condition

گروه Group	تعداد ژنوتیپ‌ها Number of genotypes	میزان صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در هر گروه Accuracy of grouping of the genotypes in each group (%)		
		1	2	3
1	15	15 100%		
2	8		8 100%	
3	9			9 100%
صحت گروه‌بندی کل Total accuracy		100%		



شکل ۵- گروه‌بندی ۳۲ ژنوتیپ برنج بر اساس داده‌های مورفولوژیک تحت تنش ۴- بار

Figure 5. Grouping of the 32 rice genotypes based on morphological data under -4 bar stress

جدول ۸- ارزیابی نسبت موفقیت گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از تجزیه تابع تشخیص تحت شرایط تنش ۴- بار

Table 8. The success percentage of grouping of the rice genotypes using discrimination function analysis under -4 bar stress

گروه Group	تعداد ژنوتیپ‌ها Number of genotypes	میزان صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در هر گروه Accuracy of grouping of the genotypes in each group (%)		
		1	2	3
1	3	3 100%		
2	3		3 100%	
3	26			26 100%
صحت گروه‌بندی کل Total accuracy		100%		

مقایسه تجزیه خوشه‌ای حاصل از نشانگرهای مولکولی و تجزیه خوشه‌ای حاصل از صفات مورفولوژیک نشان داد که در سطح شاهد، از ۱۵ واریته‌ای که در گروه دوم مولکولی در کنار هم قرار گرفتند، ۹ رقم در تجزیه خوشه‌ای حاصل از صفات مورفولوژیک در گروه اول قرار گرفتند و از ۷ ژنوتیپی که در در گروه اول مولکولی در کنار هم قرار گرفتند ۵ رقم در تجزیه خوشه‌ای حاصل از صفات مورفولوژیک در گروه سوم قرار گرفتند تست منتل همبستگی بین دو ماتریس تشابه را ۰/۷۷ محاسبه کرد.

دندروگرام در فاصله ۱۱ واحد، ژنوتیپ‌ها را در ۳ گروه قرار داد. در میان آنها خوشه سوم دارای تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها شد. در سطح شاهد، ۳ گروه فاصله چندانی با هم نداشتند و از نظر صفات اندازه‌گیری شده به هم نزدیک بودند، با تغییر سطح تنش به ۴- بار، ۳ گروه اختلاف فاحشی را از نظر صفات اندازه‌گیری شده نشان دادند. صحت گروه‌بندی حاصل توسط تجزیه تابع تشخیص مورد آزمون قرار گرفت (جدول‌های ۷ و ۸). نتایج نشان داد که صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای در سطح بدون تنش و تنش ۴- بار ۱۰۰ درصد بوده است.

جدول ۹- میانگین صفات اندازه گیری شده در آزمایشگاه تحت تنش ۴- بار
Table 9. Mean of measured traits in laboratory under -4 bar stress

Genotype	ژنوتیپ	طول ریشه‌چه به	وزن خشک ریشه‌چه	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	وزن خشک	وزن خشک
		ساقه‌چه	به ساقه‌چه	(میلی‌متر)	(میلی‌متر)	ریشه‌چه (گرم)	ساقه‌چه (گرم)
		Root to shoot length ratio	Root to shoot dry weight	Root length (mm)	Shoot length (mm)	Root dry weight (g)	Shoot dry weight (g)
Binam	بینام	1.115	1.031	1.108	0.993	0.166	0.161
ChampaBoodar	چمپابودار	1.644	0.829	15.969	9.716	0.338	0.408
Hasansarae	حسن‌سرای	1.003	0.998	5.874	5.856	0.169	0.169
Domsefid	دم‌سفید	0.675	0.990	15.688	23.258	0.506	0.511
Gharib	غریب	1.219	1.260	6.696	5.491	0.630	0.500
IR36	آی آر ۳۶	2.206	0.998	18.119	8.215	0.501	0.502
Kadus	کادوس	2.034	1.007	18.263	8.977	0.337	0.335
Anbarboo	عنبربو	1.403	1.007	4.734	3.373	0.332	0.330
IR28	آی آر ۲۸	1.986	1.505	8.268	4.163	0.501	0.333
Nemat	نعمت	0.926	0.990	4.423	4.774	0.168	0.170
IR50	آی آر ۵۰	0.934	0.998	4.840	5.180	0.332	0.333
IR30	آی آر ۳۰	1.544	1.006	6.540	4.236	0.169	0.168
Khazar	خزر	1.214	1.505	1.521	1.253	0.500	0.332
Neda	ندا	1.478	1.000	11.272	7.628	0.500	0.500
Deilamani	دیلمانی	2.040	0.446	12.384	6.071	0.335	0.751
Hashemi	هاشمی	0.729	0.997	20.764	28.486	0.511	0.513
Hasani	حسنی	0.761	0.997	6.582	8.646	0.499	0.501
DomSorkh	دم‌سرخ	0.759	1.000	3.450	4.544	0.333	0.333
Dorfak	درفک	1.738	1.643	1.334	0.767	0.332	0.202
Salari	سالاری	0.756	0.993	6.157	8.143	0.500	0.504
DomZard	دم‌زرد	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
DomSiah	دم‌سیاه	0.675	0.995	16.175	23.970	0.507	0.510
Laine830	لاین ۸۳۰	1.390	1.089	1.122	0.807	0.158	0.145
Bejar	بچار	2.633	1.001	19.931	7.570	0.500	0.500
Sepidrood	سپیدرود	1.970	1.004	16.051	8.148	0.337	0.336
Sadri	صدری	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
IR60	آی آر ۶۰	1.852	0.665	10.360	5.595	0.499	0.751
Gohar	گوهر	1.587	0.999	4.016	2.531	0.332	0.332
Saleh	صالح	1.278	1.000	3.523	2.756	0.332	0.332
Line44	لاین ۴۴	3.215	2.381	60.682	18.875	0.819	0.344
Line831	لاین ۸۳۱	2.299	1.389	30.527	13.277	0.700	0.504
Shiroodi	شیرودی	2.389	1.343	29.254	12.247	0.674	0.502

تفاوت در الگوی گروه‌بندی و مبادله ژنوتیپ در میان گروه‌های مختلف در روش‌های مختلف تجزیه و تحلیل تنوع، در تعدادی از مطالعات گزارش کرده‌اند. کارهو و همکاران (Karhu et al., 1996) گزارش کردند که اگر نشانگرها به تعداد چند هزار استفاده شوند و صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی تمام پارامترهای ممکن را داشته باشند، تنوع ارائه شده توسط گروه‌بندی‌های متفاوت،

در سطح تنش ۴- بار نیز از ۱۵ ژنوتیپی که در گروه دوم مولکولی در کنار هم قرار گرفتند، ۱۲ رقم در تجزیه خوشه‌ای حاصل از صفات مورفولوژیکی در گروه سوم قرار گرفتند و لاین ۸۳۱، لاین ۴۴ و رقم شیرودی که در کنار هم در گروه دوم مولکولی قرار گرفتند در تجزیه خوشه‌ای حاصل از صفات مورفولوژیکی در گروه مجزا قرار گرفتند و تست منتل نیز همبستگی دو ماتریس را ۰/۷۲ بیان کرد.

RM317، RM325 و RM153 نشان‌دهنده کارایی بالای این نشانگرها در تمایز ژنوتیپ‌های برنج در این تحقیق بود و می‌توان از این نشانگرها در بررسی تنوع ژنتیکی برنج استفاده نمود. نشانگرهای RM317، RM325، RM336 و RM3 نیز به خوبی ژنوتیپ‌ها را از نظر صفات بررسی شده، به ویژه خصوصیات مربوط به ریشه و نسبت صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش از هم جدا کردند. واکنش ارقام مورد مطالعه به تنش ۴- بار بر اساس خصوصیات مرفولوژیک نیز نشان داد که ارقام بینام، دم‌زرد و صدری، دارای کمترین طول ریشه و بیشترین حساسیت و رقم شیروودی و لاین‌های ۴۴ و ۸۳۱ دارای بیشترین طول ریشه و بیشترین تحمل به تنش خشکی بودند (جدول ۹). ژنوتیپ‌هایی که دارای تنوع مرفولوژیک و مولکولی بیشتری باشند، می‌توانند به منظور تولید دورگ‌های برتر در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند. بر این اساس و با توجه به نتایج این پژوهش، دورگ‌گیری بین ژنوتیپ‌های بینام و لاین ۴۴، بینام و شیروودی، بینام و سالاری، بینام و IR36، دم‌زرد و شیروودی، نعمت و دم‌زرد و خزر و سپیدرود، برای دستیابی به هتروزیس بیشتر و احتمالاً افزایش مقاومت به خشکی پیشنهاد می‌شوند.

سپاسگزاری

از ریاست و پرسنل محترم موسسه تحقیقات برنج کشور به خاطر حمایت‌های بی‌دریغ آنها در اجرای این پژوهش قدردانی می‌شود.

ممکن است بسیار نزدیک باشند. یکی دیگر از دلایل ممکن برای این تفاوت در گروه‌بندی ممکن است تاثیر محیط زیست و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط باشد. در مقایسه با ویژگی‌های مرفولوژیک و فیزیولوژیک، نشانگرهای مولکولی مقایسه مستقیم تنوع ژنتیکی در سطح DNA را فراهم می‌کنند که تحت تاثیر محیط زیست و شیوه‌های مدیریتی قرار نمی‌گیرد. بهترین تجزیه و تحلیل از تنوع ژنتیکی در میان ژنوتیپ‌ها، با استفاده از صفات مرفولوژیک و نشانگرهای مبتنی بر DNA می‌باشد. داده‌های نشانگرهای مولکولی و مرفولوژیک، روش‌های مختلف گروه‌بندی و اندازه‌گیری ارتباط بین ژنوتیپ‌ها را پیشنهاد می‌کند.

در تجزیه به مختصات اصلی، درصد کمی از تنوع کل توسط تعداد زیادی از مولفه‌ها توجیه شد که نشان می‌دهد آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش، ناحیه کروموزومی زیادی را تحت پوشش قرار داده و در قسمت‌های مختلف ژنوم پراکنده هستند و به خوبی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها را تعیین کردند. از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس تجزیه خوشه‌ای و صحت ۹۶ درصدی این گروه‌بندی بر اساس تابع تشخیص می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تلاقی بین ژنوتیپ‌هایی که کمترین تشابه (بیشترین فاصله) را دارند، بهترین نتیجه را در دستیابی به حداکثر هتروزیس خواهد داشت. در مجموع 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. بالا بودن معیارهای تعداد آلل موثر، تنوع ژنی نی، شاخص شانون و میزان PIC برای نشانگرهای

References

- Allahgholipour, M., Mohammad-Salehi, M. and Ebadi, A. A. 2005. Genetic variation and classification of cultivated rice. *Journal of Agricultural Science* 35 (4): 973-981. (In Persian).
- Allahgholipour, M., Moradi, S., Nahvi, M., Lotfi, A. and Nyazi, N. 2012. Evaluation of different rice populations and selection of the cold tolerant lines. Final Report, Rice Research Institute of Iran, Rasht, Iran. (In Persian).
- GenStat. 2009. GenStat for Windows, ver. 12. VSN International, Hamel Hempstead, UK.
- Haidara, K., Zamir, L., Shi, Q. W. and Batist, G. 2006. The flavonoid casticin has multiple mechanisms of tumor cytotoxicity action. *Cancer Letters* 242: 180-190.
- Hartl, D. L. and Clark, A. G. 1997. Principles of population genetics (3rd ed.). Sinauer Associates Inc., Publishers. Sunderland, Massachusetts, Canada.
- Karhu, A., Hurme, P., Karjalainen, M., Karvonen, P., Kärkkäinen, K., Neale, D. and Savolainen, O. 1996. Do molecular markers reflect patterns of differentiation in adaptive traits of conifers. *Theoretical and Applied Genetics* 93 (1-2): 215-221.
- Lapitan, V. C., Brar, D. S., Abe, T. and Redona, E. D. 2007. Assessment of genetic diversity of Philippine rice carrying good quality traits using SSR markers. *Breeding Science* 57: 263- 270.

- Luan, I., Wang, X., Long, W. B., Liu, Y. H., Tu, S. B., Zhao, Z. P., Kong, F. L. and Yu, M. Q. 2008. Microsatellite analysis of genetic variation and population genetic differentiation in autotetraploid and diploid rice. **Biochemical Genetics** 46: 248-266.
- Mohammadi, S. A. and Prasana, B. M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants- Salient statistical tools and considerations. **Crop Science** 43: 1235-1248.
- Michel, E. B. and Kaufmann, M. K. 1972. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology** 51:914-916.
- Ming, H., Fang-Min, X., Li-Yun, C. H., Xiang-Qian, Z. H., Jojee, L. and Madonna, D. 2010. Comparative analysis of genetic diversity and structure in rice using ILP and SSR markers. **Rice Science** 17 (4): 257-268.
- Mirdarikhvand, M., Nematzadeh, Gh., Aalami, A. and Ghareyazi, B. 2003. Allelic frequency and polymorphism of isozyme markers in Iranian rice. **Iranian Journal of Crop Science** 6 (2): 145-159. (In Persian).
- Mondini, L., Noorani, A. and Mario, A. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. **Diversity** 1: 19-35.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics** 89: 583-590.
- Ni, J., Colowit, P. M. and Mackill, D. J. 2002. Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. **Crop Science** 42: 601-607.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalski, A. 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breeding** 2: 225-238.
- Rabiei, B., Valizadeh, M., Ghareyazie, B., Moghaddam, M. and Juahar-Ali, A. 2004. Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. **Euphytica** 137: 325-332.
- Rohlf, F. J. 1999. NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, ver. 2.02. Applied Biostatistics, New York.
- Safaei Chaeikar, S., Rabiei, B., Samizadeh, H. and Esfahani, M. 2008. Evaluation of tolerance to terminal drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. **Iranian Journal of Crop Science** 9 (4): 315-331. (In Persian).
- Saghai Maroof, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. and Allard, R. W. 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: Species diversity, chromosomal locations and population dynamics. **Proceeding of National Academy of Sciences, USA** 91: 5466-5570.
- Shannon, C. E. 1948. A mathematical theory of communication. **The Bell System Technical Journal** 27: 379-423 and 623-656.
- Srividhya, A., Vemireddy, L., Ramanarao, P., Sridhar, S., Jayaprada, M. and Anuradha, G. H. 2011. Molecular mapping of QTLs for drought related traits at seedling stage under PEG induced stress conditions in rice. **American Journal of Plant Sciences** 2: 190-201.
- Syahsar, B., Allahdu, M. and Shahsavand Hasani, H. 2010. Assessment of genetic diversity of tritipyrum, triticale and wheat lines using RAPD and ISJ markers. **Iranian Journal of Field Crop Science** 41 (3): 555-568. (In Persian).
- Tabkhkar, N., Rabiei, B. and Sabouri, A. 2012. Assessing of allele frequency and polymorphism of microsatellite markers linked to gene loci controlling grain quality in rice. **Iranian Journal of Field Crop Science** 42 (3): 495-507. (In Persian).
- Tang, S., Zhang, Y., Zeng, L., Luo, L., Zhong, Y. and Geng, Y. 2010. Assessment of genetic diversity and relationships of upland rice accessions from Southwest China using microsatellite markers. **Official Journal of the Societa Botanica Italiana** 144 (1): 85-92.
- Thanh, N. D., Zheng, H. G., Dong, N. V., Trinh, L. N., Ali, M. L. and Nguyen, H. T. 1999. Genetic variation in root morphology and microsatellite DNA loci in upland rice (*Oryza sativa* L.) from Vietnam. **Euphytica** 105: 43-51.
- Youssef, M. A., Mansour, A. and Solliman, S. 2010. Molecular markers for new promising drought tolerant lines of rice under drought stress via RAPD-PCR and ISSR markers. **Journal of American Science** 6 (12): 355- 363.

Assessment of morphologic and genetic diversity of rice varieties using SSR markers associated with drought tolerance characteristics

Zohreh Valizadeh Soumeh¹, Habibollah Samizadeh Lahiji^{2*} and Babak Rabiei³

1, 2 and 3. Graduate Student, Assoc. Prof. and Prof., respectively, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Iran

(Received: July 13, 2013- Accepted: February 17, 2014)

Abstract

In this study, the morphologic and genetic diversity of 32 rice varieties were studied using 15 microsatellite (SSR) markers linked to QTLs controlling drought tolerance characteristics. The total number of alleles generated by each marker ranged from 3 alleles at RM317 locus to 8 alleles at RM3, RM228 and RM231 loci. The RM317 had the highest values for effective number of alleles, Nei's gene diversity, Shannon's information index and polymorphic information content (PIC) among the all studied markers. The studied genotypes were classified into 3 groups based on morphological characteristics under non-stress and -4 bar stress conditions and based on molecular data. Totally, results of current research showed that there was a suitable genetic diversity between and within the different rice groups. Furthermore, reaction of the studied varieties to -4 bar stress indicated that the variety Shiroudi and the Lines 44 and 831 had the highest root length as well as the highest tolerance while the varieties Binam, Domzard and Sadri had the lowest root length and the highest sensitivity to drought stress. Among the used markers, the RM153, RM317 and RM325 markers with the most number of effective alleles as well as the highest diversity criteria were the best markers to separate the rice varieties. Therefore, these SSR markers can be utilized in marker-assisted selection programs under drought stress condition after confirmation of the obtained results in other complementary experiments.

Keywords: Drought tolerance, Genetic diversity, Morphological characteristics, Rice, SSR markers

*Corresponding author: hsamizadeh@guilan.ac.ir