تحقیقات غلات

دوره هفتم/ شماره اول/بهار ۱۳۹۶ (۵۰-۳۳)

ارزیابی تنوع مولکولی و روابط ژنتیکی بین ارقام برنج (*Oryza sativa* L.)

ادیبه نیلی[۱]، بابک ربیعی[۲*]، مهرزاد الهقلی‌پور[۳] و علی‌اکبر عبادی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۱

چکیده

هدف از این تحقیق، ارزیابی تنوع و روابط ژنتیکی بین ۵۷ رقم برنج موجود در کلکسیون موسسه تحقیقات برنج کشور شامل ۲۶ رقم بومی ایرانی، ۱۳ رقم اصلاح‌شده ایرانی و ۱۸ رقم وارداتی بود که با استفاده از ۳۸ نشانگر ریزماهواره پیوسته با ویژگی‌های کمی و کیفی روی کروموزوم ۶ برنج انجام شد. در مجموع ۲۸۱ آلل در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شناسایی شد و تعداد آلل‌ها در هر جایگاه ریزماهواره از دو تا یازده آلل متغیر بود. میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر به‌ترتیب ۷/۳۹ و ۵/۱۵ آلل و میانگین تنوع ژنی نئی، شاخص تنوع شانون و میزان اطلاعات چندشکلی نیز به‌ترتیب ۰/۷۵۲، ۱/۶۸۵ و ۰/۷۴۱ به‌دست آمد که نشان‌دهنده وجود تنوع بالا بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. برآورد شاخص‌های تنوع جهت مقایسه نشانگرهای مطالعه‌شده نشان داد که به‌ترتیب نشانگرهای RM510، RM225، RM31، RM402، RM528، RM204، RM162، RM584 و RM3 با دارا بودن بالاترین مقادیر تنوع در جمعیت مورد مطالعه، به‌عنوان موثرترین نشانگرها جهت بررسی تنوع ژنتیکی در برنج بودند. ارزیابی تشابه ژنتیکی بین ارقام بومی، اصلاح‌شده و وارداتی برنج نشان داد که بیشترین تشابه بین ارقام بومی و اصلاح‌شده و کمترین تشابه بین ارقام اصلاح‌شده و وارداتی وجود داشت. تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA بر اساس ضریب تشابه جاکارد، ۵۷ رقم مورد مطالعه را در چهار گروه جداگانه قرار داد، به‌طوری‌که ارقام بومی، اصلاح شده و وارداتی تا حدود زیادی از هم تفکیک شدند. بنابراین، بر اساس نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌شود که ضمن استفاده از نشانگرهای RM510، RM225، RM31، RM402، RM528، RM204، RM162، RM584 و RM3 به‌عنوان نشانگرهای کارامد و آگاهی‌بخش در مطالعات مربوط به تعیین تنوع ارقام برنج، از تلاقی بین ارقام موجود در گروه‌های دورتر حاصل از تجزیه خوشه‌ای نیز می‌توان برای تهیه ارقام جدید دارای ویژگی‌های کمی و کیفی متنوع استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: ارقام بومی، نشانگر ریزماهواره، ویژگی‌های کمی و کیفی

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۳- استادیار پژوهش، بخش اصلاح و تهیه بذر، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

* نویسنده مسئول: rabiei@guilan.ac.ir

مقدمه

برنج غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه را تشکیل می‌دهد (Park *et al.*, 2014; Zuo and Li, 2014)، به‌طوری‌که مردم آسیای جنوب شرقی رژیم مبتنی بر برنج را ترجیح می‌دهند (FAO, 2016).

افزایش تولید با استفاده بهینه از منابع ژنتیکی و تنوع موجود در آنها میسر می‌شود. تعیین مشخصات و گروه‌بندی ژرم‌پلاسم به به‌نژادگران گیاهی این امکان را می‌دهد تا از دوباره‌کاری در نمونه‌گیری از یک جمعیت خودداری نمایند. موفقیت هر به‌نژادگر به تعیین تنوع ژنتیکی و استفاده از آن در برنامه‌های به‌نژادی بستگی دارد و از این‌رو ضروری است تنوع موجود در جمعیت مورد مطالعه، به دقت بررسی و از آن استفاده شود (Aghazadeh *et al.*, 2004). کاربرد نشانگرها جهت ارزیابی تنوع موجب تسریع پروژه‌های اصلاحی می‌شود و در افزایش تولید محصولات زراعی و دامی نقش اساسی دارد (Collard *et al.*, 2005). جهت تعیین تنوع ژنتیکی در گیاهان، از نشانگرهای مختلفی مانند نشانگرهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی استفاده می‌شود. در بین این روش‌ها، نشانگرهای DNA دقیق‌ترین و مطمئن‌ترین نشانگرها هستند (Naghavi *et al.*, 2004). از بین نشانگرهای DNA نیز ریزماهواره‌ها یا توالی‌های تکراری ساده (SSRs)، که تکرارهای متوالی ۵-۲ بازی DNA هستند و در ژنوم اغلب یوکاریوت‌ها یافت می‌شوند (Semagn *et al.*, 2006)، اهمیت زیادی دارند. نحوه توارث هم‌بارز، سطح بالای چندشکلی و سادگی کار با ریزماهواره‌ها باعث شده است که برای بسیاری از مطالعات مفید باشند (Mondini *et al.*, 2009).

پروایز و همکاران (Pervaiz *et al.*, 2010) تنوع ژنتیکی بین ۷۵ ژنوتیپ برنج پاکستان را با استفاده از ۳۵ نشانگر ریزماهواره ارزیابی و محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) جمعیت مورد مطالعه خود را از ۰/۱۲۴ تا ۰/۸۳۶ با میانگین ۰/۵۶۹ گزارش کردند. طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2011) فراوانی آللی و چندشکلی ۲۷ نشانگر ریزماهواره پیوسته با مکان‌های ژنی کنترل‌کننده کیفیت دانه را 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 ارزیابی و نشان دادند که تنوع ژنتیکی بالایی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به‌ویژه بین ژنوتیپ‌های بومی برنج از نظر جایگاه‌های ریزماهواره وجود دارد. آن‌ها بیشترین تعداد آلل‌های چندشکل، PIC و شاخص شانون را برای نشانگر RM276 (روی کروموزوم ۶) گزارش کردند. کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2012) تنوع ژنتیکی ۶۴ ژنوتیپ برنج را با استفاده از ۲۰ نشانگر ریزماهواره مربوط به کروموزوم‌های ۷ و ۱۲ بررسی و مشاهده کردند که از ۲۰ نشانگر فقط ۸ نشانگر RM21، RM206، RM320، RM247، RM346، RM561، RM47، RM264 چندشکل بودند، با این‌حال آن‌ها نشانگرهای ریزماهواره را به‌عنوان ابزاری مناسب و کارا در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج تایید کردند. چودهوری و همکاران (Choudhury *et al.*, 2013) در مطالعه خود روی ۳۰۰ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۷ نشانگر ریزماهواره، در مجموع ۹۶ آلل با میانگین ۱۳/۵۷ آلل به ازای هر نشانگر مشاهده و بیشترین و کمترین تنوع ژنی را به‌ترتیب در ارقام برنج بومی (۰/۷۷۶) و اصلاح‌شده (۰/۴۵۹) گزارش کردند. سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 2014) به منظور بررسی تنوع ژنتیکی ۱۲۰ لاین جدید برنج (New Plant Type)، از ۳۹ نشانگر ریزماهواره استفاده کردند. نتایج آنها نشان داد که بیشترین و کمترین میانگین فراوانی آللی به‌ترتیب بین ۴۳/۷۵٪ در RM42 تا ۱۰۰٪ در نشانگرهای RM223، RM256، RM276، RM438، RM485، RM502 و RM529 متغیر بود.

اله‌قلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) به‌منظور ارزیابی تنوع مولکولی و طبقه‌بندی ۹۴ ژنوتیپ برنج از ۵۴ نشانگر ریزماهواره پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده ویژگی‌های مهم زراعی و فیزیکوشیمیایی دانه برنج استفاده کردند. آن‌ها تعداد آلل‌های چندشکل را ۳۶۱ آلل با متوسط ۷ آلل در هر مکان ژنی و بیشترین و کمترین محتوای اطلاعات چندشکل را برای نشانگرهای RM5642 و RM207 به‌ترتیب با ۰/۸۵۴ و ۰/۵۱۵ گزارش کردند. در آزمایش ولی‌زاده صومعه و همکاران (Valizadeh Soumeh *et al.*, 2014) که برای بررسی تنوع ژنتیکی ۳۳ رقم برنج با استفاده از ۱۵ نشانگر ریزماهواره انجام شد، در مجموع ۹۰ آلل با متوسط ۹/۲ آلل در هر مکان ژنی شناسایی شد. هم‌چنین در بین نشانگرهای مورد مطالعه نیز نشانگرهای RM153، RM317 و RM325 با داشتن بیشترین تعداد آلل موثر و بالاترین میزان تنوع، به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش جهت تفکیک ارقام برنج معرفی شدند. سرایلو و همکاران (Sarayloo *et al.*, 2015) نیز با مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۲ ژنوتیپ برنج تحت دو شرایط کشت

(آبیاری معمول و تنش خشکی حاصل از مانیتول) با استفاده از ۲۲ آغازگر ریزماهواره، تعداد ۱۰۶ آلل با دامنه بین ۷-۲ آلل و میانگین ۴/۸۲ آلل برای هر نشانگر مشاهده و ریزماهواره‌ها را نشانگرهای مناسبی جهت تعیین تنوع ژنتیکی ارقام برنج گزارش کردند.

در این مطالعه، ساختار ژنتیکی سه گروه متفاوت از ژنوتیپ‌های برنج به‌وسیله نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با ویژگیهای کمی و کیفی روی کروموزوم ۶ برنج مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از اجرای این تحقیق، گروه‌بندی ارقام برنج و شناسایی سودمندترین نشانگرهای ریزماهواره جهت استفاده در برنامه‌های به‌نژادی آینده بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این تحقیق، مجموعه‌ای از ۵۷ ژنوتیپ برنج سازگار با شرایط اقلیمی ایران، شامل ۲۶ رقم محلی، ۱۳ رقم و لاین اصلاح‌شده و ۱۸ رقم و لاین وارداتی و خارجی بودند که بذر آنها از موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) و موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI) تهیه شد. کلیه ارقام مورد مطالعه به‌همراه مشخصات آنها در جدول ۱ ارایه شده است. بذر ارقام مورد مطالعه پس از ضد عفونی با محلول قارچ‌کش کربوکسین تیرام (ویتاواکس تیرام) با غلظت ۲/۵ در هزار در مزرعه کشت و پس از این‌که گیاهچه‌ها به ارتفاع حدود ۳۰ سانتی‌متر (چهار برگی) رسیدند، نمونه‌های برگی تهیه و بلافاصله به فریزر ۲۰- درجه سلسیوس منتقل شدند.

DNA ژنومی از نمونه‌های برگی جوان با استفاده از روش CTAB (Murray and Thompson, 1980) استخراج و سپس کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده به وسیله ژل آگارز یک درصد تعیین شد. با بررسی مطالعات انجام شده در ارتباط با تعیین تنوع ژنتیکی در برنج (Bao *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2007; Tabkhkar *et al.*, 2012; Allahgholipour *et al.*, 2014) و نیز با جستجو در وبگاه گرامینه (www.gramene.org)، تعداد ۳۸ نشانگر ریزماهواره پیوسته با صفات کمی شامل عملکرد و اجزای عملکرد و صفات کیفی شامل میزان آمیلوز، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینه‌شدن و ویژگی‌های چسبندگی نشاسته، که همه آن‌ها روی کروموزوم شماره ۶ برنج قرار داشتند، انتخاب شدند. نام نشانگرهای مورد مطالعه در این تحقیق در جدول ۲ ارایه شده است.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر GenAmp, USA در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر واکنش، شامل ۸ میکرولیتر محلول اصلی PCR (شامل PCR Buffer 10X, dNTPs 5mM, $MgCl_2$ 50mM, Tag Polymerase 5U/ µL) و ۲ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر انجام شد. چرخه حرارتی PCR شامل ۴ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴°C، سپس ۳۶ چرخه به‌صورت ۳۰ ثانیه برای مرحله واسرشته‌سازی دو رشته DNA در دمای ۹۴°C، ۴۵ ثانیه برای مرحله اتصال آغازگرها در دمای ۶۵°C-۵۰ (با توجه به اندازه آغازگرها و نسبت بازهای آلی)، ۴۵ ثانیه برای مرحله بسط آغازگرها در دمای ۷۲°C بود که در انتها نیز ۵ دقیقه بسط انتهایی در دمای ۷۲°C صورت گرفت (Rabiei *et al.*, 2004). الگوهای الکتروفورزی محصولات PCR نمونه‌های مورد مطالعه روی ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید ۱۰ درصد و دستگاه الکتروفورز مدل MGV-102-33 تفکیک و جهت مشاهده نوارها با اتیدیوم‌بروماید با غلظت ۳ میکروگرم در میلی‌متر رنگ‌آمیزی و با دستگاه ژل‌داک (Gel Documentation 2000, BioRad) عکس‌برداری شدند.

جهت تجزیه و تحلیل آماری آزمایش، الگوهای نواری بر اساس وجود (یک) یا عدم وجود (صفر) آن‌ها در هر یک از ارقام مورد مطالعه نمره‌دهی شدند. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضرایب تشابه دایس، جاکارد و تطابق ساده به روش‌های نزدیک‌ترین همسایه‌ها، دورترین همسایه‌ها و UPGMA با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc 2002 انجام و پس از مقایسه نتایج حاصل از آن‌ها، بهترین روش که ضمن ارایه گروه‌بندی مناسب، دارای بالاترین ضریب همبستگی کوفنتیک بود و شکل پله‌ای (Chaining) نداشت، انتخاب شد. از نرم‌افزار PopGene Ver. 1.32 برای ارزیابی شاخص‌های تنوع مانند شاخص شانون، شاخص تنوع ژنی نئی، تعداد آلل موثر و فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها و از نرم افزار Power Marker نیز برای محاسبه محتوای اطلاعات چند شکلی (Polymorphism Information Content) استفاده شد.

جدول ۱- نام، منشاء و مشخصات ژنوتیپ‌های برنج مطالعه شده در این تحقیق

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

شماره No.	Genotype	ژنوتیپ	Type	نوع	Origin	منشاء
1	Line 830	لاین ۸۳۰	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
2	Line 831	لاین ۸۳۱	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
3	Saleh	صالح	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
4	Neda	ندا	Improved	اصلاح‌شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
5	Khazar	خزر	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
6	Nemat	نعمت	Improved	اصلاح‌شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
7	Dorfak	درفک	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
8	Shiroodi	شیرودی	Improved	اصلاح‌شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
9	Sepidrood	سپیدرود	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
10	Kadous	کادوس	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
11	Amol 1	آمل ۱	Improved	اصلاح‌شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
12	Amol3	آمل ۳	Improved	اصلاح‌شده	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
13	Tarom Mohali	طارم محلی	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
14	Hassani	حسنی	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
15	Anbarbo	عنبربو	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
16	Dashti	دشتی	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
17	Mosataroom	موسی طارم	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
18	Daylamani	دیلمانی	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
19	Garib	غریب	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
20	Anbarbo Illam	عنبربو ایلام	Landrace	محلی	Illam, Iran	ایلام، ایران
21	Ghashenge	قشنگه	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
22	Hashemi	هاشمی	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
23	Sangejo	سنگ‌جو	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
24	Ahlamitaroom	اهلمی طارم	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
25	Abjiboji	آبجی‌بوجی	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
26	Sadri	صدری	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
27	GharibsiahRayhani	غریب‌سیاه‌ریحانی	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
28	Domsiah	دم‌سیاه	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
29	Domzard	دم‌زرد	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
30	Salari	سالاری	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
31	Mohammadichaparsar	محمدی‌چپرسر	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
32	Hassansaraiee	حسن‌سرایی	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
33	Domsefid	دم‌سفید	Landrace	محلی	Guilan, Iran	گیلان، ایران
34	Shahpasand	شاه‌پسند	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
35	Tarom Mantaghe	طارم منطقه	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
36	Binam	بینام	Landrace	محلی	Guilan,Iran	گیلان، ایران
37	IR30	آی.آر. ۳۰	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
38	IR50	آی.آر. ۵۰	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین

جدول ۱- ادامه Table 1. Continued

شماره No.	Genotype	ژنوتیپ	Type	نوع	Origin	منشاء
39	IR60	آی.آر. ۶۰	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
40	IR36	آی.آر. ۳۶	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
41	IR58	آی.آر. ۵۸	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
42	IR28	آی.آر. ۲۸	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
43	Fojiminori	فوجی‌مینوری	Foreign	وارداتی	Japan	ژاپن
44	DC	DC	Foreign	وارداتی	Egypt	مصر
45	CY	CY	Foreign	وارداتی	Egypt	مصر
46	Taychoung	تایچونگ	Foreign	وارداتی	China	چین
47	Usen	یوسن	Foreign	وارداتی	Egypt	مصر
48	Arjantin1	آرژانتین۱	Foreign	وارداتی	Argentina	آرژانتین
49	IRFAON204	لاین‌اصلاحی	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
50	IRFAON113	لاین‌اصلاحی	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین
51	Dular	دولار	Foreign	وارداتی	India	هند
52	TETEP	تیتپ	Foreign	وارداتی	Egypt	مصر
53	Champa Boodar	چمپابودار	Landrace	محلی	Guilan,Iran	گیلان، ایران
54	Tarom Amiri	طارم امیری	Landrace	محلی	Mazandran, Iran	مازندران، ایران
55	Kontvare	کانتواره	Foreign	وارداتی	-	-
56	Gohar	گوهر	Improved	اصلاح‌شده	Guilan, Iran	گیلان، ایران
57	IR25571	IR15571	Foreign	وارداتی	IRRI, Philippines	ایری، فیلیپین

نتایج و بحث

نتایج شاخص‌های تنوع شامل تعداد آلل مشاهده شده، تعداد آلل موثر، محتوای اطلاعات چند شکلی، تنوع ژنی نئی و شاخص شانون برای کل ژنوتیپ‌ها در جدول ۲ و نیز به تفکیک برای ژنوتیپ‌های بومی، اصلاح‌شده و وارداتی در جدول ۳ ارایه شده است. تمامی ۳۸ نشانگر مورد استفاده در این تحقیق چندشکل بودند و در مجموع ۲۸۱ آلل ایجاد کردند. تعداد آلل‌ها در کل ژنوتیپ‌ها از دو آلل در جایگاه RM7434 تا یازده آلل در جایگاه‌های RM510، RM225، RM528 و RM584 با میانگین ۷/۳۹۴ آلل متغیر بود (جدول ۲). الهقلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) به‌منظور ارزیابی تنوع مولکولی و طبقه‌بندی ۹۴ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۵۲ جفت آغازگر ریزماهواره، ۳۶۱ آلل چندشکل با متوسط ۷ آلل در هر مکان ژنی گزارش کردند که نزدیک به نتیجه تحقیق حاضر بود. بررسی نتایج حاصل از پژوهش‌های محققین دیگر در مورد تعداد آلل‌های مشاهده شده در جایگاه نشانگرهای ریز ماهواره بسیار متفاوت می‌باشد. برای مثال تعداد آلل گزارش شده در نشانگر RM170 توسط طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2012) و تعداد آلل گزارش شده در نشانگرهای RM5371 و RM549 توسط الهقلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) با نتیجه این تحقیق مطابقت داشت، اما تعداد آلل گزارش شده در نشانگرهای RM190، RM204، RM253، RM276، RM314 و RM584 توسط طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2012)، برای نشانگرهای RM190، RM204، RM253، RM276، RM103، RM3 و RM340 توسط الهقلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) و در نشانگرهای RM276 و RM5371 توسط سرایلو و همکاران (Sarayloo *et al.*, 2015)، با نتیجه این تحقیق متفاوت بود. تفاوت در تعداد آلل‌ها در مکان‌های ژنی مختلف به‌علت تفاوت در مواد گیاهی مورد استفاده در پژوهش‌های مختلف و نیز به‌علت تغییر در طول واحد تکراری در اثر وقوع جهش می‌باشد که با توجه به وجود نرخ بالای جهش در جایگاه‌های ریزماهواره این احتمال ممکن است.

جدول ۲- تعداد آلل مشاهده شده و موثر، شاخص‌های شانون و نئی و میزان اطلاعات چندشکلی در کل جمعیت مورد مطالعه

Table 2. Observed and effective number of alleles, Shannon's and Nei's indices and polymorphism information content in the studied population

نشانگر ریزماهواره SSR marker	تعداد آلل مشاهده شده No. of observed allele	تعداد آلل مؤثر No. of effective allele	شاخص شانون Shannon's index	شاخص نئی Nei's index	محتوای اطلاعات چندشکلی PIC
RM412	8	5.920	1.895	0.831	0.820
RM7434	2	1.169	0.275	0.145	0.134
RM141	5	2.821	1.234	0.645	0.634
RM3183	7	5.352	1.801	0.813	0.803
RM508	9	4.468	1.747	0.776	0.757
RM314	8	5.110	1.785	0.804	0.792
RM527	5	2.982	1.239	0.665	0.611
RM510	11	9.199	2.305	0.891	0.889
RM225	11	8.030	2.199	0.875	0.873
RM30	10	5.349	1.978	0.813	0.811
RM31	10	7.539	2.139	0.867	0.862
RM402	9	6.250	1.956	0.840	0.834
RM340	8	6.006	1.883	0.834	0.829
RM217	6	4.960	1.679	0.798	0.782
RM528	11	9.197	2.297	0.891	0.889
RM204	10	8.244	2.188	0.879	0.877
RM454	7	5.878	1.842	0.830	0.823
RM162	10	7.905	2.163	0.873	0.870
RM586	7	6.312	1.889	0.842	0.834
RM589	6	5.170	1.690	0.807	0.793
RM3827	6	4.372	1.608	0.771	0.749
RM253	6	4.388	1.578	0.767	0.757
RM276	9	5.212	1.849	0.808	0.797
RM598	6	3.556	1.477	0.719	0.695
RM584	11	8.000	2.207	0.875	0.871
RM7179	8	3.000	1.543	0.667	0.659
RM6836	7	4.771	1.699	0.790	0.779
RM3	9	7.083	2.060	0.859	0.855
RM103	6	4.643	1.611	0.785	0.767
RM549	6	3.561	1.486	0.718	0.713
RM170	5	1.609	0.827	0.378	0.375
RM190	8	6.621	1.964	0.849	0.843
RM5371	7	4.860	1.723	0.794	0.786
RM5599	6	4.172	1.548	0.763	0.734
RM1340	4	2.527	1.102	0.604	0.591
RM4608	4	1.264	0.468	0.209	0.208
RM4128	8	5.158	1.778	0.806	0.797
RM3330	5	3.343	1.315	0.701	0.674
میانگین Mean	7.395	5.155	1.685	0.752	0.741

در ارقام بومی، میانگین تعداد آلل مشاهده شده ۵/۲۲۱ آلل بود که نشانگر RM7434 با یک باند کمترین و نشانگرهای RM584، RM162، RM402، RM30 و RM510 با ۸ باند بیشترین تعداد آلل را دارا بودند. میانگین تعداد آلل در ژنوتیپ‌های اصلاح‌شده، ۵/۱۸۴ آلل به‌دست آمد، به‌طوری‌که نشانگر RM7434 با یک باند، کمترین و نشانگرهای RM3، RM340، RM528، RM7179، RM30 و RM510 با ۷ باند، بیشترین تعداد قطعات تکثیر

شده را ایجاد کردند. میانگین تعداد آلل در ژنوتیپ‌های خارجی نیز ۵/۰۷۹ آلل بود و نشانگرهای RM170 و RM7434 با یک باند، کمترین و نشانگر RM162 با ۹ باند، بیشترین تعداد آلل را داشتند. بالا بودن تعداد آلل‌های مشاهده شده در ژنوتیپ‌های بومی، تنوع و تفاوت بیشتر ژنوتیپ‌های بومی را از هم نشان می‌دهد. نتایج مشابهی توسط طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2011) و مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) مبنی بر بالا بودن تعداد آلل در ارقام بومی نسبت به ارقام اصلاح‌شده و خارجی گزارش شده است. نتیجه به‌دست آمده در مطالعه حاضر در مقایسه با نتایج سایر محققین کارایی نسبی بالای نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی را نشان داد.

تعداد آلل موثر بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت است و برای مقایسه جمعیت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تحقیق، تعداد آلل موثر در جایگاه‌های مختلف از ۱/۱۶۹ تا ۹/۱۹۹ آلل متغیر و میانگین آن‌ها در کل جمعیت ۵/۱۵۵ آلل بود. بیشترین تعداد آلل موثر در جایگاه‌های RM510 و RM528 و کمترین تعداد آن در جایگاه‌های M4608 و RM7434 مشاهده شد (جدول ۲). کیبریا و همکاران (Kibria *et al.*, 2009) این شاخص را ۲/۹ به دست آوردند، هم‌چنین در مطالعه کیوان‌خسرو (Keyvankhosro, 2010) و طبخ‌کار (Tabkhkar *et al.*, 2011) میانگین تعداد آلل موثر را به‌ترتیب ۲/۶۸ و ۲/۹ آلل به‌دست آوردند. میانگین تعداد آلل موثر در مطالعه اله-قلی پور (Allahgholipour *et al.*, 2014) ۴/۷۵ آلل به-دست آمد که این نتیجه کمتر از آزمایش حاضر است. وجود این تفاوت، چنانچه برای آلل‌های مشاهده شده نیز بیان شد، می‌تواند به علت تفاوت در ژنوتیپ‌ها و مواد گیاهی مورد استفاده در پژوهش‌های مختلف باشد.

میانگین تعداد آلل موثر در ارقام بومی ۳/۶۵ آلل بود. در ژنوتیپ‌های اصلاح شده داخلی میانگین تعداد آلل موثر ۳/۷۶۳ آلل بود که نشانگر RM3 با ۵/۴۵۳ آلل موثر بیشترین و نشانگرهای RM4608 و RM7434 به‌ترتیب با ۱/۴۳۸ و ۲ آلل کمترین تعداد آلل موثر را دارا بودند. در لاین‌های خارجی نیز میانگین تعداد آلل موثر ۳/۷۵۶ آلل به دست آمد. در مطالعات طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2011) و مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015)، متوسط تعداد آلل موثر در ارقام اصلاحی و خارجی بیشتر از ارقام بومی بود که با نتیجه این تحقیق مطابقت داشت.

محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)، برای جایگاه‌های ریزماهواره مورد بررسی در این آزمایش نیز متفاوت و از ۰/۱۳۴ برای جایگاه RM7434 تا ۰/۸۸۹ برای جایگاه‌های RM510 و RM528 متغیر بود و میانگین آن نیز ۰/۷۴۱ به‌دست آمد (جدول ۲). میانگین PIC در مطالعه ربانی و همکاران (Rabbani *et al.*, 2010) ۰/۵۷۱، ساجیب و همکاران (Sajib *et al.*, 2012) ۰/۴۸، سرایلو و همکاران (Sarayloo *et al.*, 2015) ۰/۶۴ و مهری بادلو (Mehri Badloo, 2015) ۰/۵۹۵ گزارش شد که همه آن‌ها کمتر از مطالعه حاضر هستند، در مقابل اله‌قلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) مقدار PIC را ۰/۷۳۱ اعلام کردند که نزدیک به نتایج این تحقیق بود. در مقایسه نتایج هر نشانگر نیز برای مثال مقدار PIC برای نشانگر RM276 در مطالعه کیوان‌خسرو (Keyvankhosro, 2010)، طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2012) و اله‌قلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) به‌ترتیب ۰/۷۷، ۰/۷۸ و ۰/۷۹۱ و در این پژوهش اندکی بیشتر (۰/۷۹۷) بود. هم‌چنین نشانگرهای RM412، RM3183، RM510، RM225، RM30، RM31، RM402، RM340، RM528، RM204، RM454، RM162، RM586، RM584 و RM3 در این تحقیق دارای میزان PIC بیشتری نسبت به این نشانگر بودند. شاید دلیل مقادیر بالای PIC در پژوهش حاضر، انتخاب جمعیت بسیار متنوع از سه گروه مختلف بومی، اصلاح‌شده و وارداتی و نیز انتخاب نشانگرهای SSR بر اساس میزان اطلاعات چندشکل و قدرت تمایز آنها در مطالعات قبلی باشد. مقادیر بالای محتوای اطلاعات چندشکلی در این آزمایش حاکی از آن است که نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده خصوصیات کمی و کیفی دانه برنج روی کروموزوم شماره ۶، چندشکلی بالایی دارند و برای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج بسیار مناسب هستند.

در ارقام بومی، میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) ۰/۶۱۸ بود، به‌طوری‌که نشانگر RM510 با ۰/۸۵ بالاترین و نشانگر RM7434 با مقدار صفر کمترین مقدار PIC را دارا بودند. میانگین PIC در ژنوتیپ‌های خارجی، ۰/۶۷ به‌دست آمد و در این ارقام، نشانگرهای RM204 و RM528 بیشترین مقدار و نشانگرهای RM170 و RM7434 مقدار صفر را نشان دادند. در ژنوتیپ‌های اصلاح‌شده نیز میانگین PIC برابر با ۰/۶۷۴ بود و نشانگر RM4608 و RM528 به‌ترتیب با مقدار ۰/۲۹۹ و ۰/۸۵۹

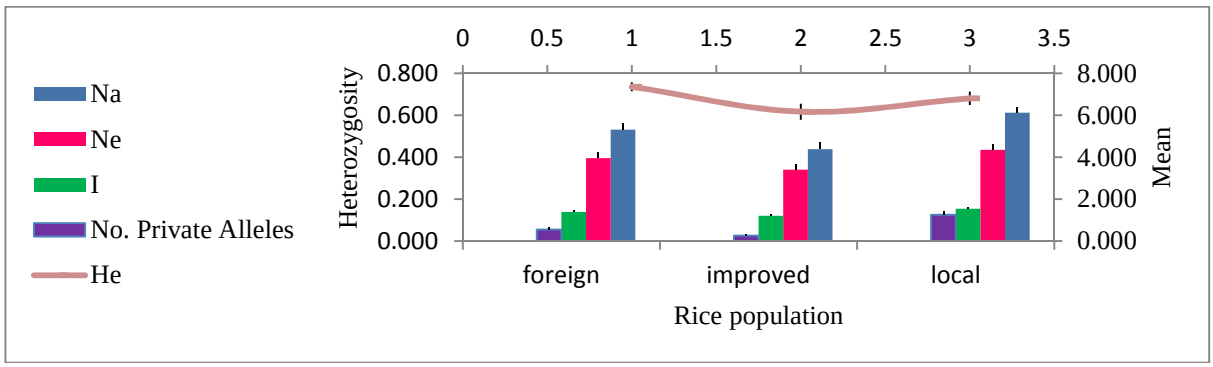
کمترین و بیشترین مقدار را نشان دادند. بالا بودن میانگین این شاخص در هر سه جمعیت نشان‌دهنده بالا بودن تنوع ژنتیکی و چندشکلی در آن‌ها می‌باشد. همچنین، این نتایج نشان داد که نشانگر RM528 نشانگر مناسبی برای بررسی تنوع بوده و برعکس نشانگر RM7434 نشانگر مفیدی نبوده است. طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2011) و مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) نیز کمترین مقدار PIC را برای ارقام بومی گزارش کردند که با نتیجه مطالعه حاضر مطابقت داشت.

مقدار تنوع ژنی متفاوت، بیانگر تصادفی بودن آلل‌ها در جمعیت است. این تنوع برای جایگاه‌های ریزماهواره بین ۰/۱۴۵ تا ۰/۸۹۱ با میانگین ۰/۷۵۲ بود که بیشترین مقدار آن برای جایگاه‌های RM528 و RM510 و کمترین مقدار آن برای جایگاه RM7434 مشاهده شد (جدول ۲). تنوع ژنی نئی در مطالعه ایواندریک و همکاران (Ivandic *et al.*, 2002) در هر مکان بین ۰/۲۵ تا ۰/۷۹، سرایلو و همکاران (Sarayloo *et al.*, 2015) بین ۰/۳۵۱ تا ۰/۸۴۰ با میانگین ۰/۶۸۶ و مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) بین ۰/۰۳۹ تا ۰/۸۱۹ با میانگین ۰/۶۲۸ گزارش شد که میانگین کمتری از تحقیق حاضر نشان می‌دهند. بر طبق نتایج به‌دست آمده، میانگین تنوع ژنی نئی در ارقام بومی ۰/۶۳۹ بود که بیشترین میزان این شاخص متعلق به نشانگر RM510 با مقدار ۰/۸۵۵ و کمترین میزان مربوط به نشانگر RM7434 با مقدار صفر بود. در ژنوتیپ‌های خارجی، میانگین تنوع ژنی نی ۰/۶۵۹ به دست آمد، به طوری که نشانگر RM528 با مقدار۰/۸۶۴ بالاترین و نشانگرهای RM170 و RM7434 با مقدار صفر، کمترین مقدار را دارا بودند. میانگین تنوع ژنی در ژنوتیپ‌های اصلاح‌شده نیز ۰/۶۹۹ بود و نشانگر RM7434 با ۰/۵۰۰ کمترین و نشانگرهای RM3 و RM510 به‌ترتیب با ۰/۸۱۷ و ۰/۸۱۶ بیشترین مقدار را دارا بودند. میانگین تنوع ژنی در ارقام اصلاح‌شده بیشتر از دو جمعیت دیگر بود. در واقع می‌توان چنین نتیجه گرفت که بیشترین مقدار تنوع ژنتیکی درون جمعیتی در بین ژنوتیپ‌های اصلاح‌شده و کمترین آن در بین ژنوتیپ‌های بومی بود که این با نتایج مطالعه طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2011) و مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) مطابقت داشت. در مطالعه چودهوری و همکاران (Choudhury *et al.*, 2013) بیشترین تنوع ژنی در ارقام برنج بومی (۰/۷۷۶) و کمترین آن در ارقام اصلاح‌شده (۰/۴۵۹) مشاهده شد که با نتایج این تحقیق مغایرت داشت. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که مفید بودن نشانگرهای مختلف در آشکارسازی تنوع ژنتیکی بین ارقام موجود در جمعیت‌های مختلف تا حد زیادی مشابه بود، به‌عبارت دیگر نشانگرهایی که بیشترین یا برعکس کمترین تنوع را در یک جمعیت نشان دادند، در دو جمعیت دیگر نیز نتایج مشابهی داشتند.

شاخص شانون نیز معیار دیگری برای ارزیابی میزان تنوع و چند شکلی موجود در جمعیت‌ها است. شاخص شانون برای کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بین ۰/۲۷۵ تا ۲/۳۰۵ با میانگین ۱/۶۸۵ متغیر بود (جدول ۲) که نسبت به مقدار به‌دست آمده در پژوهش کیبریا و همکاران (Kibria *et al.*, 2009) با میانگین ۰/۸۶۶، طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2011) با میانگین ۰/۸۸ و مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) با میانگین ۱/۲۳۳، تنوع بیشتری را نشان می‌دهد. میانگین شاخص شانون در ارقام بومی ۱/۳۰۹ برآورد شد، که نشانگر RM7434 با میزان صفر کمترین و نشانگر RM510 با میزان ۲/۰۰ بیشترین مقدار را نشان دادند (جدول ۳). ژنوتیپ‌های اصلاح شده با داشتن میانگین ۱/۴ بالاترین مقدار را داشتند. در ژنوتیپ‌های خارجی میانگین این شاخص ۱/۳۴۳ برآورد شد و دو نشانگر RM7434 و RM17 دارای مقدار صفر بودند. در مطالعه طبخ‌کار و همکاران (Tabkhkar *et al.*, 2012)، نشانگرهای RM287 و RM204 و در مطالعه مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) نشانگرهای RM584 و RM229 بیشترین مقدار شاخص شانون را در ارقام محلی داشتند. هم‌چنین در مطالعه آنها میانگین شاخص شانون در ارقام اصلاحی بیشتر از ارقام بومی به دست آمد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

به‌طور کلی، بالا بودن میانگین‌های تعداد آلل موثر، شاخص تنوع ژنی نئی و میزان اطلاعات چند شکلی در جایگاه‌های ریزماهواره مورد استفاده بیانگر کارآمدی آن‌ها در تمایز ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه است. از آنجایی که میانگین تعداد آلل در هر نشانگر، مناسب بودن آن مکان ژنی را برای تخمین تنوع ژنتیکی نشان می‌دهد، بنابراین نشانگرهای RM510، RM528، RM225، RM204، RM162 و RM584 با دارا بودن بیشترین میزان تعداد آلل مشاهده شده، آلل موثر، شاخص تنوع ژنی نئی، شاخص شانون و میزان اطلاعات چند شکلی به‌عنوان موثرترین نشانگرها جهت بررسی تنوع ژنتیکی در ارقام برنج در این مطالعه شناسایی شدند. در حقیقت این نشانگرها با داشتن

آماره‌های تنوع ژنتیکی بالاتر، از قدرت بیشتری در تفکیک ژنوتیپ‌ها برخوردار بودند و از آن‌ها می‌توان در تفکیک ژنوتیپ‌ها از هم بهره بیشتری برد. دو آغازگر RM7434 و RM4608 نیز با داشتن کم‌ترین مقدار شاخص‌های فوق برای بررسی تنوع ژنتیکی برنج مناسب نمی‌باشند. با وجود بیشتر بودن متوسط تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت بومی نسبت به دو جمعیت اصلاح‌شده و خارجی (که شاید به‌علت بزرگ‌تر بودن اندازه این جمعیت نسبت به دو جمعیت دیگر در این تحقیق می‌باشد)، سایر پارامترهای ژنتیکی شامل تعداد آلل موثر، شاخص شانون، تنوع ژنی نئی و محتوای اطلاعات چندشکلی، به‌ترتیب در ارقام اصلاح شده و خارجی بیشتر از ارقام بومی بود (شکل ۱).



شکل ۱- تعداد آلل مشاهده شده (Na) و مؤثر (Ne)، شاخص شانون (I)، میزان هتروزیگوسیتی (He) و تعداد باندهای قابل تکرار در جمعیت‌های مطالعه شده

Figure 1. Number of observed (Na) and effective alleles (Ne), Shannon's information index (I), Heterozygosity (He) and number of private bands in the studied populations

میزان تشابه و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها بر اساس روش نی (Nei, 1972) محاسبه و در جدول ۴ ارایه شد. در ماتریس حاصل از تجزیه داده‌های مولکولی، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه در محدوده ۰/۶۸۰ تا ۰/۷۰۵ متغیر بود (جدول ۴) که نشان دهنده تنوع بالای موجود در بین ژنوتیپ‌های این جمعیت‌ها بود. هم‌چنین نتایج نشان داد که بیشترین تشابه ژنتیکی بین دو جمعیت اصلاح شده و بومی و هم‌چنین اصلاح شده با لاین‌های خارجی می‌باشد. دلیل تشابه زیاد دو جمعیت اصلاح شده با ژنوتیپ‌های خارجی را می‌توان این گونه بیان نمود، که اکثر ارقام اصلاح شده ایرانی در اثر انتخاب یا دورگ‌گیری ژرم پلاسم‌های دریافت شده از ایری به‌وجود آمده‌اند. در واقع ارقام اصلاح شده داخلی یا از طریق معرفی مستقیم ارقام از ایری حاصل شده‌اند مثل آمل ۲ که از معرفی مستقیم رقم IR28 ایجاد شده است، یا از طریق تلاقی یک رقم ایری با یک ژنوتیپ اصلاحی مثل خزر×IR24 و یا از طریق تلاقی یک رقم ایری با یک رقم محلی مثل صدری×IR28 به‌وجود آمده‌اند. کبریا و همکاران (Kibria *et al.*, 2009) بیشترین مقدار فاصله ژنتیکی نی را در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه خود بر اساس نشانگرهای SSR، ۰/۳۰۶ گزارش کردند که در مقایسه با این تحقیق فاصله ژنتیکی کمتری داشتند. مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) نیز بیشترین فاصله ژنتیکی را بین جمعیت اصلاح شده داخلی با بومی گزارش کردند، که با نتیجه تحقیق حاضر مطابقت داشت. نتایج حاصل از تنوع و فاصله ژنتیکی برای انتخاب والدین به منظور بهبود ارزش اصلاحی ژنوتیپ‌ها مفید است، به طوری که تلاقی بین ژنوتیپ‌هایی که از یکدیگر دورترند، می‌تواند دورگ‌هایی تولید کند که احتمالاً پتانسیل ژنتیکی بالاتری از والدین خود دارند.

جدول ۳- تعداد آلل مشاهده شده (Na) و مؤثر (Ne)،شاخص شانون (I)، شاخص نئی (Nei) و میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) در نشانگرهای ریزماهواره به تفکیک در جمعیت‌های مختلف برنج

Table 3. Number of observed (Na) and effective (Ne) alleles, Shannon's (I) and Nei's (Nei) indices and polymorphism information content (PIC) for SSR markers in different rice populations

نشانگر ریزماهواره SSR marker	جمعیت بومی Local population					جمعیت اصلاحی Improved population					جمعیت خارجی Foreign population				
	Na	Ne	I	Nei	PIC	Na	Ne	I	Nei	PIC	Na	Ne	I	Nei	PIC
RM412	6	4.225	1.580	0.763	0.738	4	2.919	1.187	0.657	0.612	5	4.129	1.490	0.758	0.736
RM7434	1	1.000	0.000	0.000	0.000	2	2.000	0.693	0.500	0.375	1	1.000	0.000	0.000	0.000
RM141	4	1.806	0.971	0.446	0.437	4	2.273	1.020	0.560	0.505	4	1.421	0.634	0.296	0.292
RM3183	7	4.828	1.715	0.793	0.777	5	2.920	1.244	0.625	0.593	5	4.378	1.542	0.772	0.753
RM508	3	2.323	0.916	0.570	0.477	5	3.400	1.365	0.706	0.698	6	5.070	1.697	0.803	0.814
RM314	5	2.809	1.248	0.644	0.601	6	4.587	1.626	0.782	0.764	6	3.568	1.477	0.720	0.688
RM527	3	2.381	0.926	0.580	0.485	5	3.657	1.455	0.727	0.706	3	2.667	1.040	0.625	0.586
RM510	8	6.914	2.00	0.855	0.850	7	5.444	1.809	0.816	0.811	7	6.095	1.873	0.836	0.801
RM225	7	4.457	1.663	0.76	0.774	5	4.261	1.512	0.765	0.746	6	5.786	1.773	0.827	0.805
RM30	7	5.038	1.727	0.820	0.813	7	4.820	1.721	0.781	0.771	2	1.800	0.636	0.444	0.437
RM31	5	3.967	1.470	0.748	0.727	6	4.829	1.672	0.793	0.775	6	5.062	1.692	0.802	0.803
RM402	8	5.762	1.885	0.826	0.819	6	4.829	1.672	0.793	0.779	6	3.482	1.498	0.713	0.746
RM340	7	5.541	1.802	0.819	0.812	7	5.070	1.758	0.803	0.820	5	4.263	1.505	0.765	0.760
RM217	5	4.745	1.583	0.789	0.773	5	3.769	1.433	0.735	0.705	5	4.070	1.487	0.754	0.737
RM528	7	5.500	1.811	0.818	0.812	7	5.120	1.771	0.805	0.799	8	7.364	2.033	0.864	0.859
RM204	6	4.431	1.611	0.774	0.755	6	3.814	1.529	0.738	0.728	8	6.721	1.978	0.851	0.842
RM454	6	3.835	1.550	0.739	0.721	6	4.787	1.657	0.791	0.774	7	4.568	1.733	0.781	0.777
RM162	8	5.52	1.851	0.817	0.803	6	4.267	1.576	0.766	0.751	9	5.586	1.956	0.821	0.813
RM586	7	5.813	1.876	0.828	0.829	4	2.977	1.234	0.664	0.637	6	3.857	1.532	0.741	0.711
RM589	5	4.571	1.563	0.781	0.761	6	4.313	1.599	0.768	0.750	6	4.738	1.646	0.789	0.808
RM3827	4	2.172	0.996	0.540	0.496	6	4.129	1.581	0.758	0.748	4	3.189	1.271	0.686	0.652
RM253	4	2.828	1.173	0.646	0.592	4	2.969	0.987	0.539	0.486	5	3.200	1.332	0.687	0.647
RM276	6	3.755	1.486	0.734	0.705	5	3.579	1.215	0.612	0.578	6	4.787	1.657	0.791	0.782
RM598	3	2.656	1.026	0.623	0.555	4	2.169	0.987	0.539	0.487	3	1.841	0.804	0.457	0.412
RM584	8	6.400	1.957	0.844	0.836	5	3.600	1.424	0.722	0.697	8	5.586	1.875	0.821	0.817
RM7179	5	2.174	1.094	0.540	0.518	7	5.254	1.778	0.810	0.776	3	1.976	0.849	0.494	0.448
RM6836	4	3.366	1.290	0.703	0.660	3	2.648	1.035	0.622	0.574	7	4.923	1.750	0.797	0.792
RM3	7	4.921	1.732	0.797	0.784	7	5.453	1.809	0.817	0.807	4	3.270	1.288	0.694	0.638

جدول ۳- ادامه

Table 3. Continued

نشانگر ریزماهواره SSR marker	جمعیت بومی Local population					جمعیت اصلاحی Improved population					جمعیت خارجی Foreign population				
	Na	Ne	I	Nei	PIC	Na	Ne	I	Nei	PIC	Na	Ne	I	Nei	PIC
RM103	6	3.789	1.469	0.734	0.724	4	3.322	1.283	0.699	0.657	5	2.806	1.262	0.644	0.609
RM549	3	1.194	0.356	0.162	0.159	5	4.000	1.483	0.750	0.727	5	3.261	1.360	0.693	0.705
RM170	3	1.409	0.557	0.290	0.286	5	3.314	1.378	0.698	0.692	1	1.000	0.000	0.000	0.000
RM190	6	4.000	1.518	0.750	0.727	6	4.587	1.626	0.782	0.770	7	4.112	1.714	0.773	0.765
RM5371	5	2.504	1.176	0.600	0.580	6	2.979	1.395	0.664	0.645	6	3.482	1.498	0.713	0.704
RM5599	5	3.655	1.397	0.717	0.680	6	4.313	1.599	0.768	0.749	4	3.322	1.283	0.699	0.658
RM1340	2	1.268	0.367	0.211	0.189	4	2.952	1.181	0.637	0.596	4	3.122	1.223	0.680	0.659
RM4608	3	1.291	0.456	0.226	0.215	3	1.438	0.578	0.304	0.299	2	1.133	0.234	0.117	0.095
RM4128	6	4.091	1.587	0.756	0.778	5	3.848	1.287	0.649	0.636	5	3.571	1.402	0.720	0.684
RM3330	3	1.342	0.509	0.255	0.240	4	2.682	1.157	0.627	0.582	3	2.528	0.991	0.604	0.527
میانگین Mean	5.221	3.650	1.309	0.639	0.618	5.184	3.763	1.400	0.699	0.674	5.079	3.756	1.343	0.659	0.641

به‌منظور ارزیابی میزان تنوع مولکولی بین و درون سه گروه از ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه (بومی، اصلاح‌شده داخلی و وارداتی) بر اساس نشانگرهای ریزماهواره، تجزیه واریانس مولکولی بین این سه جمعیت انجام شد (جدول ۵). تجزیه واریانس مولکولی اختلاف بین جمعیت‌ها را برای نشانگرهای ریزماهواره معنی‌دار نشان داد که حاکی از وجود تنوع ژنتیکی برای نشانگرهای ریزماهواره در ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. از کل واریانس مربوط به ۳۸ نشانگر ریزماهواره در ۵۷ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه، ۶ درصد در بین سه جمعیت و ۹۴ درصد در درون این سه جمعیت مشاهده شد. به‌این ترتیب، می‌توان اذعان کرد که تنوع بین ژنوتیپ‌های درون جمعیت‌ها بالا بوده و با روش‌های ساده اصلاحی می‌توان ژنوتیپ‌های برتر در هر یک از این جمعیت‌ها را انتخاب و جمعیت‌ها را اصلاح کرد. این نتیجه تأییدی بر نتایج حاصل از محاسبه معیارهای تنوع در هر یک از جمعیت‌ها بود، به‌طوری‌که محاسبه معیارهای تنوع به‌تفکیک برای ژنوتیپ‌های هر یک از جمعیت‌ها نشان‌دهنده وجود تنوع بالا در آنها بود (جدول ۳). مهری بادلو (Mehri-Badloo, 2015) واریانس بین سه جمعیت بومی، اصلاح شده و خارجی را ۱۴درصد و واریانس بین ژنوتیپ‌های درون این سه جمعیت را ۸۶ درصد گزارش کرد که کمتر از واریانس بین ژنوتیپ‌های درون جمعیت‌ها برای تحقیق حاضر بود.

جدول ۴- ضرایب تشابه (بالای قطر) و فاصله (پایین قطر) ژنتیکی بین جمعیت‌های بومی، اصلاح‌شده و وارداتی بر اساس شاخص نئی

Table 4. Genetic similarity (above-) and distance (below- diagonal) between local, improved and forein rice populations using Nei's index

جمعیت‌های برنج Rice populations	بومی Local	اصلاح‌شده Improved	وارداتی Foreign
بومی Local	-	0.705	0.699
اصلاح شده Improved	0.350	-	0.680
وارداتی Foreign	0.358	0.385	-

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی بین سه جمعیت مورد مطالعه برنج

Table 5. Analysis of molecular variance among three studied rice populations

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of square	میانگین مربعات Mean square	اجزای واریانس Variance components	درصد واریانس Variance percentage
بین جمعیت Among population	2	251.927	125.964**	3.689	6%
درون جمعیت Within population	54	3167.231	58.652**	58.652	94%
کل Total	56	3419.158	_	62.342	100%

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ .

**: Significant at 1% probability level.

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA بر مبنای ضریب تشابه جاکارد، به‌دلیل ارایه دندروگرام مناسب و بدون زنجیره‌ای شدن، ضریب همبستگی کوفنتیک بالا و بهترین نتیجه در گروه‌بندی ارقام مورد مطالعه، انتخاب شد. ضریب همبستگی کوفنتیک ۰/۸۲ بود که این مقدار بالای ضریب همبستگی نشان‌دهنده این است که تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب تشابه جاکارد بر اساس داده‌های حاصل از نشانگرهای ریزماهواره در گروه‌بندی ارقام برنج مورد بررسی مناسب بوده است. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای این روش در شکل ۲ ارایه شده است. برش دندروگرام با هدف گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، بر اساس بیشترین فاصله محل ادغام ژنوتیپ‌ها انجام شد. بر این اساس ۵۷ رقم مورد مطالعه در چهار گروه طبقه‌بندی شدند (شکل ۲).

گروه اول با ۱۱ رقم شامل ۱۹/۳۰ درصد از ژنوتیپ‌ها بود که شامل دو لاین وارداتی ۸۳۰ و ۸۳۱ با منشاء فیلیپین و ۹ رقم اصلاح‌شده داخلی شامل صالح، سپیدرود، درفک، شیرودی، کادوس، آمل۱ و آمل۳، ندا و نعمت بود. داشتن ویژگی‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک مشابه، دلیل روشنی برای قرار گرفتن این ژنوتیپ‌ها در یک گروه می‌باشد. ارقام این گروه می‌توانند در دستیابی به ارقام پرمحصول با کیفیت پخت و خوراک عالی مورد استفاده قرار گیرند. تمامی ارقام این گروه به استثنای شیرودی میان‌رس هستند. این گروه دارای خصوصیاتی مثل ارتفاع بوته مناسب، خوشه بلند، آمیلوز بالا، دانه پر و عملکرد زیاد با برگ‌های باریک و بلند می‌باشد. رقم نعمت که حاصل تلاقی دو رقم آمل۳ و سنگ طارم است، به‌همراه رقم آمل۳ در یک گروه قرار گرفته است. نشانگرهای RM253 و RM4608 با ۸۱/۸۲ درصد نوار مشابه و نشانگرهای RM141، RM3183، RM598، RM5371 و RM1340 با ۷۲/۷۲ درصد نوار مشابه برای این گروه، باعث تمایز این گروه از سایر گروه‌ها شدند.

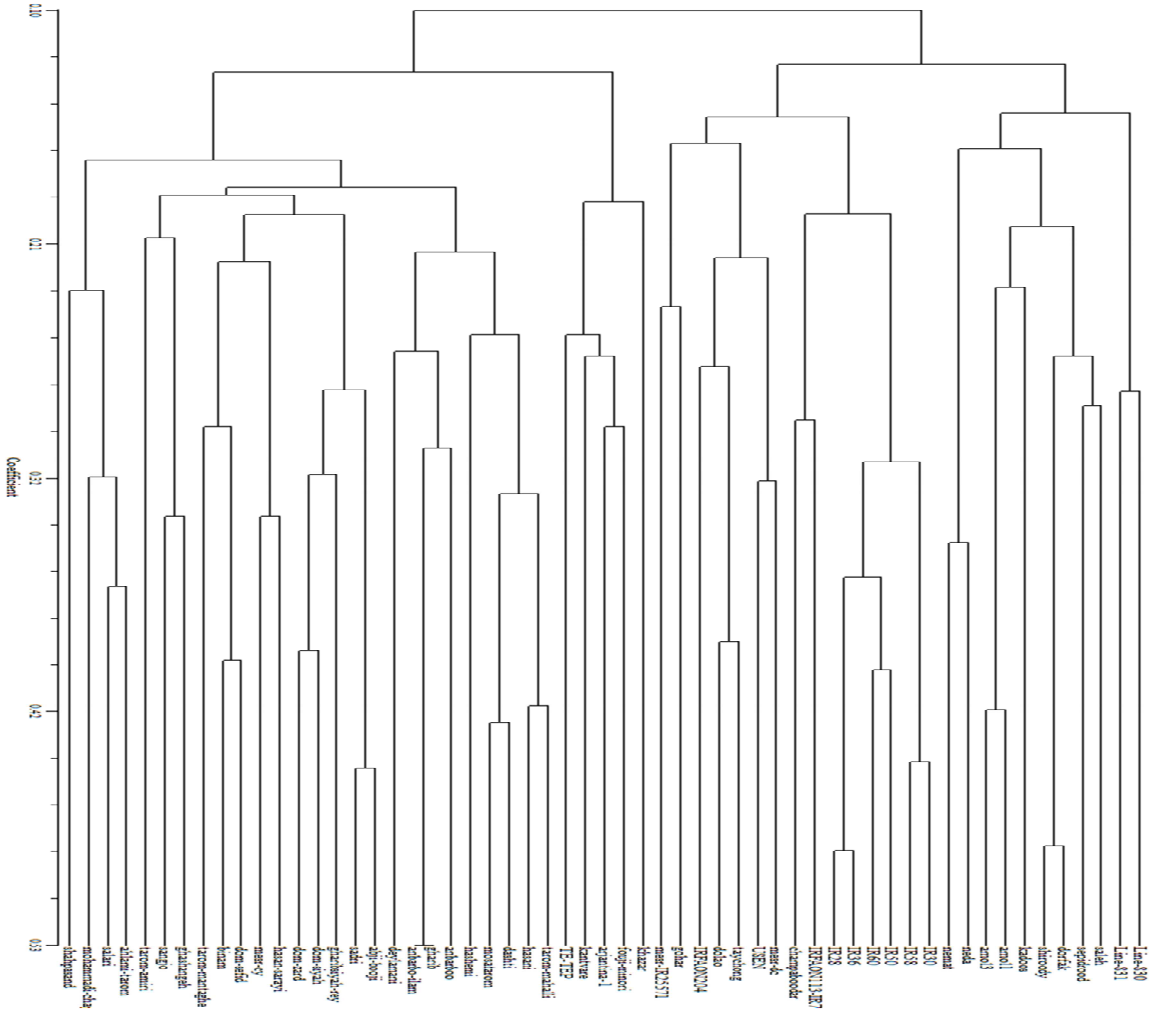
گروه دوم حاصل از تجزیه خوشه‌ای شامل ۱۵ ژنوتیپ (۲۶/۳۲ درصد) بود که کلیه ارقام و لاین‌های خارجی با منشاء فیلیپین شامل IR58، IR50، IR60، IR36، IR30، IR28، IR25571، IRFAON204 و IRFAON113 همراه با دو لاین DC و یوسن با منشاء مصر و لاین تایچونگ با منشاء چین به‌همراه دو رقم گیلانی چمپابودار (بومی) و گوهر (اصلاح‌شده) در گروه دوم قرار گرفتند. قرار گرفتن دو لاین IR50 و IR60 در یک زیر گروه و نزدیکی آنها به دو لاین IR36 و IR28 به این دلیل است که لاین IR50 حاصل تلاقی IR2153-14-1-6-2، IR28 و IR36 بوده و لاین IR60 حاصل تلاقی سه لاین IR4432-53-3-3، PTB33 وIR36 است. عملکرد بالا و پاکوتاهی به‌همراه میزان آمیلوز و میزان برنج خرد بالا از ویژگی‌های مثبت و منفی ژنوتیپ‌های این گروه به‌شمار می‌آید که می‌تواند در مواقع لزوم مورد استفاده به‌نژادگران قرار گیرد (Allahgholipour *et al.*, 2014). ارقام تشکیل‌دهنده این گروه برای دو نشانگر RM7434 و RM170 دارای ۱۰۰ درصد نوار مشابه و برای نشانگرهای IR141، RM7179 و RM4608 دارای ۹۳/۳۳ درصد نوار مشابه بودند.

پنج رقم وارداتی فوجی‌مینوری با منشاء ژاپن، TETEP با منشاء مصر، آرژانتین۱ با منشاء آرژانتین و کانتواره به همراه رقم اصلاح شده داخلی خزر که شامل ۸/۷۷ درصد از ژنوتیپ‌ها بودند، در گروه سوم قرار گرفتند. ارقام این گروه برای چهار نشانگر RM7434، RM598، RM4608 و RM1340 دارای ۱۰۰ درصد نوار مشابه و برای دو نشانگر RM527 و RM402 دارای ۸۰ درصد نوار هم‌شکل بودند. قرار گرفتن دو رقم اصلاح‌شده ایرانی در کنار ارقام خارجی به این دلیل است که عموماً ارقام اصلاح شده ایرانی در اثر گزینش ژرم‌پلاسم‌های IRRI و یا دورگ‌گیری بین ارقام بومی و IRRI به‌وجود آمده‌اند و همین مشابهت ژنتیکی باعث شده است که این ارقام از جمعیت خود جدا شده و با ارقام خارجی در یک گروه قرار گیرند.

ارقام بومی برنج ایرانی با داشتن شجره و زمینه یکسان از نظر ژنتیکی، شباهت زیادی به هم داشته و به‌همین دلیل تمامی آنها به استثنای رقم چمپابودار در گروه چهارم قرار گرفتند که ۴۵/۶۱ درصد (۲۶ رقم) از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را شامل می‌شد. ارقام محلی این گروه شامل طارم محلی، حسنی، دشتی، موسی طارم، هاشمی، عنبربو، غریب، عنبربو ایلام، دیلمانی، آبجی بوجی، صدری، غریب سیاه ریحانی، دم‌سیاه، دم‌زرد، حسن‌سرایی، دم‌سفید، بینام، طارم منطقه، قشنگه، سنگ‌جو، طارم امیری، اهلمی طارم، سالاری، محمدی چپرسر و شاه‌پسند بودند که به‌همراه یک رقم وارداتی از مصر به نام DY در گروه چهارم قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها از نظر چهار نشانگر RM549، RM4608، RM7434 و RM1340 به‌ترتیب دارای ۷۶/۹۲، ۸۰/۷۷، ۸۸/۴۶ و ۹۲/۳۱ درصد نوار مشابه و هم‌شکل بودند. نتایج این پژوهش نشان داد که برنج‌های ایرانی علاوه بر داشتن تنوع ژنتیکی بسیار زیاد (جدول ۳)، دارای ساختار ژنتیک خاص و متفاوت از دیگر برنج‌های آسیایی هستند (شکل ۲) و به‌همین دلیل همگی (به استثنای رقم چمپابودار) در یک گروه و جدا از ارقام سایر جمعیت‌ها قرار گرفتند. این تفاوت احتمالاً به‌این دلیل است که ارقام و توده‌های بومی ایران طی سالیان متمادی به‌طور مستقل در یک زیست‌بوم نسبتاً منحصر به فرد (دارای تفاوت قابل ملاحظه با زیست‌بوم اصلی این گیاه در آسیای جنوب شرقی، هند و چین) تکامل یافته‌اند. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در چهار گروه بیانگر تنوع بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در مکان‌های ژنی مورد نظر است.

تنوع ژنتیکی بین ارقام در مطالعات مختلف همبستگی بالایی با پراکندگی جغرافیایی آنها داشته است، به‌طوری‌که ارقامی که در شرایط متفاوت کشت شده‌اند طی سال‌ها حاوی ژن‌های متفاوتی شده‌اند. این ژن‌های متفاوت در ارقام محلی و جوامع گیاهی پراکنده بوده و در طول هزاران سال توسط زارعین و طبیعت به خاطر سازگاری، مقاومت و

محصول‌دهی گزینش شده‌اند (Sarayloo *et al.*, 2015). در مطالعه بائو و همکاران (Bao *et al.*, 2006) در بررسی تنوع و شباهت ژنتیکی بین ۵۶ رقم برنج با استفاده از دو نشانگر AFLP و ISSR، مانند تحقیق حاضر، دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ارقام بومی و اصلاح‌شده را به وضوح از هم تفکیک کرد. در مطالعه آلوارز و همکاران (Alvarez *et al.*, 2007) نیز تجزیه خوشه‌ای تنوع ژنتیکی بین ارقام مورد مطالعه را بر اساس منشا آن‌ها نشان داد و توانست ارقام را مطابق با منشا آن‌ها در سه گروه مختلف تقسیم کند. دندروگرام تجزیه خوشه‌ای در مطالعه پروایز و همکاران (Pervaiz *et al.*, 2010) نیز برای اندازه‌گیری تنوع ژنتیکی بین ۷۵ ژنوتیپ برنج پاکستان با استفاده از ۳۵ نشانگر ریزماهواره، ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه تقسیم کرد. در مطالعات الهقلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) ۹۴ ژنوتیپ مختلف برنج با استفاده از ۵۲ نشانگر ریزماهواره در ۹ گروه قرار گرفتند که در مطالعه آن‌ها نیز مشابه تحقیق حاضر، تمامی ارقام بومی ایرانی به استثنای دو رقم محمدی و چمپابودار در دو گروه مجاور هم قرار گرفتند. ولی‌زاده صومعه و همکاران (Valizadeh Soumeh *et al.*, 2014) نیز ۳۲ ژنوتیپ برنج را با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره به سه گروه تفکیک کردند که در تحقیق آنها نیز ارقام اصلاحی در کنار ارقام وارد شده از ایری قرار گرفتند.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد جهت گروه‌بندی ارقام برنج

Figure 2. Dendrogram of cluster analysis using UPGMA method and Jaccard's similarity coefficient for grouping rice varieties

به‌منظور ارزیابی میزان تنوع مولکولی بین و درون چهار گروه برنج حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرهای ریزماهواره، تجزیه واریانس مولکولی با در نظر گرفتن گروه‌ها به‌عنوان تیمار و ژنوتیپ‌های درون هر گروه به عنوان تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج نشان داد که اختلاف بین جمعیت‌ها (گروه‌ها) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، به‌این معنی که انتخاب گروه‌ها به درستی انجام شده است. از کل واریانس مربوط به ۳۸ نشانگر ریزماهواره در ۵۷ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه، ۱۳ درصد در بین گروه‌ها و ۸۷ درصد در بین ژنوتیپ‌های درون گروه‌ها مشاهده شد (جدول ۶). به‌این ترتیب می‌توان گفت که تنوع یا واریانس قابل توجهی نیز در درون گروه‌ها وجود دارد و از این‌رو می‌توان با روش‌های اصلاحی ساده و متداول ژنوتیپ‌های برتر در هر یک از این جمعیت‌ها را انتخاب و جمعیت‌ها را اصلاح کرد. از آنجای‌که برنج گیاهی خودگشن و با خلوص بالا (هموزایگوس و هموژن) محسوب می‌شود، نمایان ساختن تنوع بین ارقام و استفاده از پدیده هتروزیس در برنامه‌های اصلاحی نتایج مطلوبی خواهد داد (Spada *et al.*, 2004).

جدول ۶- تجزیه واریانس مولکولی بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای

Table 6. Analysis of molecular variance among four groups derived from cluster analysis

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	مجموع مربعات Sum of square	میانگین مربعات Mean square	اجزای واریانس Variance components	درصد واریانس Variance percentage
بین گروه‌ها Among groups	3	496.615	165.538**	8.573	13%
درون گروه‌ها Within groups	53	2922.543	55.142**	55.142	87%
کل Total	56	3419.158	_	63.715	100%

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪. **: Significant at 1% probability level.

نتیجه‌گیری کلی

مقادیر بالای شاخص تنوع محاسبه شده در این تحقیق شامل شاخص شانون، شاخص تنوع ژنی نئی و PIC نشان داد که نشانگرهای SSR کروموزوم ۶ برنج چندشکلی بالایی در ارقام برنج مورد مطالعه داشتند و انتخاب کروموزوم ۶ برای بررسی تنوع ژنتیکی ارقام برنج مطالعه‌شده در این تحقیق در سطح مولکول DNA بسیار مناسب بود. از بین ۳۸ نشانگر مورد استفاده در این تحقیق، نشانگرهای RM510، RM225، RM31، RM402، RM528، RM204، RM162، RM584 و RM3 با دارا بودن بیشترین تعداد آلل موثر، شاخص تنوع ژنی نئی و میزان اطلاعات چندشکلی، به‌عنوان بهترین نشانگرها جهت ارزیابی تنوع مولکولی در ارقام برنج معرفی می‌شوند و در مقابل، نشانگرهای RM4608، RM170 و RM7434 با داشتن کمترین مقدار شاخص‌های تنوع، نشانگرهای مناسبی برای بررسی تنوع ژنتیکی نیستند. گروه‌بندی ارقام مطالعه شده با تجزیه خوشه‌ای نیز نشان داد که سه جمعیت بومی، اصلاح شده و وارداتی را می‌توان در چهار گروه قرار داد. از آنجایی که نشانگرهای استفاده شده در این تحقیق با صفات مهم کمی و کیفی پیوسته بودند، بنابراین می‌توان انتظار داشت که با انجام تلاقی بین ارقام برنج موجود در گروه‌های متفاوت بتوان ارقام جدیدی که برتر از این ارقام باشند را تولید کرد.

References

Aghazadeh, R., Ghareyazie, B., Nematzadeh, Gh. and Babaeian Jelodar, N. 2004. Classification of Iranian rice germplasm by RAPD markers. **Journal of Agricultural Science** 3: 757-767. (In Persian with English Abstract).

Alvarez, A., Fuentes, J. L., Puldón, V., Gómez, P. J., Mora, L., Duque, M. C., Gallego, G. and Tohme, J. M. 2007. Genetic diversity analysis of Cuban traditional rice (*Oryza sativa* L.) varieties based on microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology** 4: 1109-1117.

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

Bao, J. S., Corke, H., He, P. and Zhu, L. H. 2003. Analysis of quantitative trait loci for starch properties of rice based on an RIL population. **Acta Botanica Sinica** 45: 986-994.

Bao, J., Corke, H. and 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.

Choudhury, B., Latif-Khan, M. and Dayanandan, S. 2013. Genetic structure and diversity of indigenous rice (*Oryza sativa*) varieties in the Eastern Himalayan region of Northeast India. **Springer Plus** 2: 228.

Collard, B. C. Y., Jahufer, M. Z. Z., Brouwer, J. B. and Pang, E. C. K. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica** 142: 169-196.

FAO. 2016. http://www.fao.org/fsnforum/cfs-hlpe/nutrition-and-food-systems.

Grishma, S. H., Sasidharan, N., Chakraborty, S., Trivedi, R., Ravikiran, R. and Davla, D. 2012. Genetic diversity and molecular analysis for fertility restorer genes in rice (*Oryza sativa* L.) for wild abortive (WA) cytoplasm using microsatellite markers. **Journal of Agricultural Technology** 8 (1): 261-271.

Ivandic, V., Hackett, C. A., Nevo, E., Keith, R., Thomas, W. T. B. and Forster, B. 2002. Analysis of sequence repeats (SSR) in wild barley from the fertile crescent: Associations with ecology, geography and flowering time. **Plant Molcular Biologic** 48: 511-527.

Karim, K., Rawda, A., Hatem, C. M., Mbarek, B. N. and Mokhtar, T. 2010. Analysis of genetic diversity and relationships in local Tunesian barley by RAPD and SSR analysis. **African Journal of Biotechnology** 9 (44): 7429-7436.

Keyvankhosro, A. 2010. Grouping of rice cultivars based on microsatellite markers linked to yield and yield components. M. Sc. dissertation, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan. (In Persian).

Kibria, K., Nur, F., Begum, S. N., Islam, M. M., Paul, S. K., Rahman, K. S. and Azam, S. M. M. 2009. Molecular marker based genetic diversity analysis in aromatic rice genotypes using SSR and RAPD markers. **International Journal of Sustainable Crop Production** 4 (1): 23-43.

Kumar, R., Kumar, A., Kumar, S. A. and Radha, J. 2012. Evaluation of genetic diversity in rice using simple sequence repeats (SSR) markers. **African Journal of Biotechnology** 84: 14956-14995.

Mehri-Badloo, Z. 2015. Identifying suitable parents for production of high yielding rice hybrids using SSR markers. M. Sc. dissertation, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan. (In Persian).

Mondini, L., Noorani, A. and Mario, A. 2009. Assessing plant genetic diversity by molecular tools. **Diversity** 1: 19-35.

Murray, M. G. and Thompson, W. F. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant. **Nucleic Acids Research** 8: 4321-4325.

Naghavi, M. R., Mardi, M., Ramshini, H. A. and Fazelinasab, B. 2004. Comparative analyses of the genetic diversity among bread wheat genotypes based on RAPD and SSR markers. **Iranian Journal of Biotechnology** 2: 195-202. (In Persian with English Abstract).

Nei, M. 1972. Genetic distanse between population. **American Naturalist** 160: 283-292.

Park, G. H., Kim, J. H. and Kim, K. M. 2014. QTL analysis of yield components in rice using a cheongcheong/nagdong doubled haploid genetic map. **American Journal of Plant Sciences** 5: 1174-1180.

Pervaiz, Z. H., Rabbani, M. A., Khaliq, I., Pearce, S. and Malik, S. A. 2010. Genetic diversity associated with agronomic traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces. **Electronic Journal of Biotechnology** 13 (3): 1-12.

Rabbani, M. A., Masood, M. S., Shinwari, Z. K. and Shinozaki, K. Y. 2010. Genetic analysis of basmati and non-basmati pakistani rice *(Oryza sativa* L.) cultivars using microsatellite markers. **Pakistan Journal of Botany** 42 (4): 2551-2564.

Rabiei, B., Valizadeh, M., Ghareyazie, B., Moghaddam, M. and Ali, A. J. 2004. Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. **Euphytica** 137: 325-332.

Sajib, A. M., Musharaf Hossain, M., Mosnaz, A. T. M. J., Monirul Islam, M. and Shamsher Ali, M. 2012. SSR marker-based molecular characterization and genetic diversity analysis of aromatic landraces of rice. **Journal of Bioscience and Biotechnology** (2): 107-116.

Sarayloo, M., Sabouri, H. and Dadras, A. R. 2015. Assessing genetic diversity of rice genotypes using microsatellite markers and their relationship with morphological characteristics of seedling stage under non- and drought-stress conditions. **Cereal Research** 1-15. (In Persian with English Abstract).

Semagn, K., Bjornstad, A. and Ndjiondjop, M. N. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. **African Journal of Biotechnology** 5 (25): 254-256.

Senior, M. L., Mutphy, J. P., Goodman, M. M. and Stuber, C. W. 1998. Utility of SSRs for determinig genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system**. Crop Science** 38:1088-1098.

Sheng-Jun, W., Zuo-Mei L. and Jian-Min W. 2006. Genetic diversity among parents of hybrid rice based oncluster analysis of morphological traits and simple sequence repeat markers. **Rice Science** 13 (3): 155-160.

Singh, S. K., Sharma, S., Koutu, G. K., Mishra, D. K., Singh, P., Prakash, V., Kumar, V. and Pal, N. 2014. Genetic diversity in NPT lines derived from *indica* × *japonica* sub-species crosses of rice (*Oryza sativa* L.) using SSR markers. **Scholarly Journal of Agricultural Science** 4 (3): 121-132.

Song, L.Y., Liu, X., Chen, W. G., Hao, Z. F., Bal, L. and Zhang, D. G. 2013. Genetic relationships among Chinese maize OPVs based on SSR markers. **Journal of Integrative Agriculture** 12 (7): 1130-1137.

Spada, A., Mantegazza, R., Biloni, M., Caporali, E. and Sala F. 2004. Italian rice varieties: Historical data, molecular markers and pedigrees to reveal their genetic relationships. **Plant Breeding** 123: 105-111.

Syahsar, B., Allahdu, M. and Shahsavand Hassani, 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 with English Abstract).

Tabkhkar, N., Rabiei, B. and Sabouri, A. 2011. Evaluating allele frequency and polymorphism of microsatellite markers linked to gene loci controlling rice grain quality. **Iranian Journal of Field Crop Science** 42 (3): 495- 507. (In Persian with English Abstract).

Tabkhkar, N., Rabiei, B. and Sabouri, A. 2012. Genetic diversity of rice cultivars by microsatellite markers tightly linked to cooking and eating quality. **Australian Journal of Crop Science** 6 (6): 980-985.

Valizadeh Soumeh, Z., Samizadeh Lahiji, H. and Rabiei, B. 2014. Assessment of morphologic and genetic diversity of rice varieties using SSR markers associated with drought tolerance characteristics. **Cereal Research** 4 (2): 89-101. (In Persian with English Abstract).

Wang, L. Q., Liu, W. J., Xu, Y., He, Y. Q., Luo, L. J., Xing, Y. Z., Xu, C. G. and Zhang, Q. 2007. Genetic basis of 17 traits and viscosity parameters characterizing the eating and cooking quality of rice grain. **Theoretical and Applied Genetics** 115: 463-76.

Zuo, J. R. and Li, J. Y. 2014. Molecular dissection of complex agronomic traits of rice: A team effort by Chinese scientists in recent years**. National Science Review** 1 (2): 253-276**.**

University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research
Vol. 7, No. 1, Spring 2017 (33-50)

Assessing molecular diversity and genetic relationships among rice (*Oryza sativa* L.) varieties

Adibe Nili[1], Babak Rabiei[2*], Mehrzad Allahgholipour[3] and Ali Akbar Ebadi[3]

Received: October 10, 2015 Accepted: January 31, 2016

Abstract

The objective of this research was to assess the genetic diversity and relationships among 57 rice varieties from the collection of Rice Research Institute of Iran, Rasht, Iran, including 26 local, 13 improved and 18 forein varieties using 38 SSR markers linked to grain quantitative and qualitative characteristics on the chromosome 6. In total, 281 alleles were identified in the studied genotypes and the number of alleles per locus ranged from 2 to 11. The average number of observed and effective alleles were 7.39 and 5.15 alleles, respectively, and Nei's gene diversity, Shannon's diversity index and polymorphism information content were 0.752, 1.685 and 0.741, respectively, showing high levels of genetic variation among the studied varieties. Evaluating diversity indices to compare the studied SSR markers showed that RM510, RM225, RM31, RM402, RM528, RM204, RM162, RM584 and RM3 having the highest diversity values, respectively, were the most effective and informative markers for studying the genetic diversity in rice. Evaluation of genetic similarity among the local, improved and forein varieties revealed that the most similarities was between local and improved varieties and the lowest similaties was between improved and forein varieties. Cluster analysis using UPGMA method based on jaccard's similarity coefficient, classified 57 studied rice varieties into four separate groups, so that the local, improved and forein varieties were partially segregated. Therefore, based on the results of this study, the use of RM510, RM225, RM31, RM402, RM528, RM204, RM162 , RM584 and RM3 as efficient and informative markers for studying genetic diversity of rice varieties are suggested. The crosses between the varieties into further groups derived from cluster analysis can also be used to provide new varieties with diverse quantitative and qualitative characteristics.

Keywords: Local variety, Microsatellite marker, Quantitative and qualitative characteristics

1. M. Sc. Graduated, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran,
2. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Research Assist. Prof., Dept. of Seed Improvement, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
* Corresponding author: rabiei@guilan.ac.ir