دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی تنوع ژنتیکی در ارقام برنج (*Oryza sativa* L.) موجود در ایران با استفاده از نشانگرهای SSR

مهرنسا قره‌خانی[۱]، سعید نواب‌پور[۲]، حسین صبوری[۳] و سیده‌ساناز رمضان‌پور[۴]

۱ و ۴- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲- دانشیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان گرگان، (نویسنده مسوول: s.navabpour@yahoo.com)
۳- دانشیار، دانشگاه گنبدکاووس
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۲۸

چکیده

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های برنج موجود در ایران، تنوع موجود در ۳۸ رقم برنج با استفاده از ۱۴ نشانگر SSR بررسی شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی واقع در شهرستان آزادشهر در سال ۱۳۹۲ انجام شد نمونه‌های گیاهی در مرحله پنجه‌زنی در اوایل صبح از ژنوتیپ‌های مختلف جمع‌آوری شد. DNA از نمونه‌های گیاهی استخراج و جداسازی با استفاده ازژل پلی‌آکریل آمید بر روی آنها انجام شد. فواصل ژنتیکی زیاد بین ارقام تنوع بالایی را بین ژنوتیپ‌های برنج ایرانی نشان داد. تجزیه به مولفه‌های اصلی ۶۲ درصد از تغییرات را توجیه کرد. بیشترین فراوانی آللی مربوط به مکان RM302 (۰/۶۲) و کمترین فراوانی آللی مربوط به مکان ژنی RM262 (۰/۲۱) می‌باشد. میانگین فراوانی آللی ۰/۳۹ بود. بیشترین محتوای اطلاعات چند شکل در RM262 (۰/۸۱) و کمترین در RM241 (۰/۳۳) ثبت شد و میانگین PIC، ۰/۵۱ بود. میانگین شاخص شانون ۰/۳۳ بود از میان نشانگرهای ریزماهواره به‌کار رفته در این مطالعه نشانگرهای RM341، RM255، RM142 و RM262 قدرت تمایز بالایی داشتند. بیشترین تعداد نشانگر مثبت در صفت ارتفاع دیده شد. تجزیه خوشه‌ای به روش وارد ژنوتیپ‌ها را در سه گروه قرار داد. در کل می‌توان گفت ارقام موجود در ایران از تنوع بالایی برخوردارند و می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی از تنوع موجود در آنها بهره جست. نشانگرهای به‌کار رفته در این مطالعه به دلیل رنج بالای تنوع در آنها، در مطالعات بعدی و یا کارهای اصلاحی سودمند خواهد بود.

واژه‌های کلیدی: برنج ایرانی، تنوع ژنتیکی، نشانگر SSR

مقدمه

برنج از خانواده گرامینه و یکی از مهم‌ترین محصولات جهان است که در سراسر دنیا در نواحی گرمسیر و سردسیر رشد می‌کند. بیش از نیمی از مردم جهان یک وعده اصلی غذا به برنج وابسته‌اند (۹). تأمین نیاز کشور به برنج در آینده با تکیه بر استفاده از روش‌های اصلاحی نباتات و تولید واریته‌های پر محصول محقق می‌گردد. برای این منظور، متخصصین اصلاح‌نباتات باید اقدام به انتخاب صحیح والدین مورد استفاده در تلاقی نمایند که امری حساس و با اهمیت می‌باشد (۱۱،۸). از آنجا که اکثر صفات مهم مرفولوژیک و فیزیولوژیک موثر بر عملکرد مانند محتوای کلروفیل کمی است و بلوک‌های ژنی در بروز آنها نقش دارند، ژنتیک کلاسیک قادر نیست نحوه رفتار ژن‌های کنترل کننده صفات کمی را به صورت ژن‌های مجزا مورد بررسی قرار دهد. با پیشرفت تکنولوژی نشانگرهای مولکولی، تهیه نقشه پیوستگی و نرم‌افزارهای مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی، ابزارهای قدرتمندی جهت بررسی مولکولی صفات کمی فراهم شده است (۱۲،۱۰). در این میان ریزماهواره‌ها ابزار مهمی برای تعریف تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم هستند (۶). ریزماهواره‌ها یا توالی‌های تکراری ساده[1](SSR) در تشخیص تنوع موجود در گونه‌های گیاهی مهم همچون پنبه، برنج، گندم، ذرت و غیره نقش به سزایی داشتند. نشانگرهای ریزماهواره شامل واحدهای یک تا شش‌تایی تکرار شونده‌اند که در ژنوم بیشتر یوکاریوت‌ها پراکنده‌اند به طوری که در هر ۱۰۰۰۰ جفت باز در طول DNA دست کم یک ردیف ریزماهواره با دو ردیف منحصر به فرد در دو طرف آن دیده می‌شود (۱۷). نشانگرهای SSR مزایایی همچون سرعت بالا، سادگی، پلی‌موفیسیم و پایداری دارند، بنابراین خیلی سریع استفاده از آنها در آنالیزهای تنوع ژنتیکی، نقشه‌یابی، مکان‌یابیژن‌ها، انگشت‌نگاری، آزمایش خلوص ژنتیکی، آنالیز ژرم‌پلاسم، فهمیدن هتروزیس و تفسیر گونه‌ها و معرفی گونه‌های خویشاوند استفاده شدند (۶). زنگ و همکاران (۲۲) تنوع ژنتیکی ۳۳ ژنوتیپ برنج را با استفاده از ۲۵ نشانگر SSR بررسی کردند. در مجموع ۱۲۳ آلل با میانگین ۴/۹ آلل در هر مکان در ۳۳ ژنوتیپ مشاهده شد. تعداد آلل‌های هر مکان رنجی بین دو تا نه آلل در هر مکان را داشت. محتوای اطلاعات چند شکل بین ۰/۸۵-۰/۰۶، با میانگین ۰/۵۷ بود. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را در دو گروه با میزان تشابه ۱۰ درصد براساس ضریب تشابه جاکارد قرار داد. وانیراجا و همکاران (۱۹) در بررسی ژنوتیپ‌های برنج ایندیکا و ژاپونیکا از ۹ نشانگر SSR استفاده کردند که ژنوتیپ‌های برنج ایندیکا و ژاپونیکا در دو گروه مجزا قرار گرفتند. رابی و همکاران (۱۲) در بررسی تنوع ژنتیکی ۸ نوع برنج از ۴۶ نشانگر SSR و ۲۴۵ نشانگر RFLP استفاده کردند. از ۴۶ نشانگر SSR، ۲۰ نشانگر پلی‌مورفیک دادند. تعداد آلل‌ها در هر مکان از ۲ آلل (RM433،RM133, RM215) تا ۶ (RM271) آلل متفاوت بود. محتوای اطلاعات چندشکل برای نشانگرهای SSR وRFLP به ترتیب ۰/۶۸۲ و ۰/۱۰۳ بود. تجزیه خوشه‌ای

1-Simple sequence repeats

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

براساس داده‌های هر دو نشانگر SSR و RFLP، دو گروه را ایجاد کرد. فاصله ژنتیکی بدست آمده براساس فرمول نی ولی برپایه داده‌های نشانگرهای SSR، رنجی بین ۰/۳۹۳ تا ۰/۶۸۲ داشت و میانگین فاصله ژنتیکی ۰/۵۵۴ بود. در بررسی ۳۰ ژنوتیپ برنج ایرانی با کمک نشانگرهای SSR بررسی شدند. از ۳۵ نشانگر SSR استفاده شده ۲۸ نشانگر پلی‌مورفیک نشان دادند. محتوای اطلاعات چند شکل از (RM274) ۰/۰۶۴ تا (RM580) ۰/۷۲ متفاوت بود و میانگین آن ۰/۴۶ شد. ضریب تشابه جاکارد[1] رنجی بین ۰/۹۲-۰/۴۲ داشت. میزان شباهت ژنتیکی بین پنج گروهی که ژنوتیپ‌ها در آنها قرار داشتند ۵۶ درصد بود. تجزیه به مولفه‌های اصلی ۴۱/۶ درصد از تنوع را توجیه کرد (۱۳). داکو و همکاران (۷) تنوع ژنتیکی ۱۸ رقم برنج آفریقایی از نواحی مختلف غنا را با استفاده از نشانگرهای SSR مطالعه کردند. از ۲۴ نشانگر SSR استفاده شده ۲۳ نشانگر پلی مورفیک (۹۵/۸۳ درصد) بودند. سه فرمول متفاوت برای تخمین تنوع ژنتیکی به کار رفت که هر سه تنوع بالایی را نشان دادند (I = 1.178, He = 0.625 و Nei's He = 0.608). شاخص تثبیت ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده از ۴ منطقه ۵۱/۵ درصد بود.

علی‌رغم اهمیت شناخت ماهیت ژنتیکی و میزان قرابت توده‌های بومی، اطلاعات بسیار اندکی در این زمینه برای برنج‌های ایران وجود دارد. بنابراین پژوهش حاضر به منظور شناسایی نشانگرهای مطلوب جهت بررسی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی برنج‌های بومی ایران به کمک نشانگرهای مولکولی و استفاده از آنها در اصلاح ارقام پر محصول کمی و کیفی از طریق برنامه‌های دورگ‌گیری، انجام شد.

مواد و روش‌ها

نام ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این تحقیق در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های مورد بررسی

Table 1. The list of studied genotypes

نام ژنوتیپ	شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	شماره ژنوتیپ
دمسیاه	۲۰	درفک	۱
خزر	۲۱	KMP41	۲
دم سپید	۲۲	دیلمانی	۳
IR72046-B-R-7-2-2-1	۲۳	سنگ جو	۴
IR50	۲۴	DOLAR	۵
IR24	۲۵	زیره بند پی	۶
هاشمی	۲۶	طارم امیری	۷
گیل ۱	۲۷	گیل ۳	۸
IR43	۲۸	سالاری	۹
IR74099-3R-2-2	۲۹	حسن‌سرایی	۱۰
صدری	۳۰	IR 82639-B-B-118-3	۱۱
سپیدرود	۳۱	طارم پاکوتاه	۱۲
غریب	۳۲	بینام	۱۳
IR28	۳۳	حسن‌سرایی آتشگاه	۱۴
چمپاپودار	۳۴	حسنی	۱۵
R69626B	۳۵	IR 83384-B-B-102-3	۱۶
IR 82590-B-B-94-4	۳۶	IR60	۱۷
شاه پسند	۳۷	IR64	۱۸
موسی‌طارم	۳۸	محمدی چپرسر	۱۹

از گیاهان نمونه‌های برگی در اوایل صبح از ارقام مختلف گیاهان به طور جداگانه جمع‌آوری شد و برگ‌های هر نمونه درون کیسه‌های نایلونی همراه با اسم رقم بسته‌بندی و بلافاصله درون ظرف یخ نگهداری شد و سپس به آزمایشگاه منتقل و در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید و از آنها DNA استخراج گردید. استخراج DNA از نمونه‌های برگی به روش CTAB[2] انجام شد (۱۳). بعد از این مدت استوک اصلی در ۲- درجه سانتی‌گراد نگهداری و مقدار مصرفی در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Bio Rad حاوی ۹۶ چاهک در حجم ۱۵ میکرولیتر انجام گردید. در چرخه‌حرارتیPCR در مرحله اول ۳ دقیقه با ۹۴ درجه سانتی‌گراد، در مرحله دوم ۳۰ ثانیه با درجه حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله سوم ۳۰ ثانیه با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، مرحله چهارم ۳۰ ثانیه با درجه حرارت ۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحله پنجم ۵ دقیقه با درجه حرارت ۷۲ درجه سانتیگراد انجام شد. در آخر محصول PCR در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق شامل ۱۴ جایگاه ریزماهواره‌ای (جدول ۲) که جفت آغازگرهای لازم برای تکثیر جایگاه‌های مزبور از شرکت سینا کلون تهیه گردید. مشخصات ریزماهواره‌ها از سایت گرامینه تهیه گردید (۲۱). برای ظاهرسازی باندها، نمونه‌ها در ژل پلی‌آکریل‌آمید واسرشته شدند و رنگ‌آمیزی نیترات نقره انجام شدجهت تجزیه و تحلیل داده‌ها و برای بدست آوردن اندازه آلل‌ها و تعیین انواع آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها، از تصاویر ژل استفاده شد. وزن بارهای موجود بر حسب جفت باز به کمک نوارهای نردبان تجارتی روه[3] (به عنوان DNA شاهد) بدست آمد (۱۸). امتیازبندی باندها بصورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) انجام گرفت. برای محاسبه هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار از نرم‌افزار پاپ ژن[4] استفاده شد. از

1- Jaccard similarity coefficient 2- Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide 3- Roehe 4-Pop gen

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

نرم‌افزار ۲.۰۲ ان ت سیس[1] نسخه ۲۰/۲ و پاور مارکر[2] و برای بدست آوردن فواصل ژنتیکی و رسم نمودار درختی و تجزیه به مولفه‌های اصلی[3] استفاده شد.

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

Table 2. The used primers chracters in this experiments

پرایمر	شماره کروموزوم	توالی پیشرو	توالی پسرو
RM302	1	TCATGTCATCTACCATCACAC	ATGGAGAAGATGGAATACTTGC
RM472	1	CCATGGCCTGAGAGAGAGAG	AGCTAAATGGCCATACGGTG
RM297	1	TCTTTGGAGGCGAGCTGAG	CGAAGGGTACATCTGCTTAG
RM104	1	GGAAGAGGAGAGAAAGATGTGTGTCG	TCAACAGACACACCGCCACCGC
RM341	2	CAAGAAACCTCAATCCGAGC	CTCCTCCCGATCCCAATC
RM29	2	CAGGGACCCACCTGTCATAC	AACGTTGGTCATATCGGTGG
RM550	2	CTGAGCTCTGGTCCGAAGTC	GGTGGTGGAAGAACAGGAAG
RM262	2	CATTCCGTCTCGGCTCAACT	CAGAGCAAGGTGGCTTGC
RM434	9	GCCTCATCCCTCTAACCCTC	CAAGAAAGATCAGTGCGTGG
RM257	9	CAGTTCCGAGCAAGAGTACTC	GGATCGGACGTGGCATATG
RM241	4	GAGCCAAATAAGATCGCTGA	TGCAAGCAGCAGATTTAGTG
RM274	5	CCTCGCTTATGAGAGCTTCG	CTTCTCCATCACTCCCATGG
RM142	4	CTCGCTATCGCCATCGCCATCG	TCGAGCCATCGCTGGATGGAGG
RM255	4	TGTTGCGTGTGGAGATGTG	CGAAACCGCTCAGTTCAAC

نتایج و بحث

با توجه به نتایج مشاهده شد که ارقام خزر با kmp41، شاه‌پسند با دیلمانی وحسن‌سرایی با IR83384-B-B102-2-3 کمترین (۰/۲۹) فاصله را دارند. در گروه‌بندی فاصله ژنتیکی (جدول ۳) میان ژنوتیپ‌های مختلف با یکدیگر، بیشتر ژنوتیپ‌ها (۹۵/۰۱ درصد) در فاصله ۱-۰/۵ قرار دارند.

جدول ۳- فاصله و ضریب تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های برنج براساس داده‌های مولکولی

Table 3. Genetic distance and similarity coefficient between rice genotypes base on molecular data

درصد ارقام	تعداد ژنوتیپ‌ها	فاصله ژنتیکی
۱/۲۴	۹	۰/۲-۰/۴
۳/۷۳	۲۷	۰/۴-۰/۵
۹۵/۰۱	۶۸۶	۰/۵-۱

تجزیه به مولفه‌های اصلی

به منظور تعیین میزان همبستگی بین صفات و توجیه مقادیر واریانس متغییرهای اولیه توسط چند مولفه اصلی اول، تجزیه به مولفه‌های اصلی انجام شد. ده مولفه اول تنها ۶۲/۲۹ درصد تغییرات را توجیه می‌کنند. اولین مولفه ۱۲/۲۶ درصد از تغییرات را توجیه می‌کند و مولفه دوم ۸/۴۴ درصد از تغییراتی که مولفه اول توجیه نمی‌کرد، را توجیه کرد. به همین ترتیب روند توجیه تغییرات توسط مولفه‌ها ادامه دارد و در نهایت مولفه دهم ۳/۵۲ درصد از تغییراتی که توسط ۹ مولفه قبل را توجیه نشده را توجیه کرد.

جدول ۴- مقادیر رگرسیون گام به گام برای ۱۰ مولفه اول

Table 4. The step by step regrassion for the initial 10 factors

مولفه اصلی	مقادیر ویژه	درصد	میزان کل
۱	۰/۹۸۸	۱۲/۲۶	۱۲/۲۶
۲	۰/۶۸۰	۸/۴۴	۲۰/۷
۳	۰/۵۹۳	۷/۳۶	۲۸/۰۶
۴	۰/۵۴۱	۶/۷۱	۳۴/۷۷
۵	۰/۴۷۷	۵/۹۲	۴۰/۶۹
۶	۰/۳۹۸	۴/۹۴	۴۵/۶۳
۷	۰/۳۷۶	۴/۶۷	۵۰/۳
۸	۰/۳۵۳	۴/۳۸	۵۴/۶۸
۹	۰/۳۳۰	۴/۰۹	۵۸/۷۷
۱۰	۰/۲۸۴	۳/۵۲	۶۲/۲۹

1- NTSYS20.2 2- Power marker Power marker 3- Principal component analysis

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

جدول ۵- میزان تنوع در جایگاه‌های ریزماهواره برنج

Table 5. The variation amount in SSR markers in rice

نشانگر	فراوانی آللی	تعداد آلل	تنوع ژنی	محتوای اطلاعات چند شکل	میانگین‌تعدادآلل موثر	میانگین‌شاخص شانون
RM302	۰/۶۲۵	۴	۰/۵۵۶۶	۰/۵۱۳۹	۱/۴۳	۰/۳۸
RM472	۰/۴۸۶۵	۵	۰/۵۹۲۰	۰/۵۰۸۷	۱/۳۳	۰/۳۶
RM297	۰/۴۸۶۵	۳	۰/۵۸۷۳	۰/۵۰۰۱	۱/۴۱	۰/۴۲
RM104	۰/۳۵۲۹	۵	۰/۷۳۱۸	۰/۶۸۷۱	۱/۲۴	۰/۳۲
RM341	۰/۲۶۴۷	۱۱	۰/۸۱۸۸	۰/۷۹۵۷	۱/۱۳	۰/۱۹
RM29	۰/۳۴۲۱	۴	۰/۷۲۱۶	۰/۶۷۰۰	۱/۳	۰/۳۸
RM550	۰/۳۷۸۴	۴	۰/۶۹۵۴	۰/۶۳۹۲	۱/۳۱	۰/۳۷
RM262	۰/۲۱۶۲	۷	۰/۸۳۲۷	۰/۸۱۰۹	۱/۱۶	۰/۲۶
RM434	۰/۳۹۴۷	۴	۰/۷۱۶۱	۰/۶۶۶۳	۱/۳	۰/۳۷
RM257	۰/۳۶۸۴	۵	۰/۷۲۵۸	۰/۶۷۹۷	۱/۲۴	۰/۳۳
RM241	۰/۶۸۹۷	۲	۰/۴۲۸۱	۰/۳۳۶۴	۱/۶۷	۰/۵۷
RM274	۰/۴۱۶۷	۴	۰/۶۹۹۱	۰/۶۴۶۲	۱/۳۱	۰/۳۸
RM142	۰/۲۷۷۸	۵	۰/۷۷۳۱	۰/۷۳۵۸	۱/۲۴	۰/۳۳
RM255	۰/۲۶۳۲	۵	۰/۷۷۷۴	۰/۷۴۰۸	۱/۳۱	۰/۳۶
میانگین	۰/۳۹۷۳	۵	۰/۶۸۹۷	۰/۶۳۷۹	۱/۲۷	۰/۳۳

سودمندی نشانگرهای ریزماهواره

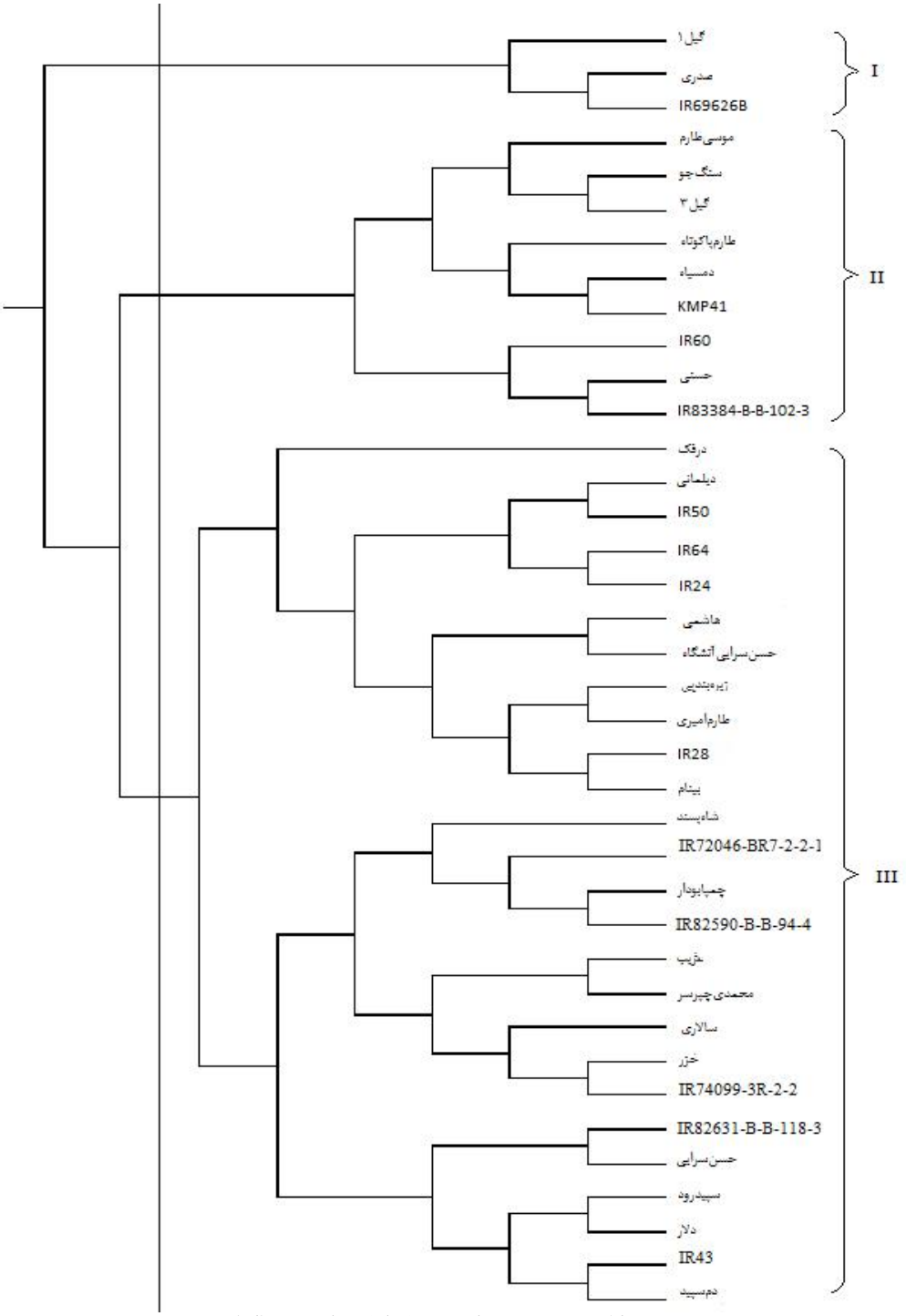
بیشترین آلل موثر در جایگاه RM241 (۱/۶۷) و کمترین در جایگاه RM341 (۱/۱۳) دیده شد. میانگین آلل‌های موثر در تمام نمونه‌ها ۱/۲۷ است. نزدیک بودن این عدد به تعداد واقعی آلل یعنی دو آلل دلیلی بر تاثیر خوب آلل‌ها در چند شکلی بالا و برآورد تنوع ژنتیکی می‌باشد. از ۱۴ جایگاهی که مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، همگی چند شکلی نشان دادند. تعداد آلل زیاد نشان‌دهنده تنوع بالا در یک مکان است. بیشترین تعداد آلل در مکان RM341 (۱۳) و کمترین تعداد در مکان RM241 (۲) دیده شدند. میانگین تعداد آلل ۵ شد، که نشان‌دهنده تنوع بالای ژنتیکی توسط نشانگرهای به کار رفته می‌باشد. بیشترین تنوع ژنی در مکان‌های RM341 (۰/۸۱) و RM262 (۰/۸۳) و کمترین در مکان RM241 (۰/۴۲) دیده شد. میانگین تنوع ژنی ۰/۶۸ بود. ارزش محتوای اطلاعات چندشکلی[1] از این نشانگرها به دلیل رنج (۰/۸-۰/۵) بالای تنوع در آنها، در مطالعات بعدی و یا کارهای اصلاحی سودمند خواهد بود. اسکاریا و همکاران (۱۷) میانگین تعداد آللهای مشاهده شده و تعدادآلل موثر را در بررسی ۸ واریته برنج ۱/۶۶ و ۱/۳۷ گزارش کردند. میانگین تنوع ژنی ۰/۲۲۴ بود. شاها و همکاران (۱۶) در مطالعه تنوع ژنی ۴۰ رقم برنج با استفاده از ۲۴ نشانگر SSR که در تمام ژنوم توزیع شده‌اند، در مجموع ۶۶ آلل شناسایی شدند که میانگین آنها ۲/۷۵ بودارزش اطلاعات پلی‌مورفیک ۰/۳۷۸۵ محاسبه شد. دلیل این اختلاف‌هامی‌تواند به علت منابع ژنی متفاوتی باشد که در این آزمایش‌ها به کار گرفته شده است و با توجه به این که پرایمرهای طراحی شده برای جایگاه‌های مختلف ریزماهواره به صورت کاملاً اختصاصی عمل کرده و فقط همان جایگاه هدف را تکثیر می‌کنند، بنابراین ممکن است این تفاوت به علت تغییر در طول واحد تکراری باشد که احتمالاً به علت جهش تغییر یافته باشد (میزان جهش د ریزماهواره‌ها بالاست) در نتیجه این عوامل تنوع در تعداد آلل‌ها بوجود خواهد آمد.

تجزیه خوشه‌ای

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با نرم‌افزار NTSYS براساس داده‌های مولکولی با روش UPGMA و معیار ضریب کوفنتیک (۰/۹۲) انجام شد. شکل (۱) گروه‌بندی افراد را که در سه گروه قرار گرفتند نشان می‌دهد. قرار گرفتن ژنوتیپ‌ها در یک گروه نشان از قرابت ژنتیکی زیاد بین آنهاست. تعداد زیاد زیرگروه‌ها در شکل تنوع بالای بین ژنوتیپ‌ها را نشان می‌دهد. چاکراوارتی و همکاران (۴) در مطالعه ۱۵ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۳۰ مارکر SSR، با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای وارد، ژنوتیپ‌ها را در ۱۱ گروهقرار دادند. کوهوری و همکاران (۵) در بررسی ۲۹ واریته برنج با استفاده ازتجزیه واریانس به روش وارد، آن‌ها را در سه گروه قرار دادند.

1- Polymorphic Information Content (PIC)

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]



شکل ۱- تجزیه خوشه‌ایژنوتیپ‌ها براساس داده‌های مولکولی

Figure 1. Cluster dendogram result for studied genotypes base on molecular data

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

تجزیه ارتباط[1]

به منظور تعیین ارتباط بین صفات مورفولوژیک و آلل‌های تکثیر یافته، داده‌های مولکولی روی هرکدام از صفات پردازش داده شدند. نتایج تجزیه ارتباط نشان داد که مکان‌های ریزماهواره RM434، RM104، RM257 و RM262 با بیشترین تعداد صفات مورفولوژیک در ارتباط بودند، که می‌توانند در بررسی‌های بعدی سودمند باشند و می‌تواند بیانگر این باشد که این آغازگرهای ریزماهواره بیش از سایر آغازگرهای مورد مطالعه در نواحی کدکننده صفات مورفولوژیک حضور داشتند.صفات ارتفاع (۱۳) و محتوای کلروفیل ۴۰ روز بعد از نشاکاری (۱۲) دارای بیشترین تعداد نشانگر مثبت بودند و کمترین تعداد آغازگر در ارتباط با صفات تعداد پنجه، تعداد خوشه‌چه، وزن کاه و محتوای کلروفیل ۹۰ روز بعد از نشاکاری هرکدام با ۲ آغازگر دیده شد. در این پژوهش وجود مکان‌های مشترک برای برخی صفات، احتمالاً به دلیل پیوستگی و یا پلیوتروپی مکان‌های کروموزومی باشد که وجود همبستگی معنی‌داربین صفات مورفولوژیک با همدیگر می‌تواند دلیلی بر این واقعیت باشد. بیشترین توجیه تغییرات مربوط به صفت وزن دانه‌های پر (۰/۹۸) توسط مکان‌های ریزماهواره RM142، RM255، RM472 و RM262 تبیین شد. کمترین ضریب تبیین (۰/۴۹) مربوط به صفت وزن کاه ثبت شد. بیشترین و کمترین R^2 تصحیح شده به ترتیب مربوط به صفات وزن دانه‌های پر (۰/۷۵) و وزن کاه (۰/۲۳) بود. مکان‌های ژنی RM297، RM104، RM274 بیشترین ارتباط را با صفت محتوای کلروفیل داشتند که می‌توان از آنها برای یافتن QTL های مرتبط با محتوای کلروفیل در برنامه‌هایQTL mapping استفاده کرد. ابراهیمی و همکاران (۱) تجزیه ارتباط صفات زراعی جوهای بومی ایران با نشانگرهای ریزماهواره بررسی کردند. آغازگرهای HVM20، Gms003، Bmac0306 و HvHVA1 تغییرات بیشتری از صفات مورد بررسی را نشان دادند.

در میان ۳۸ ژنوتیپ مورد مطالعه ۹۵/۰۱ درصد از آنها در فاصله ژنتیکی ۱-۰/۵ قرار داشتند، و همچنین در نمودار درختی در سه گروه اصلی تعداد زیر گروه‌های فراوانی دیده شد که هردو شاخص نشان از تنوع بالای ارقام برنج ایرانی به مورد بررسی در این تحقیق داشت. با توجه به تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر و هتروزیگوستی بالا این نشانگرها، استنباط گردید که چندشکلی و کارایی آغازگرهای مورد بررسی خوب بوده و می‌توان از این آغازگرها در مطالعات بعدی استفاده کرد. نتایج تحقیق نشان داد که از میان نشانگرهای ریزماهواره به کار رفته در این مطالعه می‌توان یکسری نشانگر با قدرت تمایز بالا برای مطالعات بعدی معرفی کرد. برخی از این نشانگرها RM434، RM104، RM262 و RM257.

1. Analysis of Relationship

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

جدول۶- نتایج تجزیه ارتباط با استفاده از رگرسیون گامبه گام برای داده‌های مولکولی در ژنوتیپ‌های برنج ایرانی

Table 6.The result of relationship analysis using step by step regrassion base on molecular data for Iranian rice genotypes

ردیف	صفت	تعداد نشانگر	R^2 تصحیح شده	ضریب تبیین	سطح معنی‌داری
۱	ارتفاع	RM341-d, RM274-a, RM104-c, RM262-f, RM434-a, RM434-bRM241-b, RM257-e, RM255-b, RM302-a, RM257-a	۰/۴۳۲	۰/۹	۰/۰۰۰
۲	تعداد پنجه	RM262-b, RM434-a	۰/۲۹۵	۰/۵۵۰	۰/۰۱۲
۳	طول خوشه	RM257-e, RM472-a, RM297-c, RM434-c, RM255-c	۰/۳۱۹	۰/۹۶۳	۰/۰۰۰
۴	وزن خوشه	RM104-e, RM341-a, RM262-c, RM257-e	۰/۴۶۳	۰/۹۴۸	۰/۰۰۰
۵	وزن کاه	RM142-c, RM302-a	۰/۲۳۹	۰/۴۹۶	۰/۰۲۳
۶	تعداد دانه‌های پر	RM142-c, RM104-c, RM257-c, RM262-c	۰/۷۲۴	۰/۹۶۳	۰/۰۰۰
۷	وزن‌دانه‌های پر	RM142-c, RM255-d, RM472-b, RM262-e	۰/۷۵۹	۰/۹۸۴	۰/۰۰۰
۸	طول برگ پرچم	RM434-c, RM257-b, RM241-a, RM274-c	۰/۴۹۵	۰/۹۰۴	۰/۰۰۰
۹	عرض برگ پرچم	RM257-d, RM257-e, RM302-d, RM302-c	۰/۴۹۵	۰/۹۴۲	۰/۰۰۰
۱۰	تعداد خوشه‌چه	RM257d, RM257-e	۰/۳۵۲	۰/۷۰۵	۰/۰۰۱
۱۱	محتوای کلروفیل ۲۰ روزبعداز نشاکاری	RM142-e, RM104-e, RM241-b	۰/۵۱۶	۰/۸۶۷	۰/۰۰۰
۱۲	محتوای کلروفیل ۴۰ روزبعداز نشاکاری	RM341-b, RM297-b, RM472-b, RM274-c, RM241-b, RM434-a, RM29-a, RM434-b, RM302-c,RM262-c	۰/۲۹۲	۰/۹	۰/۰۰۰
۱۳	محتوای کلروفیل ۷۰ روزبعداز نشاکاری	RM302-c, RM341-b, RM550-a, RM104-e,RM257-b, RM29-d, RM341-e, RM104-c, RM302-a	۰/۳۶۳	۰/۹	۰/۰۰۰
۱۴	محتوای کلروفیل۹۰ روزبعدازنشاکاری	RM142-c, RM297-c	۰/۲۵۵	۰/۵۳۸	۰/۰۱۴
۱۵	محتوای کلروفیل ۱۱۰ روز بعد از نشاکاری	RM274-a, RM262-d, RM104-b	۰/۵۷۲	۰/۸۷۹	۰/۰۰

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

منابع

1. Abraham, A., M.R. Naqvi, M. Dexterity and A. Moradi Mirage. 2011. Association analysis of agronomic traits using microsatellite markers for native queries. Modern genetics Journal, 6: 43-35.
2. Arpn Journal of Agriculture and Biological Science, 4: 60-64.
3. Asian Journal of Contemporary Sciences, 2: 35-44.
4. Chakravarthi, B.K. and R. Naravaneni. 2006. SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa* L.). African Journal of Biotechnology, 5: 684-688.
5. Choudhury, B., M. Latifkhan and S. Dayanandan. 2013. Genetic structure and diversity of indigenous Rice varieties in the Eastern Himalayan vegion of NorthestIndia. www. SpringerPlus. ir.
6. Das, H.K., A. Singhand and S. Datti. 2013. Phylogenetic relationship of wild and cultivated Oryza speciesusing SSR markers. Asian Journal of Contemporary Sciences, 2: 35-44.
7. Doku, H.A., E.Y. Danquah, A.N. Among, K. Nyalemegbe and H.M. Amoatey. 2013. Genetic diversity among 18 accessions of African rice (Oryzaglaberrimasteud) using simple sequence repeat (SSR) markers. Cultural Journal, 8: 106-112.
8. Gorbani, H.R., H.A. Samiezadelahijani, B. Rabiei and M. Allahgolipour. 2011. Classification of different rice genotypes using factor analysis and cluster analysis. Journal of Agricultural and stable production, 21: 104-89 (In Persian).
9. Jamal, I.H., A. Bari, S. Khan and I. Zada. 2009. Genetic variation for yield and yield components in rice. Journal of Agricultural and Biological Science, 4: 60-64.
10. Kamali, N., S. Navabpour, H. Soltanloo and M. Kalateh. 2015. Changes in metallothionein gene expression, chlorophyll content and someagronomic traits in response to salt stress in wheat Journal of Crop Breeding, 7: 57-67 (In Persian).
11. Navabpour, S. and R. Haddad. 2010. Evaluation of glutamine syntetase gene role in growth stageof brassica napus and drought stress condition. Journal of Crop Breeding, 2: 26-36 (In Persian).
12. Rabey, H., K.H. Salem and M. Mattar. 2013. The genetic diversity and relatedness of eight rice (*Oryza Sativa* L.) cultivar as revealed by AFLP and SSRs marker. Life Science Journal, 10: 1471-1479.
13. Sabouri, H., A. Sabouri, M. Nahavi, A.R. Dadras and M. Katozi. 2008. Locating QTL controlling chlorophyll content of seedling and reproductive stages in rice under salt stress. New Genetics Journal, 3: 20-30 (In Persian).
14. Sambrook, J. and D. Russel. 2001. Molecular cloning, (1): 1037.
15. Seetharam, K., S. Thirumeni and K. Paramasivam. 2009. Estimatin of genetic diversity in rice (*Oryza Sativa* L.) genotypes using SSR markers and morphological characters. African Journal of Biotechnology, 8: 2050-2059.
16. Shaha, S.M., S.A. Naveed and M. Arif. 2013. Genetic diversity in basmatic and non-basmatic rice varieties based on microsatellite markers. Pakistan Journal of Botany, 45: 423-431.
17. Skaria, R., S. Sen and P. Muneer. 2011. Analysis of genetic variability in rice varieties (*Oryza sativa* L.) of Kerala using RAPD marker. Genetic engineering and Biotechnology Journal, 10: 1-9.
18. Tavvalla, R. 2013. Haplotype diversity in the QTL on chromosome 9 associated with drought tolerance in rice. Master Thesis. Guilan University, 83 pp (In Persian).
19. Vanniarajan, C., K.K. Vinod and A. Pereira. 2012. Molecular evaluation of genetic diversity and association studies in rice (*Oryza Sativa* L.). Journal of Genatic, 91: 9-19.
20. Weising, K., H. Nybom, K. Wolff and G. Kahl. 2005. DNA fingerprinting in plants principles methods and application (second edition). CRC press (Taylor and Francis group), 7-10.
21. www. gramane.org.
22. Zeng, L., T.R. Kwon, X. Liu, C. Wilson, C.M. Grieve and G.B. Gregorio. 2004. Genetic diversity analyzed by microsatellite markers among rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different adaptations to saline soils. Plant Science 166: 1275-1285.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]

Study of Genetic Variation in Iranin rice (*Oryza sativa* L.) using SSR Markers

Mehrnesa Gharekhani[1], Saeid Navabpour[2], Hosein Sabouri[3] and Seyedeh Sanaz Ramezanpour[4]

1 and 4- Graduated M.Sc. and Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
2- Associate professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,
(Corresponding author: s.navabpour@yahoo.com)
3- Associate professor, University of Gonbad Kavous
Received: January 5, 2015 Accepted: September 19, 2015

Abstract

In order to study genetic diversity in rice genotypes In Iran, the variation in 38 rice cultivars were evaluated using 14 SSR markers. The experimental design was a randomized complete block at the research station located in the city in 1392 was Azadshahr. Plant samples at tillering genotypes were collected in the early morning. DNA was extracted from plant samples denaturation was carried out on polyacrylamide gels. Large genetic distances between cultivars showed high genetic diversity among the genotypes of rice. Principal component analysis of variance was 62%. The highest polymorphic information content RM262 (81/0) and lowest at RM241 (33/0) were recorded and the average PIC, 51/0 respectively. 33/0 Shannon's index of microsatellite markers used in this study, markers RM142 RM255, RM341, RM262, had high discriminatory power. The highest number of positive markers in height (11), respectively. Genotypes and cluster analysis methods into three classes, respectively. In general we can say the numbers in the high country of diversity and diversity in them can be used in breeding programs. Markers used in this study due to the high variability in their suffering, would be useful in future studies or remedial work.

Keywords: Genetic diversity, Rice Iranian, SSR marker

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-03]