Crop Biotech.
Summer (2019) 8(4):51-64. DOI: 10.30473/CB.2019.42460.1748

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال هشتم، پیاپی چهارم، شماره بیست‌وششم، تابستان ۱۳۹۸ (۵۱-۶۴)

بررسی همخوانی گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج آپلند و لولند با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و شاخص‌های تحمل به تنش خشکی

امید سفالیان [۱*]، فاطمه اجری[۲]، عاطفه صبوری[۳]، علی اصغری[۱]، سمیرا حسنیان[٤]
۱. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
۲. کارشناسی‌ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، ایران اردبیل، ایران.
۳. دانشیار ژنتیک و به‌نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.
٤. دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۵/۵)

Consistency of upland and Lowland rice genotypes grouping by microsatellite markers and drought tolerance indices

Omid Sofalian[*1], Fatemeh Ajri[2], Atefeh Sabouri[3], Ali Asghari[1], Samira Hasanian[4]
1. Associate professor of Plant Breeding of Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
2. M.Sc. of Plant Breeding of Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
3. Associate Professor Genetic and Plant Breeding of Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
4. Ph. D Student of Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding Dept., Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
(Received: Dec. 30, 2018 - Accepted: Jul. 27, 2019)

Abstract

One way to assessing the validity of recognized markers is studing the consistency of case grouping based on molecular markers and phenotypic data obtained from the normal and drought stress conditions. In this study in order to assessing probable relationship between SSR molecular markers and drought tolerance indices in studding genotypes and grouping these genotypes based on SSR molecular markers and tolerance indices, 40 rice genotypes was used based on randomized complete block design with three replications in both normal and stress conditions. In addition, 26 microsattelite markers in relation with drought tolerance were used. Our results showed that 128 polymorphic alleles with 4.92 mean allele for each marker locus were amplified. The highest PIC value related to RM5672 (0.829) and the least related to RM523 (0.047). The corelation analysis between yield and tolerance indices in both two conditions confirmed that four indices; mean productivity (MP), geometric mean productivity (GMP), stress tolerance index (STI) and yield index (YI) were the best indices for sensitive and tolerant genotype discrimination. Grouping of genotypes based on cluster analysis using WARD method divided all of studding genotypes into three groups including tolerant, semi tolerant and sensitive. Considering the higher values of second group than the mean of the above indicators, they were introduced as tolerant genotypes, which often included upland genotypes and a Hashemi genotype. Based on our results thre firs group represent semi tolerant genotypes ant the third group represents sensitive genotypes. The cluster analysis based on microsatellite markers also divided genotypes into two groups. Comparison of these two types of grouping showed a significant correlation between them, so that in both groups the Hashemi genotype showed close proximity to the upland genotypes and was associated with them in one group.

Keywords: Cluster analysis, rice, water deficiency, SSR marker

چکیده

یکی از روش‌هایی که می‌تواند میزان اعتبار نشانگرهای شناسایی شده را ارزیابی کند، بررسی هم‌خوانی گروه بندی افراد برپایه نشانگرهای مولکولی و داده‌های فنوتیپی به‌دست‌آمده از آزمایش در شرایط عادی و تنش خشکی است. این پژوهش به منظور بررسی وجود ارتباط احتمالی بین نشانگر SSR و شاخص-های تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های مورد نظر و همچنین گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس این نشانگر SSR و شاخص‌های تحمل به تنش خشکی با ٤۰ ژنوتیپ برنج در دو محیط تنش و بدون تنش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به همراه ۲٦ نشانگر ریزماهواره مرتبط با تحمل به تنش خشکی اجرا شد. در مجموع، ۱۲۸ آلل چندشکل با میانگین ٤/۹۲ آلل به ازای هر جایگاه نشانگری تکثیر شد. بالاترین میزان PIC مربوط به نشانگر RM5672 (۰/۸۲۹) و کم‌ترین آن مربوط به نشانگر RM523(۰/۰٤۷) بود. تحلیل همبستگی بین عملکرد و شاخص‌های تحمل به تنش در دو شرایط تنش و بدون تنش، شاخص‌های تحمل به تنش (STI)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، شاخص میانگین عملکرد (MP) و شاخص عملکرد (YI) را به عنوان شاخص برتر در شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس معرفی کرد. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه به روش Ward براساس شاخص‌های تحمل به خشکی، آن‌ها را به سه گروه متحمل نیمه متحمل و حساس تقسیم کرد. با توجه به این‌که ژنوتیپ‌های گروه دوم از لحاظ شاخص-های فوق، دارای ارزش بالاتر از میانگین کل بودند، به عنوان ژنوتیپ‌های متحمل معرفی شدند که اغلب شامل ژنوتیپ‌های آپلند و یک ژنوتیپ هاشمی بودند. گروه اول نیمه متحمل و گروه سوم حساس شناخته شدند. تجزیه خوشه ای برپایه نشانگرهای ریزماهواره نیز ژنوتیپ‌ها را به دو گروه تقسیم کرد. مقایسه این دو نوع گروه‌بندی بیانگر همخوانی شایان توجهی بین آن‌ها بود، طوری که در هر دو گروه‌بندی ژنوتیپ هاشمی قرابت نزدیکی با ژنوتیپ‌های آپلند نشان داد و همراه آن‌ها در یک گروه قرار گرفت.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه خوشه‌ای، کمبود آب، نشانگر SSR.

* نویسنده مسئول: امید سفالیان
E-mail: sofalian@gmail.com

مقدمه

برنج گیاهی تک‌لپه، یک‌ساله و رشد محدود، با نام علمی (*Oryza sativa* L.)، از خانواده Gramineae و از جنس Oryza است. این محصول پس از گندم دومین غله مهم و غذای اصلی بیش از یک سوم جمعیت جهان است و بیش‌ترین نیاز آبی را در بین غلات دارد (David, 1991). در بین گونه‌های آن تنوع مطلوبی از نظر تحمل به خشکی وجود دارد، به عنوان نمونه برنج آپلند (مناطق کوهی) مثال برجسته‌ای از گیاهان رشد کرده تحت شرایط گرم و خشک است (Mackill & Ekanayake, 1986). برنج‌های آپلند در مناطق کم‌بارش و خشک کشت می‌شوند. توارث ژن‌های مربوط به تحمل تنش خشکی در آن‌ها کمی و تحت تأثیر شرایط محیطی است در این شرایط، کمبود آب، میزان عملکرد محصول را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد (Blum, 1996). ارقام آپلند، آب کم‌تری نسبت به ارقام لولند مصرف می‌کنند، اما عملکرد آن‌ها نسبت به لولندها به دلیل نامنظم بودن بارندگی و کنترل ضعیف علف‌های هرز و استفاده کم از کودهای شیمیایی مورد نیاز و شیوع بیماری، کم می‌باشد. برنج‌های لولند برای مناطق پست یا غرقابی مناسب می‌باشند (Mackill *et al.*, 1996). ارقام برنج متحمل به خشکی و با عملکرد بالا برای محیط‌هایی با محدودیت آبی مناسب هستند و تولید برنج را بهبود می‌بخشند. از این‌رو، شناسایی ارقام برتر و مناسب تحت تنش، بسیار مهم است (Babu, 2010). متخصصین فیزیولوژی معتقدند برای بازدهی بیش‌تر در اصلاح ژنوتیپ‌های متحمل به تنش باید شاخص‌هایی را که در شناسایی پایداری عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش مؤثرند شناسایی نمود و آن‌ها را علاوه بر عملکرد دانه به‌عنوان معیارهای انتخاب مورد استفاده قرار داد (Nourmand-Moay'yed *et al.*, 2002) درنتیجه استفاده از شاخص‌های تحمل و حساسیت یکی از راهکارهای متداول در انتخاب و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس است. یکی از مهم‌ترین این شاخص‌ها، شاخص حساسیت به تنش (SSI) است که توسط فیشر و موور (Fischer & Maurer, 1978) پیشنهاد شد. هرچه مقدار این شاخص برای یک ژنوتیپ کمتر باشد، آن ژنوتیپ تحمل بیش‌تری به تنش دارد. انتخاب براساس این شاخص باعث گزینش ژنوتیپ‌هایی با عملکرد نسبتاً پایین در شرایط عادی و عملکرد بالا در شرایط تنش می‌گردد. شاخص‌های تحمل به تنش (STI) و میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) توسط Fernandez (1992) برای شناسایی ژنوتیپ‌هایی که در هر دو شرایط عادی و تنش عملکرد مطلوبی تولید می‌کنند، پیشنهاد شد. به عقیده Fernandez شاخص تحمل به تنش شاخص مناسبی برای انتخاب ژنوتیپ‌ها جهت دستیابی به عملکرد بالا تحت شرایط تنش می‌باشد. این شاخص ژنوتیپ‌هایی که دارای عملکرد بالا در شرایط تنش و بدون تنش هستند را از سایر گروه‌ها جدا می‌کند. شاخص میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) نیز حساسیت کمتری به اختلاف عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش دارد، بنابراین کمتر تحت تأثیر عملکرد نسبتاً بالا در یکی از محیط‌ها قرار می‌گیرد و معیار مناسبی برای تشخیص ژنوتیپ‌هایی با تولید مطلوب در هر دو شرایط تنش و نرمال می‌باشد. Bouslama & Schapaugh (1984) شاخص پایداری عملکرد (YSI) و Gavuzzi و همکاران (۱۹۹۷) شاخص عملکرد (YI) را معرفی کردند. شاخص عمکرد (YI) موجب رتبه‌بندی ارقام برحسب میزان عملکرد تولیدی آن‌ها در محیط تنش می‌گردد. شاخص پایداری عملکرد (YSI) نشان‌دهنده میزان تحمل ژنتیکی ژنوتیپ به تنش است، در نتیجه ژنوتیپی با میزان بالای این شاخص باید عملکرد بالایی در هر دو شرایط تنش و بدون تنش تولید کند. از سوی دیگر تشخیص نشانگرهای پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده

تحمل به خشکی که جزء نتایج برنامه‌های مکان‌یابی QTL است، از نیازهای اصلاح رقم‌های برنج با عملکرد بالا در نواحی خشک است. ازمیان نشانگرهای DNA، نشانگر SSR (Simple Sequence Repeat)، به طور مؤثری برای‌مکان‌یابی و تعیین تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های برنج استفاده شده است (Kanagara *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2010). در برنج به‌طور بالقوه ۵۷۰۰ الی ۱۰۰۰۰ ردیف ریزماهواره با واحدهای تکراری ۲، ۳ یا ۴ نوکلئوتیدی متفاوت وجود دارد که می‌تواند برای ساخت یک نقشه ژنتیکی کامل مورد استفاده قرار گیرد (Arif, 2002). McCouch و همکاران (2002) توانستند نقشه‌ای شامل ۲۲۴۰ نشانگر ریزماهواره را تهیه نمایند که کل ژنوم برنج را پوشش می‌دهد. در برنج برای تحمل به خشکی تعدادی از ژن‌های صفات فیزیولوژیکی مکان‌یابی شده‌اند. نکته‌ای که باید در نظر داشت این است که هنگامی می‌توان به‌طور کاربردی در برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر از نتایج برنامه‌های مکان‌یابی QTL و نشانگرهای پیوسته شناسایی‌شده استفاده کرد که وجود QTL و پیوستگی نشانگرهای مورد استفاده تأیید شده باشد (Collard & Mackill, 2008). این پژوهش با هدف گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از لحاظ اطلاعات مولکولی به‌دست آمده از این نشانگرها و بررسی همخوانی گروه‌بندی این ژنوتیپ‌ها از لحاظ داده‌های مولکولی و گروه‌بندی آن‌ها از لحاظ صفات مرتبط با تحمل به خشکی تحت تأثیر این تنش پایه‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی آزمایش متشکل از ۴۰ ژنوتیپ برنج بود (جدول ۱) که از این تعداد، ۳۹ ژنوتیپ برنج خارجی شامل ۲۱ ژنوتیپ از گروه لولند IRLON (International Rainfed Lowland Rice Observational Nursery) و ۱۸ ژنوتیپ ازگروه IURON (International Upland Rice Observational Nursery) به همراه یک رقم ایرانی (مرسوم منطقه) به نام هاشمی بود. بذور اولیه ژنوتیپ‌های خارجی از مرکز تحقیقات بین‌المللی تحقیقات برنج دنیا (IRRI) تهیه شده است. مواد گیاهی در شرایط نرمال و همچنین دو سطح از تنش اسمزی (۸- و ۱۶- بار حاصل از مانیتول) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۵-۱۳۹۶ ارزیابی شدند. برای هر واحد آزمایشی ۲۵ عدد بذر سالم با محلول ۵٪ هیپوکلریت سدیم برای ۳۰ ثانیه ضدعفونی و سپس سه بار با آب مقطر شستشو داده شد. در شرایط نرمال (شاهد) میزان ۵ میلی‌لیتر از آب مقطر به بذر موجود روی کاغذ صافی درون پتری دیش‌ها اضافه شد. برای سطوح تنش اسمزی نیز از محلول‌های ۸- بار و ۱۶- بار و از مانیتول برای تهیه محلول‌های مذکور استفاده شد.

این آزمایش با استفاده از ۲۶ جفت نشانگر SSR انجام شد که طبق مطالعات پیشین با استفاده از جمعیت‌ها و زمینه‌های ژنتیکی متعدد، پیوسته با QTLهای صفات مرتبط با تنش‌های غیرزیستی به ویژه تنش خشکی در گیاه برنج شناسایی شدند. اطلاعات مربوط به این نشانگرها در جدول ۲ ارائه شده است.

از برگ‌های تازه و جوان ژنوتیپ‌ها، نمونه‌های برگی به منظور استخراج DNA به روش CTAB، استفاده شد (Saghai Maroof, 1994). سپس کیفیت و کمیت تقریبی آن به وسیله ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. پس از رقیق‌سازی DNA، عملیات تکثیر DNAهای ژنومی در حجم ۱۰ میکرولیتر، با اجزای ۲ میکرولیتر DNA، یک میکرولیتر از بافر PCR (10X)، ۰/۴ میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت ۶۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط dNTP (دو میلی‌مولار)، ۰/۴۸ میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی‌مولار)، ۰/۱۲ میکرولیتر آنزیم *Taq* DNA

polymerase (پنج واحد در میکرولیتر) و پنج میکرولیتر آب دیونیزه شده انجام شد. واکنش PCR به صورت Touchdown (Don *et al*., 1991) و توسط دستگاه ترموسایکلر صورت گرفت. چرخه حرارتی شامل یک چرخه واسرشت اولیه برای DNA الگو در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه و به دنبال آن ۱۰ چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد (با کاهش هر یک درجه سانتی‌گراد در هر چرخه تا رسیدن به دمای اتصال) و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۲۶ چرخه شامل ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و یک دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و پس از اتمام ۲۶ چرخه فوق، نمونه‌ها به منظور انجام بسط نهایی پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. فرآورده‌های PCR با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید شش درصد تفکیک و به روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی شد (Switzer *et al*., 1979). در نهایت امتیازدهی نوارهای حاصل به‌صورت حضور (یک) و عدم حضور (صفر) در هر نمونه امتیازدهی شد. جهت ارزیابی تنوع بین ارقام برنج با استفاده از عملکرد بیولوژیک گیاهان در شرایط تنش و غیرتنش، شاخص‌های کمی تحمل به خشکی برای هر ژنوتیپ به شرح زیر محاسبه شد.

جدول ۱. مشخصات مواد گیاهی مورد مطالعه

No.	Genotype	origin	No.	Genotype	origin
1	IRLON-IR14L110	IRRI	21	IRLON-IRRI 132	IRRI
2	IRLON-IR14L116	IRRI	22	IURON-B11598C-TB-2-1-B-7	IRRI
3	IRLON-IR14L101	IRRI	23	IURON-IR12L353	IRRI
4	IRLON-IR14L103	IRRI	24	IURON-IR12L356	IRRI
5	IRLON-IR13L188	IRRI	25	IURON-IR12L357	IRRI
6	IRLON-IR14L247	IRRI	26	IURON-IR12L369	IRRI
7	IRLON-IR14L260	IRRI	27	IURON-IR13L114	IRRI
8	IRLON-IR14L256	IRRI	28	IURON-IR13L118	IRRI
9	IRLON-IR14L248	IRRI	29	IURON-IR13L137	IRRI
10	IRLON-IR14L121	IRRI	30	IURON-IR13L382	IRRI
11	IRLON-IR14L153	IRRI	31	IURON-IR13L397	IRRI
12	IRLON-IR14L160	IRRI	32	IURON-IR13L400	IRRI
13	IRLON-IR14L137	IRRI	33	IURON-IR13L406	IRRI
14	IRLON-IR13L268	IRRI	34	IURON-IR13L413	IRRI
15	IRLON-IR12L380	IRRI	35	IURON-IR14L177	IRRI
16	IRLON-IR14L262	IRRI	36	IURON-IR14L235	IRRI
17	IRLON-IR14L271	IRRI	37	IURON-IR14L238	IRRI
18	IRLON-IR14L270	IRRI	38	IURON-IR14L240	IRRI
19	IRLON-IR13F228	IRRI	39	IURON-IRRI 132	IRRI
20	IRLON-IR13F589	IRRI	40	Hashemi	IRAN

جدول ۲. فهرست نشانگرهای ریز ماهواره مورد استفاده

N.	SSR marker	Reference	N.	SSR marker	Reference
1	RM5	Diwan *et al*., 2013	14	RM480	Gramene site
2	RM7	Diwan *et al*., 2013	15	RM493	Thomson *et al*., 2010
3	RM104	Vikram *et al*., 2011	16	RM510	Venuprasad *et al*., 2011
4	RM140	Thomson *et al*., 2010	17	RM511	Bernier *et al*., 2007
5	RM190	Gramene site	18	RM523	Bernier *et al*., 2007
6	RM212	Wang *et al*., 2005	19	RM3805	Venuprasad *et al*., 2011
7	RM231	Diwan *et al*., 2013	20	RM5672	Gramene site

8	RM270	Gramene site	21	RM10793	Thomson *et al*., 2010
9	RM276	Gramene site	22	RM11943	Vikram *et al*., 2011
10	RM302	Venuprasad *et al*., 2011	23	RM12091	Vikram *et al*., 2011
11	RM306	Diwan *et al*., 2013	24	RM19367	Venuprasad *et al*., 2011
12	RM319	Wang *et al*., 2005	25	RM28099	Bernier *et al*., 2007
13	RM431	Vikram *et al*., 2011	26	RM28166	Bernier *et al*., 2007

SSI؛ شاخص حساسیت به تنش (Fischer & Maurer, 1978)، TOL؛ شاخص تحمل و MP؛ میانگین بهره‌وری متوسط (Rosielle & Hamblin, 1981)، GMP؛ میانگین هندسی بهره‌وری و STI؛ شاخص تحمل به تنش (Fischer and Maurer, 1978) (۲)

(Rosielle and Hamblin, 1981) (۳)

(Rosielle and Hamblin, 1981) (۴)

(Fernandez, 1992) (۵)

(Fernandez, 1992) (۶)

(Gavuzzi *et al*., 1997) (۷)

(Bouslama and Schapaugh, 1984) (۸)

در روابط فوق عملکرد بوته هر ژنوتیپ به عنوان Y در نظر گرفته شد و Ys و Yp به‌ترتیب به معنی عملکرد بیولوژیک در شرایط تنش خشکی و نرمال در مزرعه پژوهشی دانشگاه گنبد کاووس می‌باشند (Sabouri, 2015). جهت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، تجزیه خوشه‌ای برپایه شاخص‌های تحمل به تنش به روش Ward و با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. همچنین جهت انجام تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی نیز، پس از تشکیل ماتریس صفر و یک و انتقال آن به نرم افزار Power Marker و تشکیل ماتریس ضریب‌های جاکارد و با استفاده از الگوریتم‌های مختلف مثل اتصال همسایگی یا (Fernandez, 1992)، YI؛ شاخص عملکرد (Gavuzzi *et al*., 1997) و YSI؛ شاخص پایداری عملکرد (Bouslama & Schapaugh, 1984) استفاده شد که به ترتیب از روابط زیر به‌دست می‌آیند (رابطه‌های ۲ تا ۸).

$$SSI = \frac{1-(\frac{Y_S}{Y_P})}{SI} \quad , SI = 1-(\frac{\bar{Y}_S}{\bar{Y}_P})$$

$$TOL = Y_P - Y_S$$

$$MP = \frac{Y_S + Y_P}{2}$$

$$GMP = \sqrt{(Y_S)(Y_P)}$$

$$STI = \frac{(Y_S)(Y_P)}{(\bar{Y}_P)^2}$$

$$YI = \frac{Y_S}{\bar{Y}_S}$$

$$YSI = \frac{Y_S}{Y_P}$$

(Neighbor Joining)، Complete و UPGMA و غیره با استفاده از نرم‌افزار Power Markerr و رسم نمودار درختواره‌ای با استفاده از نرم‌افزار MEGA5 انجام شد و سرانجام بهترین نمودار درختواره‌ای بر پایه ضریب همبستگی کوفنتیک و ساختار مناسب نمودار درختواره‌ای با کم‌ترین زنجیره‌ای شدن افراد برای تفسیر نتایج انتخاب شد و در نهایت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به‌روش Ward و داده‌های مولکولی به‌دست‌آمده از نشانگرهای ریزماهواره با هم مقایسه شدند

نتایج و بحث

در این تحقیق برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۰ ژنوتیپ برنج، از ۲۶ جفت نشانگر ریزماهواره که پیوستگی آن‌ها با QTLهای کنترل‌کننده صفات مرتبط با تحمل به تنش‌های غیرزیستی به‌ویژه تنش خشکی گزارش شده بود، استفاده شد (جدول ۳). در مجموع ۱۲۸ آلل در ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی، با میانگین ۴/۹۲ آلل به‌ازای هر نشانگر تکثیر شدند. نشانگرهای RM5672، RM510، RM276، RM5، RM10793 هرکدام با تعداد ۷ آلل بیش‌ترین تعداد و نشانگرهای RM523، RM319 با تعداد ۲ آلل کم‌ترین تعداد را تولید کردند. همچنین تعداد آلل‌های مؤثر از ۱/۰۵ (جایگاه RM523) تا ۴/۷۹ (جایگاه RM212) متغیر بود و میانگین آن ۳/۱۹ بود. Sheng-jun و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه تنوع ژنتیکی در بین ۴۱ لاین والدین برنج با استفاده از ۶۶ نشانگر ریزماهواره، در مجموع ۳۰۱ آلل با دامنه بین ۲-۱۳ آلل گزارش نمودند. Pervaiz *et al.* (2010)، ۱۴۲ آلل با میانگین ۴/۴ آلل در ۳۲ جایگاه SSR، در ارزیابی ۷۵ ژنوتیپ برنج پاکستان، گزارش کردند. علت تفاوت در تعداد آلل بین پژوهش‌های مختلف می‌تواند به دلیل تعداد متفاوت ژنوتیپ‌ها و تفاوت در پایه ژنتیکی آن‌ها باشد. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC) در مجموع نشانگرهای مورد استفاده بین ۰/۰۴۷ تا ۰/۸۲۹ با میانگین ۰/۵۷۲ متغیر بود. بیش‌ترین میزان PIC مربوط به نشانگرهای RM5672 و کمترین مقدار آن مربوط به نشانگرRM523 بود. میزان اطلاعات چندشکلی، یکی از آماره‌های مهم جهت مقایسه نشانگرها از لحاظ قدرت تمایز آن‌ها می‌باشد. مقادیر بالای این آماره دلالت بر چندشکلی زیاد و وجود آلل یا آلل‌های نادر در یک جایگاه نشانگری است و بیانگر قدرت تفکیک و تمایز بالای آن نشانگر می‌باشد (Ribeiro-Carvalho *et al*., 2004). Tabkhkar و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه چهار گروه از ارقام برنج که شامل ۲۱ رقم بومی ایرانی، ۱۶ رقم اصلاح شده ایرانی، ۳ رقم آپلند و۷ لاین وارداتی بود، گزارش کردند که ارقام وارداتی بالاترین (۰/۴۵) و ارقام آپلند پایین‌ترین (۰/۱۹) میزان محتوای اطلاعات چندشکل را داشتند. آن‌ها همچنین این معیار تنوع را در ارقام برنج اصلاح-شده ایرانی و ارقام بومی به ترتیب برابر با ۰/۴۲ و ۰/۳۷ گزارش نمودند. میانگین این آماره در مطالعه Pervaiz و همکاران (۲۰۱۰)، ۰/۵۶ و Rabbani و همکاران (۲۰۱۰)، ۰/۵۷ گزارش شد. Lapitan و همکاران (۲۰۰۷) ارتباط بین تعداد آلل‌های مشاهده شده و میزان شاخص PIC را مشاهده کردند و بیان داشتند نشانگر-هایی که بیش‌ترین تعداد آلل را نشان بدهند PIC بالایی نیز دارند که با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق هم‌خوانی داشت. تنوع ژنی یا هتروزیگوتی مورد انتظار که احتمال متفاوت بودن ۲ آلل تصادفی از دو فرد را نشان می‌دهد، در محدوده ۰/۰۴۸ تا ۰/۸۴۸ با میانگین ۰/۶۲ بود. بیش‌ترین تنوع ژنی مربوط به نشانگر RM5672 (۰/۸۴۸) و کم‌ترین آن مربوط به نشانگر RM523 (۰/۰۴۸) بود. Ni (۲۰۰۲) در بررسی روی رقم‌های برنج با استفاده از ۲۴ نشانگر ریزماهواره، میانگین تنوع ژنی را ۰/۵ برآورد کردند که از میانگین تنوع ژنی برآورد شده در این پژوهش (۰/۶۲) پایین‌تر است. از لحاظ شاخص چندشکلی شانون، بیش‌ترین مقدار آن مربوط به نشانگر RM5672 (۱/۹۱۵) و کم‌ترین مقدار آن مربوط به نشانگر RM523 (۰/۱۱۶) بود. Luan و همکاران (۲۰۰۸) با استفاده از ۳۶ نشانگر ریز ماهواره در بین ۵۰ ژنوتیپ برنج، میانگین PIC، شاخص شانون و تنوع‌ژنی را به‌ترتیب ۰/۳۴، ۰/۶۵ و ۰/۳۷ برآورد کردند که در سه مورد کمتر از مقدار برآورد شده در این پژوهش (۰/۵۷، ۱/۲۱ و ۰/۶۲) بود. فراوانی آلل شایع، آللی که در بین کلیه آلل‌های مشاهده شده برای یک نشانگر، بیش‌ترین فراوانی را در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارد، از

۰/۲۰۵ (RM5672) تا ۰/۹۷۵ (RM523) با میانگین ۰/۴۹۹ متغیر بود. بیش‌ترین فراوانی آلل شایع مربوط به نشانگرهای RM523 و RM12091 و کم‌ترین آن مربوط به دو نشانگر RM5672 و RM212 بود. نشانگرهایی که دارای میزان اطلاعات چندشکل بالایی بودند، تنوع ژنی بالایی نیز داشتند که این‌موضوع نشان‌دهنده همبستگی بین PIC و تنوع ژنی است. هر چه تعداد آلل بیش‌تر باشد، تنوع ژنی، PIC و شاخص شانون بالایی نیز وجود خواهد داشت ولی فراوانی آلل شایع آن نشانگر پایین خواهدبود (Mohammadi, 2006).

جدول ۳. آماره‌های تنوع ژنتیکی برای ۲۶ نشانگر ریزماهواره

Marker	Ferquency	Observed number of alleles	Effective number of alleles	Shannons index	Gene Diversity	PIC
RM5	0.4615	7.0000	3.7556	1.6278	0.7337	0.7089
RM7	0.4474	5.0000	2.8538	1.2154	0.6496	0.5854
RM104	0.6154	3.0000	1.9677	0.7605	0.4918	0.3935
RM140	0.7436	3.0000	1.7032	0.7418	0.4129	0.3746
RM190	0.4737	6.0000	3.2523	1.4131	0.6925	0.6518
RM212	0.2750	6.0000	4.7904	1.6521	0.8000	0.7705
RM231	0.3500	5.0000	3.9024	1.4674	0.7438	0.7020
RM270	0.4615	4.0000	2.6731	1.1103	0.6259	0.5533
RM276	0.4000	7.0000	3.9409	1.5951	0.7525	0.7199
RM302	0.4737	5.0000	2.9712	1.2549	0.6634	0.6082
RM306	0.7250	3.0000	1.7660	0.7684	0.4338	0.3904
RM319	0.5500	2.0000	1.9560	0.6819	0.4950	0.3725
RM431	0.5000	3.0000	2.2923	0.9045	0.5638	0.4686
RM480	0.6500	3.0000	1.8913	0.7375	0.4713	0.3813
RM493	0.5500	5.0000	2.7304	1.2409	0.6338	0.5927
RM510	0.4250	7.0000	4.0404	1.6527	0.7525	0.7252
RM511	0.5500	5.0000	2.8777	1.2927	0.6363	0.5972
RM523	0.9750	2.0000	1.0512	0.1169	0.0488	0.0476
RM3805	0.4000	5.0000	3.7209	1.4337	0.7313	0.6890
RM5672	0.2051	7.0000	6.5844	1.9150	0.8481	0.8292
RM10793	0.4250	7.0000	3.0303	1.3653	0.6700	0.6135
RM11943	0.3250	6.0000	4.1026	1.5376	0.7563	0.7171
RM12091	0.8500	5.0000	1.3699	0.6091	0.2700	0.2591
RM19367	0.4000	6.0000	4.2105	1.6159	0.7625	0.7333
RM28099	0.3750	5.0000	3.4632	1.3900	0.7113	0.6629
RM28166	0.3750	6.0000	4.3478	1.6178	0.7700	0.7391
Mean	0.4993	4.9231	3.1248	1.2199	0.6200	0.5726

نتایج و میانگین‌های بالای تعداد آلل مؤثر، ارزش PIC و تنوع ژنی مشاهده‌شده در جایگاه‌های ریزماهواره، بیانگر کارآمدی ریزماهواره‌های مورد استفاده برای تمایز ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج و وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد. نشانگر RM5672 نیز با بیش‌ترین تعداد آلل، PIC، تنوع ژنی و شاخص شانون بالا به عنوان مناسب‌ترین نشانگر برای نمایش تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شناخته شد.

جهت تعیین رابطه ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس صفات مرتبط با تحمل به تنش خشکی، تجزیه خوشه‌ای به‌روش Ward و با استفاده از توان دوم فاصله اقلیدوسی انجام شد. شکل ۱ نمودار به‌دست‌آمده از این تجزیه را نشان می‌دهد با مشاهده این نمودار، بهترین نقطه برش برای رسیدن به گروه‌هایی که بتوانند بیشینه اختلاف را از هم داشته باشند، نقطه‌ای بود که همه ژنوتیپ‌ها را به دو یا سه گروه تقسیم کند. آزمون تجزیه تابع تشخیص

برای هر دو نقطه (تشکیل دو گروه و سه گروه) برای این نمودار معنی‌دار به‌دست آمد، اما ازآنجایی‌که تشکیل سه گروه منجر به جداسازی همه ژنوتیپ‌ها به گروه‌های حساس، نیمه‌حساس و متحمل می‌شد و ماهیت ژنوتیپ‌ها را دقیق‌تر ارزیابی می‌کرد، بنابراین نقطه برش سه گروهی انتخاب و تفسیر شد.

برای تعیین برترین شاخص‌های تحمل یا حساسیت که بتوانند برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل استفاده شوند، ضریب همبستگی بین شاخص‌های تحمل به خشکی و عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون تنش برآورد شد. نتایج ضریب همبستگی (جدول ۴) نشان می‌دهد که به‌ترتیب شاخص‌های MP، GMP، STI، YI بیش‌ترین ارتباط معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد را با عملکرد دانه در شرایط عادی و تنش دارند و از آنجایی‌که هدف شناسایی ژنوتیپ‌های سازگار به هر دو شرایط می‌باشد. لذا شاخص‌هایی انتخاب می‌شوند که دارای همبستگی مثبت در هر دو شرایط باشند. با توجه به ماهیت این شاخص‌ها، ژنوتیپی که MP، GMP، STI، YI بالاتری داشته باشد به‌عنوان ژنوتیپ متحمل شناخته می‌شود (Rezaei *et al.*, 2010; Jabbari *et al.*, 2009). بنابراین در این پژوهش از این شاخص‌ها به‌عنوان معیار شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس استفاده شد.

برای مشخص نمودن میزان تأثیر هریک از شاخص‌های مورد بررسی در تمایز گروه ژنوتیپ‌ها، میانگین شاخص‌ها برای هر گروه و انحراف از میانگین کل برای همان شاخص‌ها محاسبه شد. انحراف از میانگین کل برای هر شاخص در هریک از گروه‌ها تا حدودی می‌تواند نشانگر تنوع ژنوتیپ‌ها در این بررسی باشد. اگر میانگین یک شاخص در یک گروه، از میانگین کل آن شاخص بالاتر باشد، آن گروه از نظر آن شاخص ارزش بیش‌تری از میانگین کل ژنوتیپ‌ها خواهد داشت و چنان‌چه برای همه شاخص‌ها برتر از میانگین کل باشد می‌توان نام گروه متحمل را به آن اختصاص داد و بر عکس اگر پایین‌تر باشد، گروه حساس خواهد بود (Rashidi *et al.*, 2007). همان‌طورکه در جدول ۵ دیده می‌شود تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها را به سه گروه جداسازی کرد، بر این اساس گروه‌های اول تا سوم به‌ترتیب شامل ۷، ۲۲ و ۱۱ ژنوتیپ بودند. گروه اول شامل پنج ژنوتیپ از ارقام لولند و دو ژنوتیپ از ارقام آپلند بود که از لحاظ شاخص‌های مورد بررسی دارای ارزش بالاتر از گروه سه بودند و در وضعیت بهتری نسبت به ژنوتیپ‌های گروه سوم قرار داشتند، در نتیجه این ۷ ژنوتیپ با مقاومت به خشکی متوسط تا بالا، دارای مقاومت بالاتری نسبت به گروه سه بودند و به‌عنوان ژنوتیپ‌های نیمه‌متحمل به خشکی شناخته شدند. در گروه دوم بیش‌ترین تعداد ژنوتیپ (۲۲) قرار داشتند که شامل ۷ ژنوتیپ از ارقام لولند، ۱۴ ژنوتیپ از ارقام آپلند و یک ژنوتیپ هاشمی بود. جدول ۵ مؤید این نکته است که این گروه از لحاظ تمامی شاخص‌های مورد مطالعه دارای ارزش بالاتر از میانگین کل بوده و ژنوتیپ‌های موجود در این گروه متحمل شناخته شدند. در نهایت گروه سوم در برگیرنده ۱۱ ژنوتیپ بود که از لحاظ تمامی شاخص‌های مورد مطالعه دارای ارزش پایین‌تر از میانگین کل بود و در نتیجه جز ژنوتیپ‌های حساس به خشکی شناسایی شدند.

Safaei Chaeikar و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی ۴۹ ژنوتیپ ایرانی و خارجی برنج در دو محیط تحت تنش خشکی و آبیاری، همبستگی مثبت و معنی‌داری را بین شاخص‌های GMP، MP، HM و STI با عملکرد در هر دو شرایط گزارش کردند و این شاخص‌ها را کارآتر و مفیدتر از سایر شاخص‌ها جهت گزینش ارقام پرمحصول در هر دو محیط تنش و بدون تنش دانستند.

Khorshidi Benam و همکاران (۲۰۰۱) نیز با بررسی ۹ رقم و لاین امیدبخش برنج شاخص‌های MP، GMP و STI را بهترین شاخص‌ها برای غربال ژنوتیپ‌های متحمل و حساس به خشکی انتهای فصل برشمردند.

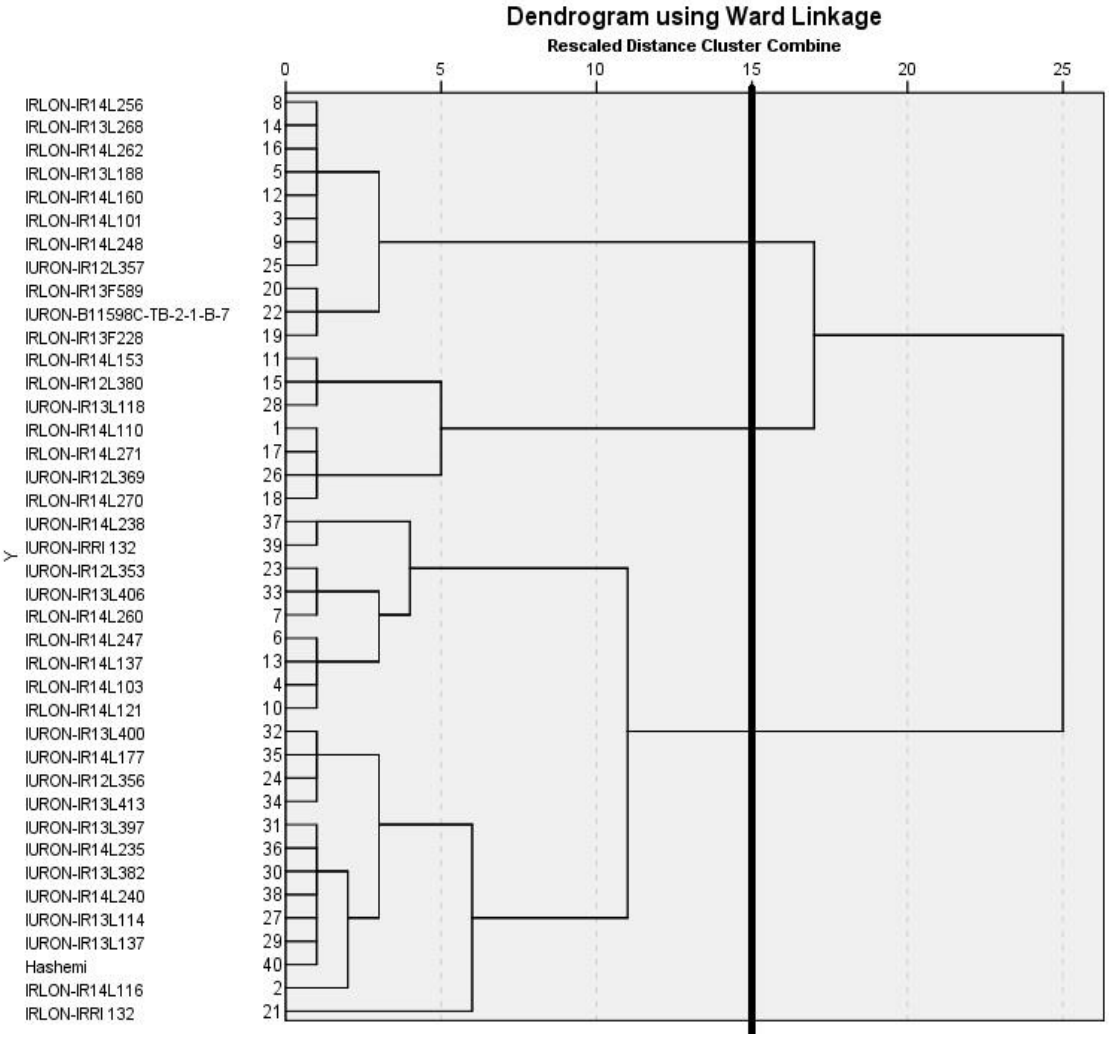
جدول ۴. ضریب‌های همبستگی بین شاخص‌های تحمل و حساسیت با عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط عادی و تنش خشکی

	TOL	YI	YSI	MP	GMP	STI	SSI
YP	0.693**	0.486**	-0.386*	0.946**	0.893**	0.765**	0.519**
YS	-0.032ns	0.691**	0.346*	0.893**	0.943**	0.682**	-0.162 ns

ns,* and **: Not Significant and Significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.

جدول ۵. اعضای گروه‌های به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای همراه با میانگین و میزان انحراف از میانگین کل برای شاخص‌های تحمل

Group	Rice genotypes	Index				
		GMP	MP	STI	YI	
Group 1: Semi-tolerant (n=7)	1, 11, 15, 17, 18, 26, 28	1.938	2.187	0.593	0.756	Group average
		-0.316	-0.141	0.095	-0.244	Deviation from the total mean
Group 2: Tolerant (n=22)	2, 4, 6, 7, 10, 13, 21, 23, 24, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40	2.802	2.847	0.906	1.196	Group average
		0.548	0.519	0.219	0.196	Deviation from the total mean
Group 3: Sensitive (n=11)	3, 5, 8, 9, 12, 14, 16, 19, 20, 22, 25	1.360	1.381	0.310	0.764	Group average
		-0.895	-0.947	-0.377	-0.236	Deviation from the total mean
		2.254	2.329	0.687	1.000	Total average

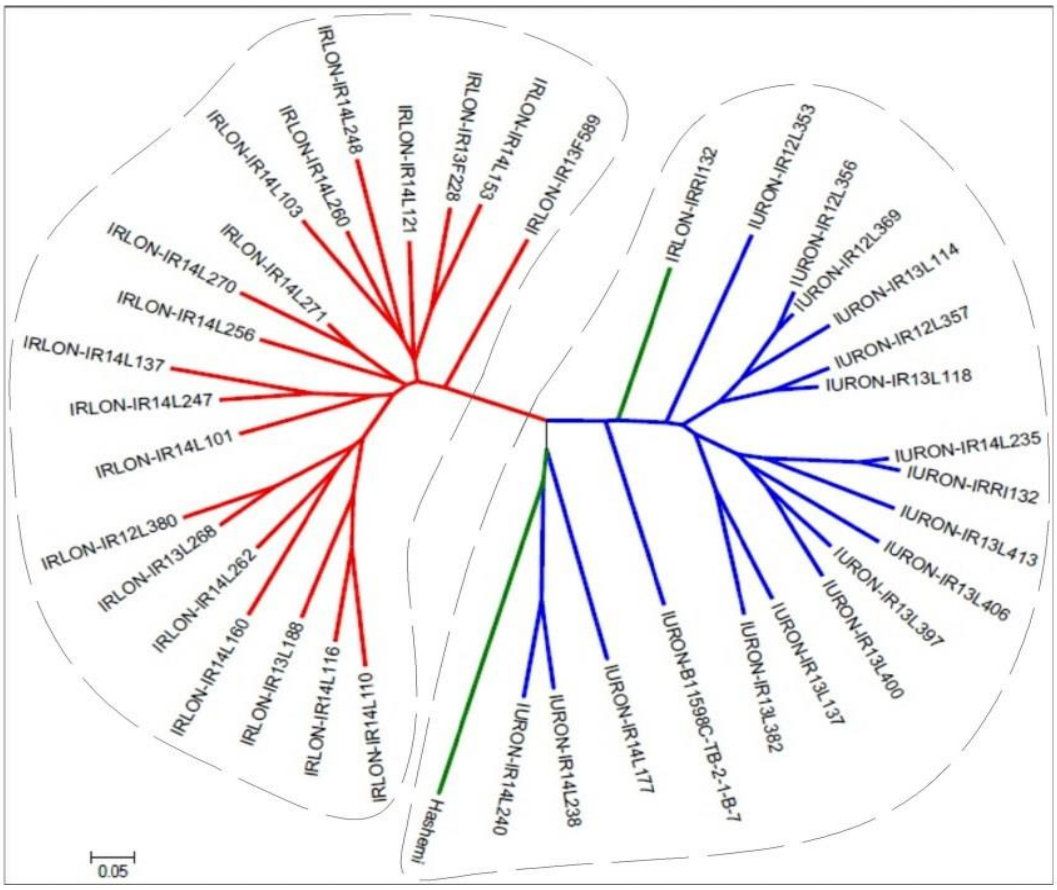


شکل ۱. نمودار شجره‌ای حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه به‌روش Ward براساس شاخص‌های تحمل به خشکی

در بررسی دیگری Gravandy و همکاران (۲۰۱۰) با ارزیابی ضریب همبستگی بین ژنوتیپ‌های برنج تحت تنش خشکی بیان داشتند که شاخص‌های GMP و STI مناسب‌ترین شاخص‌ها تحت شرایط تنش و نرمال می‌باشند. Maleki و همکاران (۲۰۰۹) نیز در ارزیابی تحمل به خشکی ارقام بومی و اصلاح شده گندم نان، شاخص‌های MP، GMP و STI که بیش‌ترین همبستگی را با عملکرد دانه نشان دادند را به‌عنوان معیار مناسبی برای انتخاب ارقام متحمل به خشکی با پتانسیل عملکرد بالا معرفی کردند. همچنین برتری شاخص‌های MP، GMP و STI به‌عنوان مناسب‌ترین شاخص در پژوهش‌های دیگری نظیر Sori و همکاران (۲۰۰۵) و Farshadfar و همکاران (۲۰۰۱) با مطالعه بر روی نخود و Nazari & Pakniat (2010) در ارزیابی تحمل در ارقام جو نیز به اثبات رسید. در بررسی حاضر نیز همبستگی بین متغیرها بیانگر این مطلب بود که شاخص‌های MP، GMP، STI و YI از جمله شاخص‌های موفق و برتر در جداسازی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه هستند. همچنین در پژوهشی به منظور تعیین تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی رقم‌های برنج، صد ژنوتیپ ایرانی و خارجی برنج از نظر ۱۷ صفت زراعی بررسی شدند و برپایه تجزیه خوشه‌ای

به‌روش Ward ژنوتیپ‌های مورد بررسی در هفت گروه قرار داده شدند و این روش گروه‌بندی به خوبی توانست رقم‌های ایرانی و خارجی مورد بررسی را از نظر صفات مورد بررسی از یکدیگر تفکیک و در گروه‌های جداگانه قرار دهد (Allahgholipor *et al*., 2004).

تجزیه خوشه‌ای بر پایه الگوریتم اتصال همسایگی (NJ) و ضریب تشابه جاکارد به‌عنوان بهترین نمودار درختواره‌ای برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها انتخاب و تفسیر شد (شکل ۲ نمایش تابشی (Radiation) نمودار درختواره‌ای را نشان می‌دهد).



شکل ۲. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های ریزماهواره با استفاده از روش اتصال همسایگی (NJ) و ضریب تشابه جاکارد

نتایج این تجزیه نشان‌گر این واقعیت است که با استفاده از داده‌های به‌دست‌آمده از نشانگرهای ریزماهواره به‌کاررفته در این تحقیق، می‌توان بسیاری از ژنوتیپ‌های آپلند و لولند مورد مطالعه را که از نظر بسیاری از ویژگی‌های ریخت‌شناختی و مولکولی متفاوت از هم هستند، با دقت زیادی از هم متمایز کرد. برپایه‌ی نمودار درختواره‌ای ۴۰ ژنوتیپ مورد مطالعه به دو دسته تقسیم شد. دسته اول شامل ۲۰ ژنوتیپ از ارقام لولند بود که اغلب به‌عنوان ژنوتیپ‌های حساس و نیمه‌حساس شناسایی شده بودند، طوری‌که شمار ۱۴ ژنوتیپ از آن با ژنوتیپ‌های گروه حساس و نیمه حساس حاصل از تجزیه خوشه‌ای مشترک بودند که عبارتند از ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۳، ۵، ۸، ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰ و دسته دوم نیز از تعداد ۲۰ ژنوتیپ تشکیل شده بود که شامل ۱۸ ژنوتیپ از ارقام آپلند و یک ژنوتیپ بومی هاشمی و یک ژنوتیپ از ارقام لولند بود که این یک ژنوتیپ به‌طور نادرست در این دسته قرار داشت، اما ژنوتیپ هاشمی که در گروه‌بندی با استفاده از شاخص‌ها، در قرابت نزدیکی

با ژنوتیپ‌های آپلند قرار داشت، در این گروه‌بندی نیز قرابت نزدیک و بالایی با این ژنوتیپ‌ها نشان داد و همراه آن‌ها قرار گرفت. این دسته اغلب دربرگیرنده ژنوتیپ‌های متحمل به‌خشکی بود که از این شمار تعداد ۱۵ ژنوتیپ با ژنوتیپ‌های گروه متحمل حاصل از تجزیه خوشه‌ای مشترک بودند که عبارت است از ژنوتیپ‌های شماره ۲۳، ۲۴، ۲۷، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹ و ۴۰. این میزان سازگاری نسبی می‌تواند بیانگر این حقیقت باشد که نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده در این پژوهش می‌توانند ارتباط معنی‌داری با شاخص‌های تحمل داشته باشندکه نتایج قطعی پس از کاربرد نشانگرهای بیش‌تر قابل اظهار است. بدیهی است میزان هم‌خوانی گروه‌بندی برپایه نشانگرهای پیوسته به صفات مرتبط با تحمل به تنش، بسیار بیش‌تر از گروه‌بندی بر پایه نشانگرهای تصادفی روی ژن‌ها خواهد بود. در پژوهشی ۴۸ ژنوتیپ برنج بومی ایرانی و اصلاح شده و خارجی با استفاده از حدود ۳۰ نشانگر ریزماهواره ارزیابی شد که با استفاده از روش UPGMA و ضریب جاکارد ژنوتیپ‌ها در دو گروه اصلی طبقه بندی شدند، از سوی دیگر گروه‌بندی بر پایه صفات کمی مختلف انجام شد. در این بررسی با مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از دو گروه‌بندی پیشنهاد شد که در برنامه‌های دراز مدت به‌نژادی، استفاده از نشانگرهای مولکولی در تلفیق با صفات کمی می‌تواند در تولید رقم‌های برتر سودمند باشد (Nori, 2006). Ming و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش نمودند که نشانگرهای ریزماهواره می‌توانند ژنوتیپ-های مورد مطالعه آن‌ها را گروه‌بندی نمایند. هم‌چنین نتایج مشابهی توسط Luan و همکاران (۲۰۰۸) و Ni و همکاران (۲۰۰۲) گزارش شده است که ریزماهواره‌ها از توان بالایی برای گروه‌بندی ژنوتیپ-ها و تفکیک آن‌ها از یکدیگر برخوردارند. Sabouri و همکاران (۲۰۱۰) در شناسایی نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده تحمل به خشکی از یک جمعیت F_2 شامل ۱۹۲ بوته حاصل از تلاقی دو رقم شاه‌پسند و IR28، برای مکان‌یابی صفات زراعی در شرایط تنش خشکی استفاده نمودند و در این مطالعه ناحیه‌ای از کروموزوم شماره یک برنج در فاصله آغازگرهای RM115-RM5638 و هم‌چنین دو ناحیه روی کروموزوم شماره ۶ در فاصله آغازگرهای RM7434-RM162 و آغازگرهای RM4608-RM217 مشخص شد که چندین صفت را در شرایط تنش خشکی کنترل می‌کردند. Song-ping و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی نقشه‌یابی QTLهای مقاومت به خشکی در ژنوم گیاه برنج توسط نشانگرهای ریزماهواره، از یک مجموعه شامل ۱۹۵ لاین اینبرد نوترکیب (RLLs) حاصل از تلاقی بین ژنوتیپ‌های (Zhens97B×IRAT109) موفق به شناسایی چهار QTL برای شاخص مقاومت به خشکی، موسوم به QDRI بر روی کروموزوم‌های ۱، ۴، ۵ و ۹ شدند.

نتیجه‌گیری کلی

شاخص‌های MP، GMP، STI و YI به‌عنوان شاخص‌های برتر در هر دو شرایط تنش و غیر تنش، قادر هستند ژنوتیپ‌های متحمل و حساس را شناسایی کنند. تجزیه خوشه‌ای بر اساس این شاخص‌ها ژنوتیپ‌ها را به سه گروه متحمل، نیمه حساس و حساس تقسیم کرد. هم‌چنین تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگرهای ریزماهواره ژنوتیپ‌ها را به دو گروه کلی تقسیم نمود. با توجه به این‌که هدف از این پژوهش ارزیابی کارایی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با تحمل به تنش خشکی با استفاده از بررسی همخوانی گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با استفاده از شاخص‌های تحمل و نشانگرهای ریزماهواره بود، لذا با توجه به همخوانی نسبی این دو گروه‌بندی، نشانگرهای ریزماهواره

می‌توانند اطلاعات ارزشمندی را در ارتباط با تحمل این ژنوتپ‌ها در اختیار به نژادگران قرار دهند.

REFERENCES

Allahgholipor M, Mohamadsaleh, MS, Eebadi GHA (2004) Genetic variation in the classification of varieties of rice. J. Agri. Sci. 35(4), 973-981.

Arif M (2002) Molecular mapping of genes/QTLs affecting resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. Oryzae and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). PhD thesis. University of Philippines in Los Banos. Philippines

Babu RCh (2010) Breeding for throught resistance in rice: An integrated view from physiology to genomics. J. Plant Breed. 1(4): 1133-1141.

Bernier J, kumar a, Ramaiah V, Spaner D, Atlin G (2007) A large-effect QTL for grain yield under reproductive-stage drought stress in upland rice. Crop sci. 47(2): 507-518.

Blum A (1996) Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant Growth Regul. 20: 135-148.

Bouslama M, Schapaugh WT (1984) Stress tolerance in soybean. Part 1: Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. Crop Sci. 24, 933-937.

Collard BCY, Mackill DJ (2008) Marker assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Phil. Trans. Biol. Sci. 363, 557-572.

David CSC (1991) The world rice economy, Challenges ahead. In: Khush, GS., Toenniessen, GH (eds) *Rice Biotechnology*. CAB International. UK. PP 19-54.

Diwan JM, Channbyregowda V, Shenoy P, Salimath Bhat R (2013) Molecular mapping of early vigor related QTLs in rice. Res. J. Biol. 1: 24-30.

Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Mattick JS (1991) Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. Nucleic Acids Res. 19:4008-4009.

Farshadfar E, Zamani M, Motallebi M, Imamjomeh A (2001) Selection for drought resistance in chickpea lines. Iran J. Agric. Sci. 32: 65-77.

Fernandez GC (1992) Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo, C. G. (ed.). Proceedings of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crop to Temperature and Water Stress, Taiwan, 13-18 August, pp. 257-270.

Fischer RA, Maurer R (1978) Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield response. J. Agri. Res. 29, 897-912.

Gavuzzi P, Rizza F, Palumbo M, Campaline RG, Ricciardi GL, Borghi B (1997) Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. J. Plant Sci. 77, 523-53.

Gravandy M, Farshadfar E, Kahrizi D (2010) Evaluation of drought tolerance in bread weat advanced genotypes in field and laboratory conditions. Seed Plant Improv. J. 26(2): 233-252.

Jabbari H, Akbari GA, Daneshian J, Alahdadi I, Shahbazian N (2009) Utilization ability of drought resistance indices in sunflower (*Heliantus annus* L.) hybrids. Electron. J. Crop Prod. 1(4), 1-17.

Kanagara, P., Silvas, K. & Babu, C. (2010) Microsatellite markers linked to drought resistance in rice (*Oryza sativa* L.). J. Current Sci. 98, 836-839.

Khorshidi Benam MB, Khoei F, Mirhadi MJ, Nourmohammadi Q (2001) Studying the effect of drought stress in different growth stages of potato. J. national agri. sci. 4(1): 48-58.

Lapitan VC, Brar DS, Abe T, Redona ED (2007) Assessment of genetic diversity of Pilippine rice carrying good quality traits using SSR markers. J. Breed. Sci. 57: 263-270.

Luan l, Wang X, Long WB, Liu YH, Tu SB, Zhao ZP, Kong FL, Yu MQ

(2008) Microsatellite analysis of genetic variation and population genetic differentiation in autotetraploid and diploid rice. Bio. Genet. 46: 248-266.

Mackill, D.J. and Coffman, W.R. and Garrity, D.P. (1996) Rainfed lowland rice improvement. IRRI. P.O.BOX 933, 1099 Manila, Philippines.

Mackill D J, Ekanayake I J (1986) Rice backcross progeny differing in heat and drought tolerance at anthesis. Agro. Abstracts. p. 71.

Maleki A, Majidi-Hrvan I, Heidari-Sharif-Abad H, Nur-Mohammadi GH (2009) Evaluation of drought tolerance in bread wheat landraces and improved water conditions and drought stress. J. Agric. Sci. 5: 81-91.

McCouch SR, Teytelman L, Xu Y, Lobos K, Clare K, Walton M (2002) Development of 2243 new SSR markers for rice by the international rice microsatellite initiative. Proc. First International Rice Congress. China. 150-152.

Ming H, Fang-Min X, Li-Yun CH, Xiang-Qian ZH, Jojee L, Madonna D (2010) Comparative analysis of genetic diversity and structure in rice using ILP and SSR markers. Rice Sci. 17 (4): 257-268.

Mohammadi SA (2006) Analysis of molecular data from the view point of genetic diversity. Proceedings of Keynote Papers, 9th Iranian Crop Science Congress. 27-29 Aug. Aboreyhan Pardis, University of Tehran, Tehran, Iran. pp. 96-119.

Nazari L, Pakniat H (2010) Assessment of Drought Tolerance in Barley Genotypes. J. Appl. Sci. 10(2): 151-156.

Nourmand-Moay'yed F, Rostami MA, Ghonadha MR (2002) Evaluation of drought stress indices at bread wheat. J. Iran Agric Sci. 22: 4. 795-805.

Nori Z (2006) Molecular genetic diversity of rice varieties using microsatellite markers in comparison with the results of quantitative methods. MSc. Thesis. University of Gilan. pp 120.

Ni J, Colowit PM, Mackill DJ (2002) Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. Crop Sci. 42: 601-607.

Pervaiz Z H, Rabbani MA, Khaliq I, Pearce S, Malik SA (2010) Genetic diversity associated with agronomic traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces. Electron. J. Biotech. 13 (3): 1-12.

Rabbani MA, Masood MSH, Shinwari ZKh, Shinozaki KY (2010) Genetic analysis of basmati and non-basmati Pakistani rice (*Oryza sativa* L.) cultivars using microsatellite markers. Pak. J. Bot. 42 (4): 2551-2564.

Rashidi V, Majidi I, Mohamadi SA, Moghadam Vahed M (2007) Determine of genetic relationship in durum wheat lines by cluster analysis and identity of morphological main characters in each gropes. J. Agri. Sci. 13(2): 441-450.

Rezaei M, Motamed MK, Yousefi A, Amiri E (2010) Evaluation of different irrigation management on rice yield. J. Water Soil. 24(3): 565-573.

Ribeiro-Carvalho C, Guedes-Pinto H, Igregas G (2004) High levels of genetic diversity throughout the range of Portuguese wheat landrace Barbela. Annal. Botan. 94: 699-705.

Rosielle AA, Hamblin J (1981) Theoretical aspect of selection for yield in stress and non-stress environment. Crop Sci. 21, 943-946.

Sabouri H, Sabouri A, Katami Nejad R (2011) Genetic analysis of agronomic traits in rice under drought stress using Inclusive Composite Interval Mapping. The 7thNational Biotechnology Congress of I.R. Iran.

Sabouri (2015) Study of genetic diversity of rice varieties based on tolerance to drought stress. Report of technical review of National project. Gonbad

University. Golestan. Iran.

Safaei Chaeikar S, Rabiei B, Samizadeh H, Esfahani M (2008) Evaluation of tolerance to terminal drought stress in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Iran J. Crop Sci. 9 (4): 315-331.

Sagha Maroof MA, Biyashev RM, Yang GP, Zhang Q, Allard RW (1994) Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barely: Species diversity, chromosomal locations and population dynamics. P. Natl. Acad. Sci. USA. 91: 5466-5570.

Sheng-jun W, Zuo-mei L, Jian-min W (2006) Genetic diversity among parents of hybrid rice based on cluster analysis of morphological traits and simple sequence repeat markers. Rice Sci. 13(3): 155-160.

Song-ping HU, Hua YANG, Gui-hua ZOU, Hong-yan LIU, Guo-lan LIU, Han-wei MEI, Run CAI, Ming-shou LI, Li-junL UO (2007) Relationship Between Coleoptile Length and Drought Resistance and Their QTL Mapping in Rice. Rice Sci.14(1):13-20.

Sori J, Dehghani H, Sabaghpor SH (2005) Study of genotypes of chickpea in water stress condition. Iran J. Agri. Sci. 6: 1517-1527.

Switzer RC, Merril CR, Shifrin S (1979) A highly sensitive silver stain for detecting proteins and peptides in polyacrylamide gel. Anal. Biochem. 98: 231-237.

Tabkhkar N, Rabiei B, Sabouri A (2011) Evaluation allele frequency and polymorphism of microsatellite markers linked to gene loci controlling rice grain quality. Iran. J. Field Crop Sci. 42(3): 495-507.

Thomson MJ, de Ocampo M, Egdane J, Akhlasor Rahman M, Godwin Sajise A, Adorada DL, Tumimbang Raiz E, Blumwald E, Seraj ZI, Singh RK, Gregorio GB, Ismail AM (2010) Characterizing the *Saltol* quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. Rice. 3(2): 148-160.

Venuprasad R, Bool ME, Quiatchon L, Atlin GN (2011) A QTL for rice grain yield in aerobic environments with large effects in three genetic backgrounds. Theor. Appl. Genet. 124 (2), 323-32.

Vikram P, Mallikarjuna Swamy BP, Dixit S, Ahmed HU, Sta Cruz MT, Singh AK, Kumar A (2011) qDTY 1.1, a major QTL for rice grain yield under reproductivestage– drought stress with a consistent effect in multiple elite genetic backgrounds. BMC Genet. 12: 89.

Wang XS, Zhu J, Mansueto L, Bruskiewich (2005) Identification of candidate genes for drought stress tolerance in rice by the integration of a genetic (QTL) map with the rice genome physical map. J. Zhejiang Univ. Sci. 6B (5): 382-388.

Yang X, Yan J, Shah T, Warburton ML, Li Q, Li L, Gao Y, Chai Y, Fu Z, Zhou Y, Xu S, Bai G, Meng Y, Zheng Y, Li J (2010) Genetic analysis and characterization of a new maize association mapping panel for quantitative trait loci dissection. Theor. Appl. Genet. 121, 417-431.