مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۴، شماره ۳، سال ۱۳۸۲ (۷۶۷-۷۵۷)

طبقه بندی بخشی از ژرم پلاسم برنج ایرانی با استفاده از نشانگر RAPD

رستم آقازاده قولکی[۱]، بهزاد قره‌یاضی[۲]، قربانعلی نعمت‌زاده[۳] و نادعلی بابائیان[٤]
۱، ۳، ٤، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیاران دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه مازندران
۲، عضو هیات علمی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۸/۸

خلاصه

٥٦ ژنوتیپ برنج با استفاده از نشانگر RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمایش از ٦٦ آغازگر استفاده شد. ۱۲ آغازگر تصادفی، چند شکلی مطلوبی را نشان دادند. ۱۲۹ نشانگر تصادفی ایجاد شد که ۱۰٤ نشانگر چند شکل (۸۰/٦۲ درصد) و ۲۵ (۱۹/۳۸ درصد) نشانگر یک شکل بودند. اندازه نوارهای تولیدشده از ۰/٤٥ تا ۳ کیلوباز متغیر بود. میانگین تعداد نوارها برای هر آغازگر چند شکل بین ۷ الی ۱۰/۷۵ نوار بود. گروه بندی ژنوتیپ ها با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه چاکارد صورت گرفت. بطوریکه ژنوتیپ های مورد مطالعه در ۷ گروه قرار گرفتند. میزان تشابه در بین ارقام از ٤٤ درصد تا ۹۱ درصد متغیر بود.که حداقل تشابه بین ارقام بوفیکان و دمسیاه (٤٤ درصد) و حداکثر تشابه بین ارقام IR-۲۸ با آمل ـ۲ (۹۱ درصد) بود. این آزمایش نشان داد که در بین ارقام تنوع مطلوبی وجود دارد بطوریکه می توان از این تنوع برای اهداف مختلف اصلاحی بهره جست. همچنین این آزمایش نشان داد که نشانگر رپید یک تکنیک مناسب برای طبقه بندی کردن و بررسی تنوع ژنتیکی در بین ارقام برنج می تواند باشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، ژرم پلاسم، نشانگرمولکولی، طبقه بندی، تنوع ژنتیکی و RAPD

مقدمه

جهت بررسی تنوع ژنتیکی می توان از انواع نشانگر[۱]ها استفاده کرد. نشانگرهای مرفولوژیکی و پروتئینی به خاطر میزان چندشکلی قابل دسترس کمتر در مقایسه با نشانگرهای دی. ان. آ کمتر در امر طبقه بندی به کار گرفته می شوند. نشانگرهای دی. ان. آ[2]، دارای قدرت تمایز بیشتری نسبت به نشانگرهای مرفولوژیک و پروتئینی است (۱۴). دلیل این امر این است که نشانگرهای دی. ان. آ علاوه بر نشان دادن اختلافات موجود در ردیف های کد کننده، تفاوت های بین ردیف های غیر کد کننده و توالی های کناری در ژنوم را می‌توانند آشکار سازند.

آر. اف. ال. پی[۳] از اولین نشانگرهای مولکولی بود که برای مطالعه مستقیم دی. ان. آ معرفی شد به طوریکه هنوز هم یکی از قدرت مندترین و معتبرترین نشانگرها محسوب می شود. این نشانگر به خاطر مشکل بودن کارهای اجرایی، هزینه بالا و صرف وقت زیاد و سرعت کمتر به طور عمده در مطالعات طبقه بندی استفاده نمی شود (۳). در دهه گذشته معرفی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[۴] به عنوان یک وسیله قدرتمند دیگر برای مطالعات ژنومی، خصوصا برای نشان دادن پلی مورفیسم دی. ان. آ و همچنین استفاده از این تکنیک برای انگشت نگاری[۵] کردن ارقام، روابط فیلوژنتیکی[۶]، تعیین تشابهات بین

1 . Markers
2 . DNA Markers
3 . Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)
4 . Polymerase Chain Reaction (PCR)
5 . Fingerprinting
6 . Phylogenetic Relationships

مکاتبه کننده: رستم آقازاده قولکی

لاین های اینبرد و نقشه کشی ژنوم موجودات و طبقه بندی ارقام مورد استفاده قرار می گیرد (۸، ۱۳).

چو وهمکاران (۱۹۹۹) انگشت نگاری ۴۸ واریته برنج را با استفاده از نشانگر رپید انجام دادند. تجزیه و تحلیل واریته ها نشان داد که از ۱۴۵ نوار ایجاد شده ۱۲۱ نوار (۸۳/۴ درصد) چند شکل بودند وهر رقم یک انگشت نگاری مشخصی به وسیله نشانگر رپید آشکار ساخت بطوریکه اغلب واریته ها در دو گروه ژاپونیکا و ایندیکا قرار گرفتند. فوینتز و همکاران (۱۹۹۹) تنوع ژنتیکی در واریته های برنج کوبایی را با استفاده از ۶۰ آغازگر تصادفی رپید مورد بررسی قرار دادند. ۶۱ نوار واضح در محدوده ۲۵/. الی ۳/۵ کیلو باز ایجاد شد و ارقام در گروههای متمایزی قرار گرفتند. نشانگر رپید[1]، یکی از سیستم های مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز است. در این روش الیگونوکلئوتیدهای کوتاه با توالی تصادفی (بدون نیاز به اطلاع ازتوالی دی. ان. ای ژنومی جهت طراحی آغازگر) برای تکثیر نقاطی از ژنوم گیاه مورد آزمایش استفاده می شوند. دی. ان. آی تکثیر شده بوسیله الکتروفورز از هم جدا می شوند، تفاوت های (اختلافات) بین ارقام یا ژنوتیپ ها به صورت تفاوت هایی در الگوی نوارها منعکس می‌شوند. با این روش فوکوکا و همکاران (۱۹۹۲) ۱۶ واریته برنج شامل ۱۲ واریته ژاپونیکا، ۲ واریته جاوانیکا و دو واریته ایندیکا را مورد ارزیابی قرار دادند. دندروگرام حاصل از داده های رپید نشان داد که تیپ جاوانیکا از نظر ژنتیکی به تیپ ژاپونیکا نزدیکتر است این مشاهدات منطبق بر طبقه بندی ماتسو در مورد تیپ های ارقام برنج بود. طبقه بندی واریته های برنج تیپ ژاپونیکا هم با استفاده از نشانگر مولکولی رپید صورت گرفته است (۱۵). همچنین از این روش برای طبقه بندی ارقام موجود در کلکسیون‌های بزرگ بین المللی،شناسایی و حذف نمونه‌های تکراری[2] (یکسان از لحاظ ژنتیکی) و ایجاد کلکسیون‌های مرکزی[3] یا هسته‌ای استفاده شده است (۱۶). با استفاده از این روش تفاوت ژنتیکی در بین ارقام برنج محلی بنگلادش و بوتان مورد ارزیابی قرار گرفت و۹۴ نوار واضح ایجاد که ۴۷ نوار (۵۰ درصد) چند شکل بودند (۱۲). مک گیل (۱۹۹۵) با استفاده از نشانگر رپید میزان تنوع ژنتیکی در یک نمونه از ۱۳۴ رقم برنج و ۲گونه وحشی را مورد بررسی قرارداد در این آزمایش ۳۰ نوار چندشکل واضح ایجاد گردید و فرم‌های ژاپونیکا و ایندیکا در گروههای جداگانه قرارگرفتند. علاوه بر این موارد آنالیزهای رپید برای آشکار شدن تنوع موجود در درون ژرم پلاسم اوریزاساتیوا[4] شامل تیپ‌های ژاپونیکا و ایندیکا[5]، شناسایی والدین مناسب برای ایجاد نقشه پیوستگی و برای نشانمتد کردن ژن مقاومت به خشکی و غیره می تواند استفاده شود (۱۶).

هدف از این آزمایش بررسی تنوع ژنتیکی موجود در بین ارقام برنج می باشد تا بتوان از این تنوع جهت استفاده در برنامه های اصلاحی همچون دورگ گیری به منظور بهره گیری از پدیده هتروزیس ودر صورت امکان انتقال صفات مطلوب به ارقام مورد نظر بهره مند شد.

مواد و روش ها

بذور ۵۶ رقم برنج (جدول۱) از بانک ژن موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (کرج)، موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) و معاونت موسسه (مازندران ـ آمل) تهیه گردید. بذور در موسسه تحقیقات برنج (رشت) و معاونت موسسه (آمل) کشت شدند. دی. ان. آی ژنومی از برگ های جوان ۵ الی ۶ هفته ای با روش تغییر یافته دلاپورتا و همکاران (۱۹۸۴) استخراج گردید. دراین آزمایش از ۱۲ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی (جدول۲) با توالی تصادفی استفاده شد همه این آغازگرها متعلق به شرکت OPERON بوده که از طریق شرکت GENSET سنگاپور تهیه شدند. حجم یک واکنش پی سی آر ۲۵ میکرولیتر شامل: ۲/۵ میکرولیتر بافر پی سی آر (1X)، ۲/۵ میکرولیتر dNTPs (۱۰۰ میکرومولار)، ۳/۲ میکرولیتر کلراید منیزیم (۱/۹ میلی مولار)، ۱/۵ میکرولیتر آغازگر تصادفی (۶/. میکرومول)، ۱ میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز(۲/. واحددر یک میکرولیتر)، ۱ میکرولیتر (۵۰ نانوگرم) دی. ان. آی الگو و ۱۳/۳ میکرولیتر آب دوبار

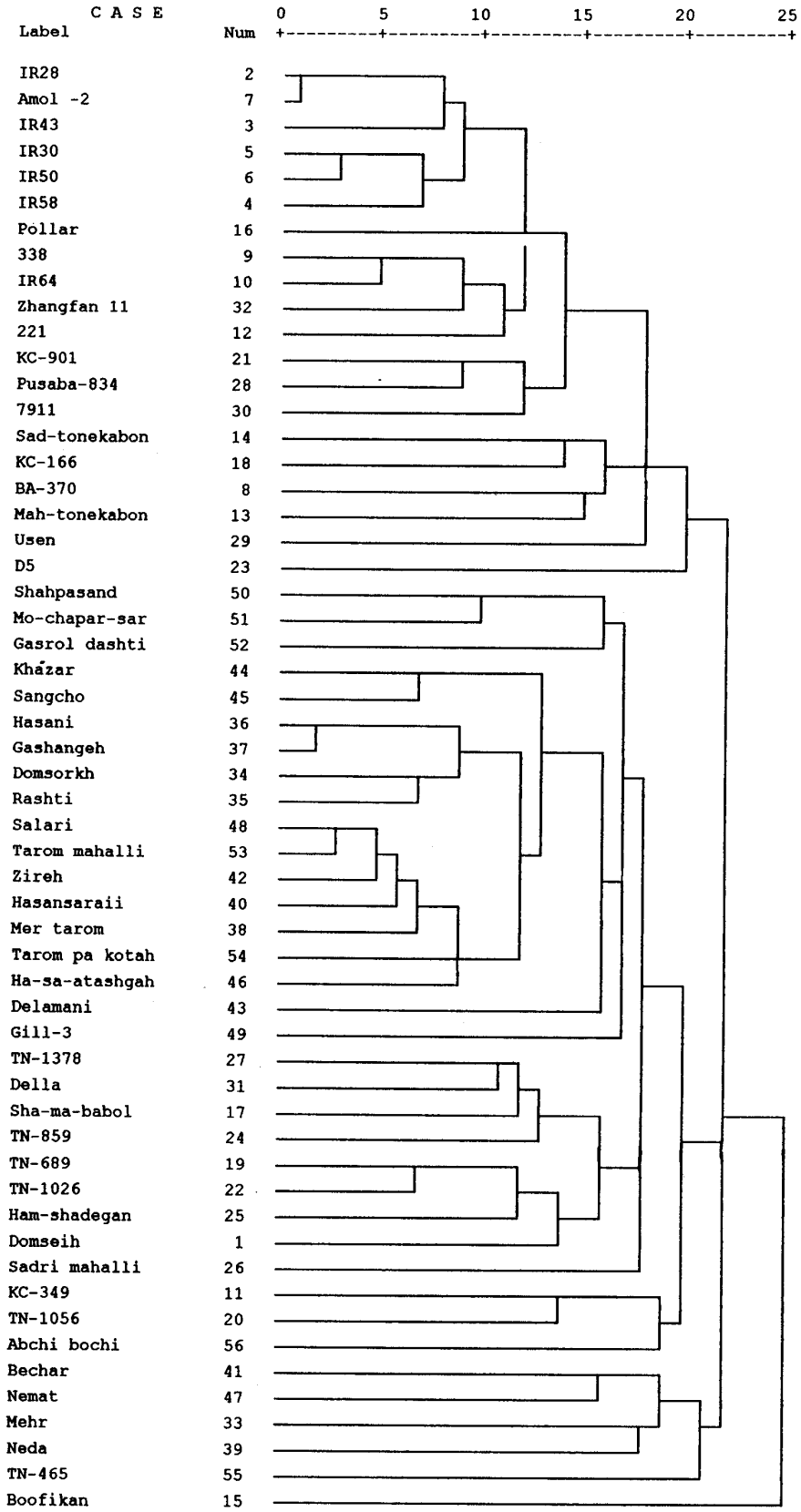
1 . RAPD Markers

2 . Identical Genotype

3 . Primer

4 . *Oryza sativa* L. Germplasm

5 . Indica and Japonica Types



نمودار ۲- دندروگرام ارقام برنج بر اساس الگوی باندی دی.ان.آ، به دست آمده به وسیله آغازگرهای تصادفی

تقطیراستریل شده بود. برای تعیین کیفیت دی. ان. آ از طریق لود کردن آن در ژل وانجام الکتروفورز ومشاهده در زیر نور UV انجام گردید. در صورتیکه در ژل خط اسمیر وجود نداشته باشد دی. ان. ا کیفیت مطلوبی دارد. برای تکثیر دی. ان. آی ژنومی از دستگاه ترموسایکلر شرکت پرکین المر[1] (Gene Amp ۹۷۰۰ PCR SYS) با چرخه‌های حرارتی زیر استفاده گردید.چهار دقیقه در ۹۴ درجه سانتیگراد برای واسرشته کردن مولکول های دی. ان. آ، ۱ دقیقه در ۳۴ درجه سانتیگراد برای اتصال آغازگرها به دی. ان. آی الگو، ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد برای بسط آغازگر توسط آنزیم تک پلیمراز، تعداد کل سیکل ها ۴۰ و در سیکل چهلم، ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد برای تکمیل بسط آغازگر توسط آنزیم تک پلیمراز درنظر گرفته شد. محصولات تکثیر با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز و با اتیدیوم بروماید (۵/. میکروگرم بر میلی لیتر) رنگ آمیزی شدند. دستگاه الکتروفورز استفاده شده OWL امریکایی، ابعاد ژل ۴۰×۲۰ سانتی متر،تعداد نمونه در هر ژل ۲×۳۶ ، ولتاژ بکارفته ۷۰ ولت و میزان لود ۲۰ میکرو لیتر می باشد. الگوی نواری زیر نور UV مطالعه و با استفاده از دوربین پولارید (سرعت ۴ و دیافراگم ۲) عکسبرداری شد.

1. Thermo Cycler From Perkin Elmer(Gene Amp SYS 9700)

جدول ۱ - فهرست ارقام برنج استفاده شده در آزمایش

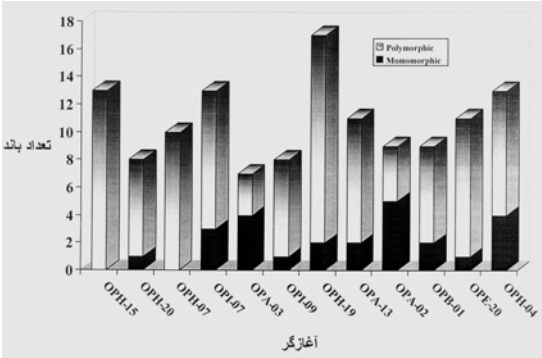
ردیف	ژنوتیپ	تهیه بذور	ردیف	ژنوتیپ	تهیه بذور
۱	دم‌سیاه	موسسه برنج کشور	۲۹	یوسن	معاونت موسسه برنج
۲	IR28	موسسه برنج کشور	۳۰	۷۹۱۱	معاونت موسسه برنج
۳	IR43	موسسه برنج کشور	۳۱	دلا	معاونت موسسه برنج
۴	IR58	موسسه برنج کشور	۳۲	زانگ فان ۱۱	معاونت موسسه برنج
۵	IR36	موسسه برنج کشور	۳۳	مهر	معاونت موسسه برنج
۶	IR50	موسسه برنج کشور	۳۴	دم سرخ	معاونت موسسه برنج
۷	آمل ۲	موسسه برنج کشور	۳۵	رشتی	معاونت موسسه برنج
۸	BA – 370	موسسه برنج کشور	۳۶	حسنی	معاونت موسسه برنج
۹	۳۳۸	موسسه برنج کشور	۳۷	قشنگه	معاونت موسسه برنج
۱۰	IR64	موسسه برنج کشور	۳۸	میر طارم	معاونت موسسه برنج
۱۱	KC – 349	بانک ژن کرج	۳۹	ندا	معاونت موسسه برنج
۱۲	۲۲۱	موسسه برنج کشور	۴۰	حسن سرایی	معاونت موسسه برنج
۱۳	محلی تنکابن	موسسه برنج کشور	۴۱	بجار	معاونت موسسه برنج
۱۴	صدری تنکابن	موسسه برنج کشور	۴۲	زیره	معاونت موسسه برنج
۱۵	بوفیکان	موسسه برنج کشور	۴۳	دیلمانی	معاونت موسسه برنج
۱۶	دولار	موسسه برنج کشور	۴۴	خزر	معاونت موسسه برنج
۱۷	شالی ملکی بابل	موسسه برنج کشور	۴۵	سنگ جو	معاونت موسسه برنج
۱۸	KC – 166	بانک ژن کرج	۴۶	حسن سرایی آتشگاه	معاونت موسسه برنج
۱۹	TN – 689	بانک ژن کرج	۴۷	نعمت	معاونت موسسه برنج
۲۰	TN – 1056	بانک ژن کرج	۴۸	سالاری	معاونت موسسه برنج
۲۱	KC – 901	بانک ژن کرج	۴۹	گیل ۳	معاونت موسسه برنج
۲۲	TN – 1026	بانک ژن کرج	۵۰	شاه پسند	معاونت موسسه برنج
۲۳	D5	معاونت موسسه برنج	۵۱	محمدی چپر سر	معاونت موسسه برنج
۲۴	TN – 859	بانک ژن کرج	۵۲	قصرالدشتی	معاونت موسسه برنج
۲۵	حمزه شادگان اهواز	معاونت موسسه برنج	۵۳	طارم محلی	معاونت موسسه برنج
۲۶	صدری محلی	معاونت موسسه برنج	۵۴	طارم پاکوتاه	معاونت موسسه برنج
۲۷	TN – 1378	بانک ژن کرج	۵۵	TN-465	بانک ژن کرج
۲۸	PUSABA- 834	معاونت موسسه برنج	۵۶	آبجی بوجی	معاونت موسسه برنج

پس از انجام آزمایش، وجود یا عدم وجود یک نوار بترتیب با اعداد یک و صفر برای هر ژنوتیپ در نظر گرفته شد. بدین ترتیب یک ماتریس ۱۲۹ × ۵۶ از اعداد صفر و یک تشکیل گردید بطوریکه ستون‌ها برای نوارها و سطرها هم به ژنوتیپ‌ها اختصاص یافت. به منظور گروه بندی ارقام بر اساس داده‌های رپیدازروشUPGMA و ضریب تشابه جاکارد (Cij=a/a+b+c) استفاده شد. در این فرمول a : تعداد حالت هایی که هر دو ژنوتیپ دارای یک نوار خاص هستند، b : تعداد حالتهایی که فرد i دارای یک نوار و فرد j فاقد آن باشد و c : تعداد حالتهایی که فرد i فاقد یک نوار و فرد j دارای آن باشد و از نرم آفزار SPSS9 استفاده شد.

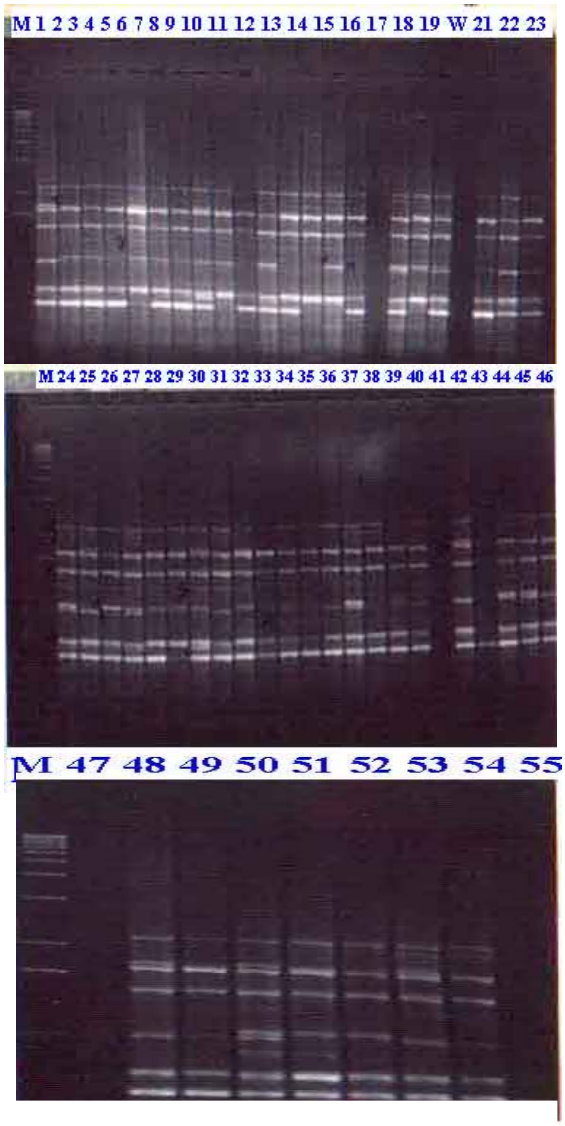
نتایج و بحث

از ۶۶ آغازگر تصادفی استفاده شده در این آزمایش، ۱۲ آغازگر چند شکل، قطعات تکثیر متفاوتی را در بین ۵۶ رقم برنج ایجاد کردند. تعداد نشانگرهای ایجاد شده در این آزمایش، ۱۲۹ نوار تکثیر شده تصادفی بود، بطوریکه میانگین تعداد نوار برای هر آغازگر چند شکل از ۷ الی ۱۰/۷۵ متغیر بوده است. اندازه محصولات تکثیر شده از ۰/۴۵ تا ۳ کیلو باز بود. ۱۰۴ نوار چند شکل و ۲۵ نوار یک شکل بدست آمد (نمودار۱). بطوریکه ۸۰/۶۲ درصد از کل نوارها چند شکل و ۱۹/۳۸ درصد آنها یک شکل بودند.

با مطالعه الگوی نوارهای آغازگرها (شکل ۱) مشاهده شد که بعضی از آغازگرها در ایجاد نوارهای چند شکل جهت شناسایی و طبقه‌بندی ارقام بهتر از سایر آغازگرها بودند آغازگرهایی همچون OPH-15 وOPH-07 اصلا نوار یک شکل نداشتند. بنابراین می‌توان در کارهای بعدی جهت طبقه بندی و ارزیابی تنوع ژنتیکی با توجه به الگوی نواری مطلوب‌شان از آنها استفاده کرد. مشابه همین مورد توسط ویرک و همکاران (۱۹۹۵) نیز گزارش شده است یعنی در کیت F اپرون، آغازگرهای ۳، ۶، ۱۳، ۱۴ و ۱۷ چند شکلی‌های مطلوبی را نسبت به سایر آغازگرها نشان دادند. همچنین در این آزمایش مشاهده شد که آغازگر OPA-02 در بین کلیه آغازگرهای استفاده شده دارای بیشترین تعداد نوار یک شکل بود (به تعداد ۵ عدد از تعداد کل ۹ نوار ایجاد شده).



نمودار ۱- تعداد نوارهای یک شکل و چند شکل تولید شده به وسیله آغازگرهای مختلف



شکل ۱- الگوی نوار ایجاد شده توسط اغازگر OPH-04، M مارکر وزنی (Kb Ladder) و W چاهک شاهد

جدول۴ - ماتریس درصد تشابه اقام برنج مطالعه شده

ردیف	ژنوتیپ	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56
1	دمسیاه	1	.51	.53	.52	.58	.58	.52	.63	.54	.54	.61	.61	.64	.61	.44	.54	.65	.57	.71	.55	.50	.67	.52	.58	.71	.64	.56	.54	.52	.63	.63	.47	.55	.60	.62	.64	.60	.51	.64	.61	.69	.53	.69	.62	.45	.46	.48	.57	.54	.51	.56	.53	.54	.66	.54	.59
2	IR28		1	.78	.81	.76	.79	.91	.61	.70	.78	.61	.72	.60	.65	.51	.71	.59	.50	.54	.58	.67	.53	.56	.54	.51	.47	.45	.58	.69	.56	.66	.57	.73	.60	.54	.54	.60	.56	.55	.58	.72	.63	.57	.54	.50	.54	.54	.56	.55	.53	.57	.54	.50	.54	.54	.55	.54
3	IR43			1	.79	.76	.81	.71	.61	.74	.70	.62	.70	.62	.60	.50	.74	.60	.60	.59	.60	.71	.57	.54	.60	.50	.51	.51	.63	.73	.61	.69	.75	.57	.61	.58	.57	.55	.57	.58	.59	.55	.55	.53	.55	.58	.46	.52	.53	.55	.56	.52	.58	.57	.53	.59	.60	.56	.51
4	IR58				1	.81	.82	.80	.65	.71	.78	.64	.73	.66	.66	.54	.82	.71	.52	.54	.59	.57	.52	.53	.59	.56	.51	.50	.62	.57	.60	.59	.71	.59	.61	.58	.60	.54	.55	.60	.60	.55	.57	.53	.55	.55	.52	.52	.58	.55	.57	.53	.55	.55	.50	.60	.60	.55	.53
5	IR30					1	.87	.78	.66	.70	.74	.68	.71	.69	.72	.51	.75	.63	.64	.61	.59	.67	.58	.59	.63	.71	.51	.62	.71	.73	.63	.61	.75	.59	.67	.58	.59	.57	.55	.57	.59	.57	.55	.55	.54	.58	.59	.75	.61	.68	.63	.71	.62	.51	.51	.55	.58	.58	.54
6	IR50						1	.83	.69	.73	.73	.66	.70	.68	.71	.53	.72	.64	.63	.61	.59	.68	.59	.60	.56	.50	.51	.61	.73	.64	.63	.63	.76	.60	.67	.62	.73	.65	.67	.60	.57	.57	.55	.54	.55	.52	.57	.59	.57	.55	.60	.63	.76	.60	.67	.64	.71	.61	.50	.46
7	امل ۲							1	.65	.71	.75	.61	.70	.61	.64	.54	.73	.62	.64	.58	.58	.70	.61	.60	.52	.48	.56	.60	.58	.63	.54	.56	.66	.63	.54	.62	.58	.57	.59	.59	.56	.54	.57	.52	.53	.54	.56	.57	.59	.57	.59	.60	.58	.63	.60	.62	.58	.56	.49
8	BA-370								1	.69	.62	.69	.64	.55	.64	.68	.64	.62	.66	.75	.63	.61	.64	.63	.60	.58	.56	.60	.57	.67	.56	.67	.63	.54	.61	.60	.62	.63	.66	.63	.59	.59	.56	.54	.57	.53	.55	.57	.60	.60	.56	.59	.57	.52	.53	.55	.60	.57	.52
9	338									1	.84	.69	.72	.68	.72	.54	.67	.64	.58	.63	.60	.72	.63	.64	.59	.57	.54	.63	.71	.68	.66	.78	.63	.61	.66	.54	.59	.59	.61	.59	.61	.59	.56	.59	.56	.54	.50	.52	.50	.54	.55	.60	.57	.57	.59	.59	.54	.67	.65
10	IR64										1	.69	.76	.70	.70	.53	.73	.66	.58	.58	.70	.58	.59	.64	.60	.53	.53	.57	.60	.70	.66	.70	.62	.64	.59	.61	.62	.63	.64	.63	.64	.61	.63	.61	.63	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61	.61
11	KC-349											1	.65	.68	.66	.46	.61	.66	.68	.69	.62	.63	.63	.61	.61	.61	.62	.64	.57	.51	.60	.61	.61	.61	.63	.63	.62	.58	.68	.71	.53	.68	.69	.64	.70	.61	.70	.61	.70	.61	.70	.61	.70	.61	.70	.61	.70	.61	.70
12	221												1	.69	.68	.64	.55	.64	.68	.64	.69	.62	.60	.61	.58	.56	.54	.60	.58	.65	.56	.60	.61	.58	.63	.71	.57	.64	.64	.59	.72	.64	.64	.61	.64	.61	.64	.61	.64	.61	.64	.61	.64	.61	.64	.61	.64	.61	.64
13	محلی تنکابن													1	.69	.59	.71	.67	.67	.68	.68	.57	.71	.63	.58	.61	.60	.61	.60	.56	.57	.60	.60	.64	.60	.62	.60	.56	.57	.61	.52	.62	.60	.56	.57	.60	.60	.60	.56	.64	.61	.61	.60	.57	.67	.60	.60	.56	.64	.61
14	صدری‌تنکابن														1	.50	.66	.66	.70	.60	.63	.55	.61	.53	.61	.57	.62	.61	.53	.57	.65	.63	.66	.63	.64	.72	.61	.54	.56	.48	.52	.59	.64	.75	.68	.69	.80	.62	.60	.56	.60	.62	.56	.60	.56	.60	.62	.56	.60	.56
15	بوفیکان															1	.58	.54	.53	.49	.57	.64	.49	.56	.48	.47	.53	.57	.64	.70	.52	.50	.51	.52	.55	.51	.50	.58	.52	.62	.53	.57	.48	.52	.54	.56	.64	.49	.57	.53	.54	.58	.61	.55	.57	.68	.69	.60	.62	.56	.60	.56
16	پلار																1	.65	.61	.56	.58	.71	.56	.62	.53	.47	.59	.64	.68	.60	.59	.70	.67	.60	.58	.54	.55	.50	.45	.48	.52	.54	.54	.57	.53	.49	.50	.51	.50	.48	.50	.50	.51	.47	.48	.46	.48	.50	.52	.50	.54
17	شالی بابل																	1	.64	.72	.59	.64	.57	.71	.58	.63	.71	.64	.65	.75	.66	.63	.70	.62	.57	.66	.75	.65	.64	.71	.57	.64	.64	.59	.72	.64	.67	.67	.68	.68	.59	.69	.69	.62	.69	.69	.62	.69	.69	.62
18	KC-166																		1	.67	.57	.61	.61	.60	.57	.62	.60	.56	.57	.60	.60	.60	.64	.69	.68	.75	.68	.69	.80	.62	.60	.60	.56	.64	.61	.61	.60	.57	.67	.60	.63	.66	.65	.50	.66	.66	.70	.60	.63	.66	.55	.51	.46
19	TN-689																			1	.60	.56	.60	.56	.54	.53	.61	.57	.70	.60	.60	.64	.69	.68	.69	.80	.62	.60	.60	.56	.60	.62	.56	.60	.56	.64	.49	.57	.53	.54	.58	.61	.65	.63	.61	.55	.54	.63	.60	.70	.66	.66	.59	.55
20	TN-1056																				1	.71	.58	.54	.51	.56	.53	.59	.56	.68	.54	.57	.52	.63	.71	.50	.60	.62	.70	.62	.74	.70	.61	.81	.71	.76	.79	.81	.78	.79	.81	.78	1	.51	.53	.52	.54	.55	.56	.51
21	KC-901																					1	.50	.67	.53	.56	.48	.45	.58	.69	.56	.66	.57	.73	.63	.61	.65	.47	.51	.51	.65	.60	.72	.61	.78	.70	.61	.91	.79	.76	.81	.78	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52
22	TN-1026																						1	.52	.58	.71	.64	.58	.54	.52	.63	.63	.47	.55	.63	.52	.54	.56	.64	.58	.71	.58	.54	.50	.59	.71	.51	.65	.60	.72	.61	.78	.70	.61	.91	.79	.76	.81	.78	1	.51	.47
23	D5																							1	.51	.56	.53	.59	.56	.68	.54	.57	.52	.63	.71	.50	.60	.62	.70	.62	.74	.70	.61	.81	.71	.76	.79	.81	.78	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52
24	TN-859																								1	.54	.52	.53	.59	.56	.60	.57	.71	.59	.59	.60	.60	.74	.54	.66	.66	.73	.64	.78	.71	.65	.80	.82	.81	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52
25	حمزه شادگان																									1	.71	.58	.58	.67	.59	.61	.64	.63	.75	.51	.72	.69	.71	.68	.74	.70	.66	.78	.87	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52
26	صدری محلی																										1	.51	.64	.63	.75	.51	.72	.69	.71	.68	.74	.70	.66	.78	.87	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
27	TN-1378																											1	.63	.64	.72	.53	.71	.66	.68	.66	.73	.73	.69	.83	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
28	Pusaba-834																												1	.65	.71	.61	.70	.61	.75	.71	.65	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
29	یوسن																													1	.66	.62	.64	.55	.64	.68	.64	.64	.61	.63	.75	.66	.62	.64	.55	.64	.68	.64	.69	.62	.69	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52
30	7911																														1	.84	.72	.54	.67	.64	.72	.68	.72	.69	.84	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
31	دلا																															1	.73	.53	.70	.70	.76	.69	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
32	زانگ فان ۱۱																																1	.58	.64	.64	.58	.62	.63	.66	.65	.58	.66	.65	.58	.64	.64	.58	.65	.58	.64	.58	.65	.58	.64	.58	.65	.58	.64
33	مهر																																	1	.61	.61	.60	.57	.67	.60	.62	.62	.60	.62	.60	.62	.60	.62	.60	.62	.60	.62	.60	.62	.60	.62	.60	.62	.60	.62
34	دمسرخ																																		1	.80	.74	.54	.70	.70	.76	.74	.80	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
35	رشتی																																			1	.81	.61	.73	.60	.70	.80	.81	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
36	حسنی																																				1	.56	.81	.89	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
37	قشنگه																																					1	.57	.71	.57	.78	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
38	میر طارم																																						1	.57	.63	.80	.63	.80	.57	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52	.53	.51	.59	.58	.57	.52
39	ندا																																							1	.63	.65	.77	.88	.66	.62	.77	.70	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52
40	حسن سرایی																																								1	.63	.72	.60	.66	.67	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57	.52
41	بجار																																									1	.74	.86	.65	.58	.74	.64	.82	.62	.81	.76	.68	.74	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57
42	زیره																																										1	.64	.69	.55	.55	.68	.56	.65	.55	.66	.71	.64	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57
43	دیلمانی																																											1	.67	.64	.61	.67	.65	.68	.63	.67	.82	1	.51	.53	.51	.59	.58	.57
44	خزر																																												1	.71	.72	.63	.61	.69	.65	.75	.65	.76	1	.51	.53	.51	.59	.58
45	سنگجو																																													1	.76	.74	.58	.55	.65	.61	.75	.63	1	.51	.53	.51	.59
46	حسن‌آتشگاه																																														1	.63	.55	.62	.58	.55	.56	.57	.60	1	.51	.53	.51
47	نعمت																																															1	.77	.88	.66	.62	.77	.70	1	.51	.53	.51
48	سالاری																																																1	.63	.72	.60	.66	.67	1	.51	.53	.51
49	گیل ۳																																																	1	.63	.72	.66	.76	1	.51	.53	.51
50	شاهپسند																																																		1	.63	.67	1	.51	.53	.51
51	محمدی‌چپرسر																																																			1	.63	1	.51	.53	.51
52	قصرالدشتی																																																				1	1	.51	.53	.51
53	طارم محلی																																																					1	.51	.53	.51
54	طارم پاکوتاه																																																						1	.51	.53
55	TN-465																																																							1	.51
56	ایچی بوجی																																																								1

جدول ۲ - فهرست آغازگرها وسایر مشخصات آنها

آغازگر	توالی
OPH-04	5′ - GGAAGTCGCC - 3′
OPH-07	5′ - CTGCATCGTG - 3′
OPH-15	5′ - AATGGCGCAG - 3′
OPH-19	5′ - GGGAGACATC - 3′
OPH-20	5′ - AACGGTGACC - 3′
OPE-20	5′ - CAGCGACAAG - 3′
OPI-07	5′ - TGGAGAGCAG - 3′
OPI-09	5′ - GTTTCGCTCC - 3′
OPB-01	5′ - TGCCGAGCTG -3′
OPA-02	5′ - AGTCAGCCAC - 3′
OPA-03	5′ - CAGCACCCAC - 3′
OPA-13	5′ - CTGACCAGCC - 3′

در مجموع از ۱۲ آغازگر در ۵۶ ژنوتیپ برنج، ۴۰۳۹ نوار تصادفی ایجاد شد. شکل ۱ الگوی نواری ایجاد شده توسط یکی از آغازگرهای استفاده شده را نشان می‌دهد (آغازگر OPH-04).

فن آوری رپید برای ارزیابی بذور برنج بانک ژن موسسه تحقیقات بین المللی برنج استفاده شده است. این مجموعه، تنوع زیستی مورد نیاز برای هر یک از گونه ها را دارا بوده و منابع با ارزشی را برای اصلاح گران گیاهی فراهم می کند. در مطالعه ویرک و همکاران (۱۹۹۵) بر روی این مجموعه، ۸۳ نوار تکرار پذیر بدست آمد که ۴۸ نوار چند شکل بودند.

تکرارپذیری رپید بارها مورد سوال بوده است علت این امر استفاده از آغازگرهای کوتاه و دمای پایین برای اتصال آغازگرها به دی. ان. آی الگو می باشد (۴۲- ۳۶ درجه سانتیگراد) که موجب تکثیر غیر اختصاصی و تصادفی برخی نقاط که دارای شباهت کمی با آغازگرها می باشد می گردد. برای حل مشکل تکرارپذیری رپید می توان به دو طریق عمل کرد:

۱- تکرار آزمایش و حذف باندهای تکرارناپذیز

۲- انجام فقط یک آزمایش و پذیرفتن درصدی از خطا

انتخاب آغازگرهای ۱۰ نوکلئوتیدی تصادفی، شرایط مناسب و صحیح برای رپید- پی. سی. آر این تکنیک را به عنوان ابزار مفید برای شناسایی واقعی نمونه ها و تجزیه و تحلیل تفاوت های ژنتیکی در ارقام در آورده است. با اینحال، این تکنیک خیلی حساس به کوچکترین تغییر در شرایط آزمایش می باشد. برای بدست آوردن نتایج قابل تکرار ضروری است شرایط آزمایش شدیدا کنترل شود (۹).

لذا به منظور تعیین تکرارپذیری این نشانگر به تکرار آزمایش اقدام گردید دی. ان.آهای مورد آزمایش در شرایط کاملا مشابه با آزمایش اصلی با ۱۲ آغازگر تکثیر گردید. تمام شرایط آزمایش از جمله انجام پی. سی. آر، تهیه ژل، رویت و عکسبرداری از ژلها مطابق با آزمایش اصلی بود. لازم به ذکر است که مقایسه باندها در مقایسه با مارکر وزنی وباندهای آزمایش اصلی انجام گرفت. در نهایت ۳۰۷ نوار در آزمایش اصلی و ۲۵۱ نوار در آزمایش تکرارپذیری بدست آمد. بطوریکه میزان تکرارپذیری۸۱/۵۷ درصد برآورد گردید (جدول ۳).

مطالعات دیگر بر روی ارقام برنج نشان داده است که از کل نشانگرهای تصادفی ایجاد شده توسط تکنیک رپید، ۸۳/۴ درصد از آنها چند شکل بوده و ۱۶/۶ درصد بقیه یک شکل بوده و تعداد نوار برای هر آغازگر ۲ تا ۱۱ بود که متوسط تعداد نوار برای هر آغازگر ۵/۵ بدست آمد (۳). در این مطالعه، متوسط نوارهای چند شکل برای هر آغازگر چند شکل ۸/۶۶ بدست آمد. این نتیجه در مقایسه با کار سایرین قابل ملاحظه می باشد بطوریکه کیا و همکاران (۱۹۹۶)، کو و همکاران (۱۹۹۴)، چو و همکاران (۱۹۹۵)، اقبال و همکاران (۱۹۹۷) متوسط تولید نوار چند شکل در آزمایشات خود را به ترتیب ۲/۷۳، ۴/۳۸، ۵/۳۰ و ۶/۳۴ نوار برای هر آغازگر اعلام کردند. همچنین زینلی‌نژاد (۱۳۷۸) ازتکنیک رپید برای بررسی تنوع ژنتیکی ۲۸ رقم برنج ایرانی استفاده کرد با استفاده از ۱۲ آغازگر چندشکل،۵۲ نوارچندشکل ایجاد و میانگین تولید نوار ۴/۳۳ برای هر آغازگر بدست آمد. تعداد نوار در نشانگر رپید بین ۱ تا ۲۰ گزارش شده است (۵). بنابراین نتایج بدست آمده در این آزمایش در مقایسه با آزمایشات دیگران نشان می دهد که ارقام برنج ایرانی از تنوع ژنتیکی بالایی برخودارند.

جدول ۳- مقادیر تکرارپذیری رپید برای آغازگرهای انفرادی

آغازگر	باندها در آزمایش اصلی	باندهادرآزمایش تکرارپذیری	درصد تکرارپذیری
OPH-15	۲۴	۱۶	۶۶/۶۶
OPH-20	۲۳	۱۷	۷۳/۹۱
OPH-07	۱۹	۱۶	۸۴/۲۱
OPH-04	۳۲	۳۰	۹۳/۷۵
OPE-20	۲۶	۲۳	۸۸/۴۶
OPI-07	۳۲	۲۲	۶۸/۷۵
OPA-03	۱۸	۱۷	۹۴/۴۴
OPI-09	۲۲	۱۶	۷۲/۷۲
OPA-13	۲۸	۲۶	۹۲/۸۸
OPH-19	۳۱	۲۴	۷۷/۴۱
OPB-01	۲۷	۲۰	۷۴/۰۷
OPA-02	۲۵	۲۴	۹۶
جمع نوارها	۳۰۷	۲۵۱	میانگین= ۸۱/۷۵

در این تحقیق برای گروه بندی ژنوتیپ ها و بررسی میزان تنوع ژنتیکی از تجزیه خوشه ای استفاده شد. گروه های مختلف ارقام بر اساس الگوی نوارها در فاصله ژنتیکی ۱۸، درنمودار۲ مشاهده می شوند:

گروه ۱ شامل :

زیر گروه اول- در این گروه کلیه ارقام خارجی مانند IR_{28}، IR_{43} ، IR_{30} ، IR_{50}، Dollar (آمریکا)، IR_{64} ، زانگ فان ۱۱ (چین) Pusaba-۸۳۴ قرار گرفتند. در این گروه همچنین ارقام آمل ـ۲، ۲۳۸، ۲۲۱ و ۷۹۱۱ قرار گرفتند. احتمالا این ارقام دارای بخشی از ژنوم ارقام خارجی بوده که از طریق سلکسیون و یا هیبریداسیون به ژرم پلاسم برنج ایرانی وارد شده است. مثلا ژنوتیپ آمل –۲، از طریق سلکسیون از رقم IR_{28} بدست آمده است و به شرایط اقلیمی ایران سازگارشده است بطوریکه تشابه ژنتیکی بالایی با ارقام خارجی (IR_{28}) دارد (میزان تشابه ۹۱ درصد، جدول ۳).

زیر گروه دوم- صدری تنکابنی، KC- ۱۶۶،BA_ ۳۷۰ و محلی تنکابنی.

زیرگروه سوم- رقم یوسن با منشاء تایوان قرار گرفت که یک رقم خارجی بوده و ریخته ارثی آن با ارقام ایرانی فرق می کند.

گروه ۲ – دراین گروه رقم D_5 قرار گرفت. در بررسی شجره ای این رقم مشخص شد که این رقم از تلاقی سنگ طارم با RNR۱۴۴۶ بدست آمده است.

گروه ۳ – اکثر ارقام مطالعه شده در این تحقیق در این گروه قرار گرفتند. ارقامی که در استان های شمالی کشور کشت می شوند به همراه ارقامی دیگر از سایر استانها مثل TN-۱۳۷۸ (دوئی زنجان)، TN – ۶۸۹ (کرمان)، حمزه شادگان (اهواز) در این گروه قرار گرفتند. این نشان می دهد که تشابه ژنتیکی نزدیکی با هم دارند یا اینکه چنانچه بیش از ۱۲ آغازگر استفاده می شد منجر به بهتر شدن وضعیت گروه بندی این ارقام می گردید. در تایید این موضوع مک گیل (۱۹۹۵) با استفاده از ۱۱ آغازگر ۱۳۴ واریته برنج و ۲ گونه وحشی را به دو گروه ایندیکا و ژاپنیکا تقسیم کردند همچنان نشان دادند که برای آشکار کردن تنوع و گروه بندی بهتر در ارقام خویشاوند به تعداد زیادی آغازگر نیاز هست.

گروه ۴ - در این گروه KC-۳۴۹ (شوشتر)، TN-۱۰۵۶ (مازندران) و رقم آبجی بوجی از مازندران قرار گرفتند.

گروه ۵ - در این گروه ارقام بجار، ندا، نعمت و مهر قرار گرفتند که از ارقام اصلاح شده می باشند.

گروه ۶ و گروه ۷ - در هر یک از این گروه ها به ترتیب رقم TN-۴۶۵ و رقم بوفیکان قرار گرفت.

هدف از تجزیه کلاستر، گروه بندی افراد مورد مطالعه بر اساس تشابه یا تفاوت هایشان می باشد. افرادی که در یک گروه قرار می گیرند از نظر ژنتیکی مشابه بوده و افرادی که در دو طرف دندروگرام گروه بندی قرار می گیرند از نظر مولکولی دارای اختلاف و تفاوت زیادی هستند با توجه به اینکه میزان تشابه از بالا به پایین کلاستر کاهش می یابد لذا ارقام دورتر با داشتن چندشکلی بالا تفاوت بیشتری از نظر مولکولی خواهند داشت واز طرف دیگر امکان دورگ گیری بین ارقام با بیشترین تفاوت ژنتیکی، امکان ایجاد هتروزیس بیشتر و یا امکان انتقال صفات نادر خواهد داشت. بنابراین انجام تلاقی بین ارقام والدینی دورتر کارایی بیشتری خواهد داشت. لذا بر اساس اطلاعات حاصل از کلاستر داده های نشانگر رپید و میزان تشابه آنها بر اساس جدول ماتریس تشابه، تلاقی بین افراد موجود در یک گروه بهتراست صورت نگیرد چرا که شباهت بیشتری با هم

دارند. بنابراین جهت استفاده از تنوع موجود، مثلا می توان از ارقامی که درکلاس های ۱ و ۵ ، ۱ و ۶ و یا سایر کلاس ها قرار گرفته اند با توجه به خصوصیات زراعی و مرفولوژیکی مطلوب آنها در برنامه های دورگ گیری و غیره استفاده نمود. همچنین یکنواختی ژنتیکی در گیاهان زراعی می تواند نامطلوب باشد و می توان آسیب پذیری محصولات به استرس های محیطی و اپیدمی بیماریها را به همراه داشته باشد. بنابراین در انتخاب والدین برای وارد کردن صفات جدید، وجود تنوع ژنتیکی مطلوب در برنج مورد نیاز است. به طوریکه تنوع در ارقام مورد مطالعه قابل ملاحظه بوده حداکثر تشابه بین آمل -۲ با IR_{28} (۹۱ درصد) و حداقل تشابه بین دمسیاه و بوفیکان (۴۴ درصد) بدست آمد. اطلاعات بدست آمده از این بررسی نشان داد که تنوع مطلوبی در بین ارقام برنج ایرانی وجود دارد و همچنین نشان داد که نشانگر رپید می تواند به عنوان یک ابزار مفید در بررسی تنوع ژنتیک در ارقام برنج مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

از کلیه کسانی که در اجرا و تدوین این تحقیق همکاری کرده اند خصوصا مسئولان محترم آزمایشگاه مارکر موسسه بیوتکنولوژی کشاورزی (کرج)، موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت)، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ماکو، آقای فرشاد رودبارکلاری و سرکار خانم صادقی تشکر وقدردانی بعمل می‌آید.

مراجع مورد استفاده EFERENCES

۱. زینلی نژاد، خ. ۱۳۷۸. مطالعه تنوع ژنتیکی بخشی از ژرم پلاسم برنج ایرانی بر اساس صفات مرفولوژیک و نشانگر (RAPD). پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه اصفهان.

2. Cho, Y.C., T.Y.Chang, Y.H.Park and H.S.Suh.1995. Genetic polymorphisms and phylogenetic relationships of Korean Red Rice (weedy Rice in *Oryza sativa* L.) based on Randomly Amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Korean J. of Breeding, Vol. 27:86-93.
3. Cho, Y.C., Y.S. Shing, S.N. Ahn, G.B. Gregorio, K.H. Kang, D. Brar and H.P.Moon. 1999. DNA Fingerprinting of Rice cultivars using AFLP and RAPD markers. Korean J.Crop Sci. Vol.44 (1): 26-31
4. Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hick. 1983. A plant DNA minipreparation. Plant Mol. Biol. Rep 1:19-21.
5. Edwards, K.J., .1998. Randomly amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in:Karp, A., Isaac, P.G. And Ingram, D. S (eds), Molecular tools for Screening biodiverstiy. Chapman and Hall, 171-175.
6. Fukuoka, S., Hosaka, K and O. Kamijima. 1992. Use of Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) for identification of rice accessions. Jap. J. Genet. Vol. 67:243-252.
7. Fuentes, J. L., F. Escobar, A. Alvarez, G. Gallego, M. Cduque, M. Ferrer, J. Enrrique and J. M. Tohme. (1999).Analysis of genetic diversity in cuban rice varieties using isozyme, RAPD and AFLP marker. Euphytica, Vol.109: 107-115.
8. Ghareyazie, B., N. Huange, G. Second, J. Bennett and G.S. Khush. 1995. Classification of rice germplasm. I: Analysis using ALP and PCR-based RFLP.Theor. Appl. Genet, Vol. 91:218-227.
9. Ko, H.L., D.C. Cowan, R.J. Henry, G.C. Graham, A. B. Blakeney and L.G. Lewin. 1994. Random Amplified polymorphic DNA analysis of Australian rice (*Oryza sativa L.*) Varieties. Euphytica, Vol. 80:179-189.
10. Iqbal, M.J., N. Aziz, N.A. Saeed and Y. Zafarm. 1997. Genetic diversity evaluation of some elite cotton varieties by RAPD analysis. Theor. Appl. Genet, Vol. 94: pp. 139-144.
11. Mackill, D.J.1995. Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers.Crop Sci. Vol. 35: 889-894
12. Parsons, B. J. H. J. Newbury, M. T. Jacson and B. V. Ford-Lloyd. (1997). Contrasting genetic divesity relationships are revealed in rice (*Oryza sativa L.*) using different marker types. Molecular breeding. Vol. 3: 115-125.
13. Saiki, K., S. Scarf, F. Faloona, K. B. mullis, G. T. Horn, H. A. Elrich, N. Arnheim. 1985. Enzymatic amplification of betaglobin genomic sequences and restriction – Site analysis for diagnosis of Sickle – Cell Anemia. Science, Vol. 230:1350- 1354.
14. Smith, J.S.C., O.S.Smith. 1992. Fingerprinting crop varieties. Adv. Agron., Vol. 47:140-149.

15. Virk, P.S., B.V. Ford –Lloyd, M.T. Jackson, H.j. Newbury. 1995.Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. Heredity, Vol. 74:170-179.
16. Williams, J. G. K., R. K. Anne, J. Antoni. and V.T. Scott. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research,Vol. 18:5631-6535.
17. Xiao, J., J. Li, L. Yuan, S.R . Mc Couch. 1996.Genetic diversity and its relation ship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR – based markers. Theor. Appl. Genet., Vol. 92 : 637-643.

Classification of Some Iranian Rice Germplasms by Use of RAPD Marker

R. AGHAZADE GHOLAKI[1], B. GHAREIAZI[2], GH. A. NEMATZADEH[3] AND N. A. BABAEIAN[4]
1, 3, 4, Former Graduate Student and Associate Professors, Faculty of Agriculture, University of Mazandaran, 3, Scientific Member, Seed and Plant Improvement Research Institute
Accepted Oct., 30, 2002

SUMMARY

Fifty-six rice genotypes were investigated using RAPD marker (Random Amplified Polymorphic DNA). In the experiment 66 primers were used. The results indicated that 12 Random primers produce suitable polymorphism. 129 random markers were shown in which 104 were polymorphic (80.62%) while 25 were monomorphic (19.38%). The size of generated bands was from 0.45 to 3 Kb. The average band number for each polymorphic primer was estimated from 7 to 10.75. Genotype clustering was done using UPGMA method and Jacard similarity coeffient. The investigated population (genotypes) stood in 7 groups. Similarity among varities varied from 44 to 91%. Minimum similarity estimated was between Boofican and Domsiah varities while maximum belonged to IR28 and Amol-2. The results showed that there exists enough suitable diversity among varities that can be used for different purposes in rice breeding programs. Furthermore the results indicated that RAPD marker is a suitable technique for classification as well as investication in rice varities .

Key words:Rice,Molecular markers, Classification, Genetic diversity, RAPD marker