"مجله علوم زراعی ایران"
جلد هیجدهم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵

ارزیابی فراوانی آللی و تجزیه ارتباطی نشانگرهای ریزماهواره با برخی صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت در ارقام برنج (*Oryza sativa* L.)

Evaluation of allelic frequency and association analysis of microsatellite markers with some traits related to pre-harvest sprouting in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars

سهیلا نیک‌زاده طالبی[۱]، علی اعلمی[۲]، مسعود اصفهانی[۳] و علی‌اکبر عبادی[۴]

چکیده

نیک زاده طالبی، س.، ع. اعلمی، م. اصفهانی و ع.ا. عبادی. ۱۳۹۵. ارزیابی فراوانی آللی و تجزیه ارتباطی نشانگرهای ریزماهواره با برخی صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت در ارقام برنج (*Oryza sativa* L.). **مجله علوم زراعی ایران. ۱۸(۱): ۶۲-۴۹.**

به منظور ارزیابی فراوانی آللی و تجزیه ارتباطی نشانگرهای ریز ماهواره با برخی از صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت، تعداد ۳٤ رقم برنج بومی و اصلاح شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در بهار سال ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان کشت و صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت در آنها اندازه‌گیری شد. همچنین الگوی نوارهای ۲۰ نشانگر ریزماهواره تعیین و ارتباط آنها با صفات اندازه‌گیری شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های برنج مورد بررسی برای کلیه صفات دارای اختلاف معنی‌داری بودند که حاکی از وجود تنوع ژنتیکی برای صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت در این ارقام می‌باشد. در این آزمایش، میانگین تعداد آلل موثر، شاخص شانون و میزان اطلاعات چند شکل برای نشانگرهای مورد بررسی به ترتیب ۲/۹۵، ۱/۱٤ و ۰/۵۹ بدست آمد. در تجزیه ارتباط بین نشانگرها و صفات، بالاترین ضریب تبیین با مقدار ٤۷ درصد متعلق به چهار نشانگر RM282، RM220، RM447 و RM320 برای صفت شکل دانه بود. برای صفات درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت و درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت بر حسب تعداد دانه پر نیز یک نشانگر مشترک RM525 به ترتیب ۹ و ۱٤ درصد از تغییرات این دو صفت را توجیه کرد. برای صفات فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه و میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز نیز به طور مشترک نشانگرهای RM525، RM447 و RM124 به ترتیب ۳۱ و ۲۸ درصد ارتباط را به خود اختصاص دادند. با توجه به ارتباط بالای این نشانگرها، پویش در نواحی کروموزومی مجاور آنها می‌تواند در شناسایی ژن‌های کنترل کننده صفت جوانه‌زنی پیش از برداشت در ژنوتیپ‌های برنج مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: برنج، آنزیم آلفا آمیلاز، جوانه‌زنی پیش از برداشت و نشانگرهای مولکولی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۸ این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان
۲- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: ali_aalami@guilan.ac.ir)
۳- استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان
۴- استادیار پژوهش موسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

مقدمه

برنج پس از گندم مهم‌ترین ماده غذایی دنیا است (Hussain *et al.*, 2008)، بطوریکه سالیانه ۳۵ تا ۷۰ درصد از کالری مورد نیاز سه میلیارد نفر از جمعیت جهان از طریق برنج تأمین می‌شود، ضمن اینکه برای تأمین نیاز غذایی جمعیت جهان تا سال ۲۰۲۵ لازم است تولید جهانی برنج جهان ۶۰ درصد افزایش یابد (Yang and Zhang, 2010). امروزه رشد سریع جمعیت و به تحلیل رفتن منابع پایه و حیاتی و همچنین محدودیت در منابع تولید باعث شده تا محققان اصلاح نباتات در جهت تولید ارقام پر محصول و با کیفیت مرغوب و سازگار با محیط‌های مختلف تلاش بیشتری کنند. اگرچه برنامه‌های به‌نژادی گیاهان زراعی با گزینش ژنوتیپ‌های برخوردار از قابلیت جوانه‌زنی سریع و فاقد خواب همراه بوده است، اما این ویژگی ممکن است منجر به پدیده جوانه‌زنی زود هنگام بذرها در مرحله پس از رسیدگی فیزیولوژیک و قبل از برداشت در انواع غلات شود که پدیده‌ای نامطلوب در فرآیند برداشت محسوب می‌شود. پدیده جوانه‌زنی بذر روی گیاه مادری در مزرعه قبل از برداشت را جوانه‌زنی پیش از برداشت (Pre-harvest sprouting) می‌نامند (Mahbub *et al.*, 2005؛ Nourinia, 2002). جوانه‌زنی یک فرایند پیچیده فیزیولوژیکی است که توسط تعداد زیادی از پیام‌های رشدی گیاهی و عوامل خارجی کنترل می‌شود، جوانه‌زنی و رشد گیاهچه هنگامی شروع می‌شود که خواب بذر شکسته شده و بذر آب کافی جذب کرده باشد، سپس ترکیباتی نظیر جیبرلین از جنین آزاد و از طریق سپرچه به آندوسپرم تراوش می‌شود. با رسیدن این مواد به لایه آلورون، آنزیم آلفا آمیلاز و سایر آنزیم‌های تجزیه‌کننده ذخایر بذر از سلول‌های آلورون تراوش می‌شوند. این آنزیم‌ها نشاسته، پروتئین‌ها و چربی‌های ذخیره شده در آندوسپرم را تجزیه می‌کنند. نشاسته تجزیه شده به قندهای ساده و ساکارز تبدیل می‌شود. ساکارز به ساقه‌چه و ریشه‌چه منتقل و پس از تبدیل به گلوکز جهت رشد و ساختن دیواره سلولی به مصرف تنفس می‌رسد. (Esfahani *et al.*, 2009). جوانه‌زنی پیش از برداشت در مناطقی که دارای شرایط آب و هوایی مرطوب با بارندگی مداوم، بخصوص در فصل برداشت، باشند یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی می‌باشد که هرساله باعث وارد شدن خسارات زیادی به کشاورزان می‌شود (Gao *et al.*, 2013; Sasaki *et al.*, 2013). نتایج تحقیقات نشان داده است که خواب بذر و جوانه‌زنی پیش از برداشت، تحت تأثیر شرایط محیط، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط می‌باشد (Gao *et al.*, 2013). در عین حال عوامل متعددی در میزان خواب بذر و جوانه‌زنی پیش از برداشت آن نقش دارند. محتوای آبسزیک اسید، مقاومت مکانیکی پوشش بذر، مورفولوژی و فیزیولوژی جنین بذر، نارس بودن جنین و سیستم‌های متابولیکی فعال بذر از جمله این عوامل هستند (Bentsink *et al.*, 2007). مشخص شده است که جوانه‌زنی پیش از برداشت ارتباط نزدیکی با خواب بذر دارد (Kulwal *et al.*, 2010). به همین دلیل خواب بذر با ایجاد مقاومت به جوانه‌زنی پیش از برداشت در مناطق مرطوب، صفتی است که در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه قرار گرفته است (Sasaki *et al.*, 2013). تعیین درجه تحمل ارقام قبل از معرفی در مناطق مرطوب، بررسی نقش مواد ژنتیکی در برنامه‌های تحقیقاتی به‌نژادی و در دسترس بودن ارقام متحمل از جمله مواردی است که می‌تواند در کاهش جوانه‌زنی پیش از برداشت موثر باشد (Nourinia, 2002).

پدیده جوانه‌زنی پیش از برداشت به دلیل بارندگی‌های انتهای فصل رشد، بخصوص در استان‌های شمالی کشور هرساله باعث وارد شدن خسارت قابل توجهی به کشاورزان می‌شود. بر اساس گزارش صندوق بیمه محصولات کشاورزی استان گیلان در سال ۱۳۹۲ میزان خسارت وارده به مزارع برنج،

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

۷۴/۵ درصد از سطوح بیمه شده بوده و در حدود ۱۶۲ میلیارد ریال غرامت به کشاورزان پرداخت گردید (اطلاعات اخذ شده از صندوق بیمه محصولات کشاورزی استان گیلان). علیرغم اهمیت این صفت در گیاه برنج، متاسفانه گزارش مدون و کاملی در خصوص ارزیابی ژنتیکی آن در کشور بدست نیامد. بر این اساس، هدف از این تحقیق ارزیابی ژنوتیپ‌های برنج، بخصوص ارقام بومی و اصلاح شده منطقه شمال کشور از نظر میزان جوانه‌زنی پیش از برداشت و ارزیابی صفات مرتبط با آن و سپس شناسایی ارتباط بین نشانگرهای مولکولی ریزماهواره با این صفات بوده است تا پس از آزمایش‌های تکمیلی و تایید نتایج آن، به عنوان نشانگرهای قابل استفاده برای گزینش مقاومت به این صفت، در تحقیقات به‌نژادی برنج مورد استفاده قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این تحقیق سه گروه از ارقام برنج شامل ۲۱ رقم بومی، نه رقم اصلاح شده و چهار رقم خارجی بود (جدول ۱). بذر ارقام مورد استفاده از مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) تهیه شده و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار در بهار ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان کشت شدند. ارقام مورد مطالعه به گونه‌ای انتخاب شدند که تنوع لازم از نظر خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک را داشته باشند. صفات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده شامل درصد باروری خوشه، ارتفاع بوته، تعداد پنجه موثر، فراوانی دانه در طول خوشه، فراوانی دانه پر و فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه، وزن هکتولیتر، وزن هزار دانه و ضخامت لما و پالئا بر اساس دستورالعمل ارزیابی استاندارد صفات (Standard Evaluation System; SES) ثبت شدند (IRRI, 2002). جهت ارزیابی نسبت طول به عرض دانه و نسبت ضخامت به عرض دانه از هر خوشه تعداد ۲۰ دانه به‌طور تصادفی انتخاب و سه بعد اصلی شامل طول، عرض و ضخامت آن‌ها با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی وزن تک دانه و محاسبه وزن حجمی (چگالی) دانه (میلی‌گرم در میلی‌متر مکعب) نیز پس از توزین دو نمونه ۱۰۰ عددی از محصول هر کرت، میانگین وزن نمونه‌ها به عنوان وزن تک دانه هر کرت در نظر گرفته شد.

رابطه (۱) $$\text{وزن حجمی دانه} = \frac{\text{وزن دانه}}{\text{حجم دانه}}$$

حجم دانه با استفاده از رابطه ۲ استفاده شد که در آن L، T و W به‌ترتیب طول، عرض و ضخامت دانه برحسب میلی‌متر می‌باشند (Jain and Bal, 1997).

رابطه (۲) $$V=0.25[(\frac{\pi}{2})\ L\ (W+T)]^2$$

حجم خوشه مستقیماً از روی جابجا شدن آب در ظرف مدرج با وارد کردن خوشه به داخل آن و جابجایی سطح آب در داخل ظرف محاسبه شد. محتوای پروتئین دانه به روش برادفورد (Bradford, 1976)، میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به روش بیکر به نقل از دهقانپور و همکاران (Dehghanpour *et al*., 2011)، درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت (در شرایط زنده) با استفاده از روش محبوب و همکاران (Mahbub *et al*., 2005) در مزرعه اندازه‌گیری شد که نسبت به روش آزمایشگاهی از دقت بیشتری برخوردار است. برای این کار تعداد پنج بوته از هر رقم در هر تکرار در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک به صورت تصادفی انتخاب و ساقه اصلی به آرامی خم شده و خوشه آن به مدت ۲۴ ساعت در بطری حاوی آب غوطه‌ور گردید. سپس کل خوشه جهت ایجاد و حفظ رطوبت، با پوشش پلاستیکی و نخ پیچانده شده و تا شش روز هر روز یک‌بار پلاستیک‌ها باز و کل خوشه و پوشش مربوطه با افشاندن آب کاملاً خیسانده شدند. پس از روز ششم (در مجموع هفت روز) خوشه‌ها برداشت شده و تعداد بذرها به تفکیک جوانه‌زده و جوانه نزده و تعداد بذرهای پر هر خوشه

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

شمارش شدند. سپس درصد بذرهای جوانه‌زده محاسبه شد. کلیه صفات با نمونه برداری از پنج بوته به طور تصادفی در هر کرت، اندازه‌گیری و ثبت شد.

جهت استخراج DNA از برگ‌های جوان گیاهچه‌های ۴۵ روزه ارقام نمونه تهیه شد. استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Saghai-Maroof *et al*., 1984) انجام و کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و اسپکتروفتومتری ارزیابی شد. تکثیر DNA ژنومی با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با دستگاه ترموسایکلر (Gen Amp, USA) انجام شد.

مخلوط واکنش در حجم نهائی ۱۰ میکرولیتر برای هر نمونه، شامل بافر PCR، ۲/۴ میکرومولار $MgCl_2$، ۰/۶ میلی مولار dNTPs، ۰/۰۷۵ واحد بر میکرولیتر آنزیم تک پلی‌مراز و ۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر DNA ژنومی انجام شد. چرخه حرارتی شامل چهار دقیقه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ چرخه به‌صورت ۳۰ ثانیه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه مرحله اتصال آغازگر به DNA الگو در دمای ۵۵ تا ۶۷ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت بسط آغازگر بود. به‌منظور حذف نوارهای شبه ریزماهواره و جلوگیری از اتصال غیر تخصصی آغازگرها، ۱۰ چرخه به‌صورت دمای کاهشی طبق روش دان و همکاران (Don *et al*., 1991) برنامه‌ریزی شد. با بررسی منابع (Gao *et al*., 2008; Guo *et al*., 2004; Xie *et al*., 2011) و استفاده از پایگاه اطلاعات ژنتیکی گرامینه (http://www.gramene.org) تعداد ۲۰ جفت آغازگر ریزماهواره که با صفت جوانه‌زنی و خواب بذر مرتبط بودند، انتخاب شدند (جدول ۲). فرآورده‌های PCR روی ژل پلی اکریل آمید ۱۰ درصد از هم تفکیک و سپس با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و با دستگاه ژل داک (BioRad. USA) عکس‌برداری شدند.

میزان چندشکلی نشانگرها (PIC) برای کلیه ارقام برنج با استفاده از رابطه ۳ بدست آمد (Botstein *et al*., 1980).

رابطه (۳) $PIC=1-\sum_{i=1}^{n} p_i^2-\sum_{i=1}^{n-1}\sum_{j=i+1}^{n} 2p_i^2p_j^2$

در این رابطه P_i و P_j نشان‌دهنده فراوانی آلل i و j در جمعیت هستند. PIC شاخصی است که بوسیله آن می‌توان به ارزش یک نشانگر برای نشان دادن چند شکلی درون جمعیت پی برد.

تعداد آلل مؤثر با استفاده از رابطه ۴ بدست آمد (Zhu *et al*., 1998). i فراوانی آلل iام در یک مکان ژنی است.

رابطه (۴) $Ne=\frac{1}{\sum_{i=1}^{n} p_i^2}$

شاخص شانون یکی از چندین شاخص تنوع ژنی می‌باشد که برای ارزیابی گوناگونی و تنوع ژنتیکی درون جمعیت به‌کار می‌رود و با استفاده از رابطه ۵ بدست آمد (Shanon, 1984). P_i فراوانی آلل iام و k تعدادکل آلل‌ها می‌باشد.

رابطه (۵) $H=-\sum_{i}^{k} p_i \ln p_i$

به منظور محاسبه شاخص‌های تنوع از نرم‌افزار POPGENE ver 1.32 (Yeh and Boyle, 1997) و تعیین ارتباط بین نشانگرهای مورد استفاده و صفات اندازه‌گیری شده از روش رگرسیون گام به گام و نرم افزار SPSS ver16 استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل توصیفی خصوصیات مورفولوژیک و بیوشیمیایی دانه در ارقام برنج مورد بررسی، شامل میانگین، واریانس، دامنه تغییرات، اشتباه معیار و ضریب تغییرات کلیه صفات محاسبه شدند (جدول۳). نتایج نشان داد که ارقام برنج مورد مطالعه از نظر صفت درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت دارای میانگین ۱۸/۷۳ درصد با اشتباه معیار ۱/۵۶ درصد بودند. ضریب تغییرات برای این صفت ۶۸/۷۹ درصد بود که

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

جدول ۱- نام و مشخصات ارقام برنج مورد بررسی

Table 1. Name and pedigree of rice cultivars used in this experiment

نام رقم Name	منشأ Origin	نام رقم Name	منشأ Origin
رشتی سرد Rashty Sard	ایران- گیلان Iran-Guilan	غریب سیاه‌ریحانی Gharibsiahrayhani	ایران- گیلان Iran-Guilan
طارم پاکوتاه Tarom pakotah	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	حسن سرایی Hasansaraee	ایران- گیلان Iran-Guilan
دم‌سیاه Domsia	ایران- گیلان Iran-Guilan	دم‌سفید Domsefid	ایران- گیلان Iran-Guilan
شاه‌پسند Shahpasand	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	غریب Gharib	ایران- گیلان Iran-Guilan
محمدی‌چپرسر Mohamadi chaparsar	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	دشت Dasht	IR24/آمل۱ Amol1/IR24
حسنی Hasani	ایران- گیلان Iran-Guilan	بجار Bejar	IR28/دم‌سیاه Domsia/IR28/IR28
قصرالدشتی Ghasordashti	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	آمل۱ Amol1	تاچونگ/طارم فیروزکوه Taichong/Tarom phirozkoh
دم سرخ Domsorkh	ایران- گیلان Iran-Guilan	درفک Dorfak	سپیدرود/سالاری Salari/Sepidrood
طارم منطقه Tarom mantagheh	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	سپیدرود Sepidrood	IR28/صدری Sadri/IR28
شاه‌پسند مازندران Shapasand Mazadran	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	کادوس Kadoos	IR64669-153-2-3 IR64669-153-2-3
طارم امیری Tarom Amiry	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	صالح Saleh	IR39385-20-1-2-1-2/خزر Khazar/ IR39385-20-1-2-1-2
صدری Sadri	ایران- گیلان Iran-Guilan	نعمت Nemat	آمل۳/سنگ طارم Amol3/Sang Tarom
دم زرد Dom Zard	ایران- گیلان Iran-Guilan	ندا Neda	حسن سرائی/ سنگ طارم/آمل۳ Amol3/Sang Tarom/Hasansaraee
دیلمانی Daylamani	ایران - مازندران Iran-Mazandzran	آمل۳ Amol3	وارداتی Introduction
بینام Binam	ایران- گیلان Iran-Guilan	IR28	رقم وارداتی Introduction
سالاری Salari	ایران- گیلان Iran-Guilan	IR50	رقم وارداتی Introduction
هاشمی Hashemi	ایران- گیلان Iran-Guilan	IR60	رقم وارداتی Introduction

جدول ۲- نام و مشخصات آغازگرهای استفاده شده در این تحقیق

Table 2. Names and characteristics of SSR markers used in this experiment

نشانگر SSR Marker	دمای اتصال Annealing temperature (°C)	شماره کروموزوم Chromosome number	اندازه موتیف Size of Motif	منبع Reference
RM488	55	1	177	Xie *et a*l., 2011
RM528	55	6	232	www.gramene.org
RM124	67	4	271	www.gramene.org
RM7	55	3	180	www.gramene.org
RM11	55	7	140	www.gramene.org
RM104	61	1	222	www.gramene.org
RM164	55	5	246	Guo *et a*l., 2004
RM220	55	1	127	www.gramene.org
RM247	55	12	131	www.gramene.org
RM252	55	4	216	www.gramene.org
RM282	55	3	136	www.gramene.org
RM309	55	12	169	www.gramene.org
RM315	55	1	133	Xie *et al*., 2011
RM320	55	7	167	www.gramene.org
RM447	55	8	111	Gao *et al*., 2008
RM481	55	7	169	www.gramene.org
RM519	55	12	122	www.gramene.org
RM525	55	2	131	www.gramene.org
RM549	55	6	148	www.gramene.org
RM128	55	1	157	Xie *et al*., 2011

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

نشان‌دهنده وجود تنوع بالا بین ارقام مورد مطالعه از نظر این صفت می‌باشد (جدول۳). میانگین درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت بر اساس دانه پر برابر ۲۱/۹۱ درصد با اشتباه معیار ۱/۸۹ درصد و دامنه تغییرات آن برابر ۶۹/۵۷ درصد بود. رقم درفک با ۷۱/۳۴ درصد بیشترین جوانه‌زنی و رقم دم‌سفید با ۱/۷۷ درصد کمترین درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت را به خود اختصاص دادند.

میانگین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز ۰/۲۷ میکرومول گلوکز آزاد شده با دامنه تغییرات ۰/۸۰ میکرومول گلوکز آزاد شده و حداقل مقدار آن (۰/۰۹) متعلق به رقم دم‌سفید و حداکثر مقدار آن (۰/۸۹) مربوط به رقم درفک بود که به ترتیب کمترین و بیشترین میزان جوانه‌زنی پیش از برداشت را نیز داشتند (جدول۳).

میانگین و اشتباه معیار، ضخامت لما و پالئا در ارقام برنج مورد بررسی به ترتیب ۰/۰۰۵ ± ۰/۱۷ و ۰/۰۰۵± ۰/۲ میلی‌متر بود (جدول ۳) پوسته بذر یکی از عوامل موثر بر خواب القائی در بذر است (Sarmadnia, 1996).

نتایج فوق تنوع قابل توجهی را برای جوانه‌زنی پیش از برداشت و صفات مرتبط با آن در ارقام برنج نشان داد که این موضوع احتمال موفقیت در یافتن نشانگرهای مرتبط را افزایش می‌دهد. در همین راستا تامسون و همکاران (Thomson *et al.*, 2007) با بررسی تنوع ژنتیکی ۳۳۰ رقم محلی و اصلاح شده برنج با استفاده از ۳۰ نشانگر ریزماهواره اظهار داشتند که ژرم‌پلاسم مورد مطالعه آنها به دلیل دارا بودن سطح بالایی از تنوع، می‌تواند به عنوان یک منبع با ارزش برای مطالعات بعدی از جمله تجزیه ارتباطی، توسط سایر به‌نژادگران مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که ارقام برنج مورد بررسی از نظر کلیه خصوصیات مورفولوژیک و بیوشیمیایی دانه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بودند (جدول تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها ارائه نشده است) که این موضوع نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه در ارقام مورد بررسی است. مقایسه میانگین صفات در ارقام مورد ارزیابی نشان داد که رقم بومی دم‌سفید از لحاظ صفت جوانه‌زنی پیش از برداشت، فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه و میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به ترتیب با مقادیر ۱/۴۹ درصد، ۰/۰۶ و ۰/۰۹ میکرومول گلوکز آزاد شده، کمترین مقدار و رقم اصلاح شده درفک از لحاظ صفات ذکر شده به ترتیب با مقادیر ۶۳/۲۲ درصد، ۳/۳۱ و ۰/۸۹ میکرومول گلوکز آزاد شده، بیشترین مقدار را داشتند. به طور کلی ارقام بومی در مقایسه با ارقام اصلاح شده و وارداتی با دارا بودن حداکثر میزان صفات مطلوب مانند درصد باروری خوشه و فراوانی دانه پر در طول خوشه و همچنین دارا بودن حداقل میزان جوانه‌زنی پیش از برداشت، از وضعیت بهتری برخوردار بودند. بطور کلی ارقام اصلاح شده در مقایسه با ارقام بومی، به دلیل فشار انتخاب جهت کاهش دوره خواب بذر از حساسیت بیشتری برای جوانه پیش از برداشت برخوردار هستند (Gualano and Bench – Arnold. 2009).

تعداد آلل موثر نشان‌دهنده حضور تعداد آلل‌هایی است که می‌توانند در یک مکان ژنی در جمعیت وجود داشته باشند. میانگین شاخص تنوع در جمعیت مورد بررسی ۲/۹۵ محاسبه شد که بیشترین و کمترین آن به ترتیب مربوط به نشانگر RM104 (۵/۵۶) و RM282 (۱/۰۶) بود (جدول ۴). الله‌قلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) به منظور ارزیابی تنوع مولکولی با استفاده از ۵۲ نشانگر ریزماهواره در ۹۴ ژنوتیپ برنج، میانگین تعداد آلل مؤثر را برای جمعیت برنج مورد مطالعه، ۴/۷۵۰ آلل گزارش کردند.

شاخص شانون معیار مهم دیگری برای ارزیابی کارایی نشانگر و تعیین چندشکلی می‌باشد. محدوده این شاخص بین ۱/۷۵ و ۰/۱۳ به ترتیب برای نشانگرهای RM104 و RM282 و با میانگین کل ۱/۱۴ محاسبه شد (جدول۴). در ارزیابی جداگانه ژنوتیپ‌ها نیز ارقام بومی با میانگین ۰/۹۹ نسبت به ژنوتیپ‌های خارجی و اصلاح

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

جدول ۳- میانگین، اشتباه استاندارد، واریانس و دامنه تغییرات صفات مرفولوژیک و بیوشیمیایی مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت در ارقام برنج

Table 3. Mean, standard error, range, maximum, minimum and coefficient of variation of morphological and biochemical characteristics related to pre-harvest sprouting in rice cultivars

Plant characteristics	صفات گیاهی	اشتباه معیار± میانگین Mean±Std Erorr	واریانس Variance	دامنه تغییرات Range	حداکثر Max.	حداقل Min.	ضریب تغییرات CV (%)
Panicle fertility (%)	درصد باروری خوشه	86.25 ± 1.59	81.92	43.35	96.92	53.57	10.49
Pre-harvest sprouting (%)	درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت	18.73 ± 1.56	166.07	61.73	63.22	1.49	68.79
Pre-harvest sprouting-based on filled grains (%)	درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت بر حسب دانه‌پر	21.91 ± 1.89	245.39	69.57	71.34	1.77	71.51
Frequency of grain.spike length^{-1}	فراوانی دانه در طول خوشه	4.65 ± 0.10	0.72	4.92	7.97	3.05	18.23
Frequency of filled grain.spike length^{-1}	فراوانی دانه پر در طول خوشه	3.97 ± 0.07	0.40	3.29	5.89	2.60	15.81
Frequency of sprouted seeds.spike length^{-1}	فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه	0.87 ± 0.08	0.44	3.25	3.31	0.06	75.76
Test weight (kg)	وزن هکتولیتر	39.73 ± 0.66	29.46	26.40	50.80	24.40	13.66
Grain shape (length:width)	شکل دانه	4.13 ± 0.10	0.66	3.95	6.57	2.62	19.70
Grain thickness:width	نسبت ضخامت به عرض دانه	0.78 ± 0.01	0.01	0.50	0.98	0.48	12.61
Grain volume (mm^3)	حجم دانه	24.69 ± 0.54	19.54	19.37	36.42	17.05	17.90
Panicle volume (cm^3)	حجم خوشه	2.91 ± 0.12	0.99	4.00	5.00	1.00	34.19
Protein content of grain (mmol.ml^{-1})	محتوای پروتئین دانه	487.03 ± 24.63	41261.54	823.32	907.25	83.92	41.71
Alpha amylase activity (µmol.g Fw^{-1} × 10^{-2})	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز	0.27 ± 0.02	0.03	0.80	0.89	0.09	60.76
Plant height (cm)	ارتفاع بوته	131.46 ± 2.42	399.06	86.00	177.40	91.40	15.19
Number of effective tillers	تعداد پنجه مؤثر	11.61 ± 0.38	9.85	16.00	22.00	6.00	27.02
Thickness of lemma (mm)	ضخامت لما	0.17 ± 0.005	0.001	0.18	0.27	0.09	24.57
Thickness of palea (mm)	ضخامت پالئا	0.20 ± 0.005	0.001	0.21	0.28	0.07	21.33
1000 grain weight (g)	وزن هزار دانه	25.49 ± 0.34	8.09	12.20	33.10	20.90	11.15
Grain density (mg.ml^{-1})	چگالی دانه	1.06 ± 0.02	0.03	0.78	1.55	0.77	16.78

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

شده، بیشترین میزان تنوع شانون را به خود اختصاص دادند. در تحقیقی که با استفاده از هفت نشانگر ریز ماهواره و ۲۸ ژنوتیپ برنج انجام شد، میانگین شاخص تنوع شانون ۲/۲ برآورد شد (Rahman *et al.*, 2010). میانگین تنوع شانون توسط کبریایی و همکاران (Kebriaee *et al.*, 2012) با استفاده از ۵۴ نشانگر ریزماهواره برای ۷۴ ژنوتیپ برنج، ۰/۳۹ برآورد شد. با مقایسه دو تحقیق اخیر به نظر می‌رسد که انتخاب هدفمند نشانگر نسبت به تعداد نشانگر، عامل اثرگذارتری در برآورد شاخص تنوع شانون و احتمالاً هر شاخص تنوع دیگری است به‌طوریکه بجای افزایش غیرهدفمند تعداد نشانگرها، بهتر است که از نشانگرهایی که در آزمایشات مختلف از شاخص‌های تنوع وسودمندی بیشتری برخوردار هستند، استفاده شود.

محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) شاخصی است که بوسیله آن می‌توان به ارزش یک نشانگر برای نشان دادن چند شکلی درون جمعیت پی برد. PIC یکی از معیارهای ارزیابی قدرت تمایز نشانگرها بوده و معیار دقیقی است که مستقل از تعداد نمونه مورد مطالعه عمل می‌کند (Botstein *et al.* 1980). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که نشانگر RM104 با مقدار ۰/۸۱بیشترین و RM282 با ۰/۱۰کمترین مقدار PIC را به خود اختصاص دادند. میانگین این شاخص نیز ۰/۵۹ برآورد شد (جدول۴). کبریایی و همکاران (Kebriaee *et al.*, 2012) با ارزیابی ۷۴ رقم از ارقام بومی، اصلاح شده و لاین‌های خارجی برنج با استفاده از ۵۶ نشانگر ریز ماهواره، میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی را ۰/۷۹ گزارش نمودند. از آنجایی که در تحقیق حاضر انتخاب نشانگرهای مورد استفاده بر اساس نتایج آزمایش‌های قبلی و ارتباط با جوانه‌زنی پیش از برداشت بود، بنابراین تنوع فوق می‌تواند نمایانگر تنوع بین ارقام از نظر جوانه‌زنی پیش از برداشت بوده که این ویژگی می‌تواند فرایند انتخاب شایسته را جهت برنامه‌ریزی مناسب به‌نژادی برای این صفت در برنج میسر نماید. در مجموع پنج نشانگر RM481, RM104، RM164، RM128 و RM220 بیشترین مقدار شاخص‌های تنوع را در ارقام برنج مورد ارزیابی به خود اختصاص دادند. بر این اساس، این پنج نشانگر که قابلیت تمایز بالاتری روی جمعیت دارند، برای ارزیابی روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف برنج، به ویژه ژنوتیپ‌هایی که از لحاظ ژنتیکی نزدیکتر هستند، قابل توصیه می‌باشند. این نشانگرها در مطالعات تجزیه ارتباطی و یا نقشه‌یابی ژنتیکی و مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات، از ارزش بیشتری برخوردار بوده و ممکن است، فرصت قرار گرفتن در زمره نشانگرهای پیوسته و یا مرتبط با صفات مهم و ارزشمند را پیدا کنند. بنابر این می‌توان آنها را برای مطالعات بعدی پیشنهاد کرد.

پیوستگی ژنتیکی بین نشانگرها و مکان‌های ژنی صفات کمّی، محتمل‌ترین توجیه برای ارتباط بین نشانگرهای مولکولی و نمود صفات کمّی است. استفاده از پیوستگی بین نشانگرها مولکولی و ژن‌های کنترل کننده صفات کمّی، فرایند اصلاح نباتات را تسریع کرده است (Virk *et al.*, 1996). در این آزمایش با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام بین متغیرهای وابسته (صفات مورد بررسی) و متغیرهای مستقل نشانگرهای مولکولی برای هر یک از صفات، نشانگرهای معنی‌دار مشخص شدند (جدول ۵). برای دو صفت درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت و درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت بر حسب تعداد دانه پر، یک نشانگر مشترک RM525 به ترتیب ۹ و ۱۴ درصد از تغییرات صفات فوق را توجیه کرده و با این صفات ارتباط معنی‌داری نشان داد. در مورد صفات فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه و میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، نشانگرهای RM525، RM447 و RM124 به طور مشترک به ترتیب ۳۱ و ۲۸ درصد ارتباط تعیین شد. دو صفت فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه با میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، همبستگی مثبت و

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

جدول ۴- شاخص‌های تنوع نشانگرهای ریزماهواره برای صفت جوانه‌زنی پیش از برداشت در ۳۶ رقم برنج

Table4. The diversity indices of SSR markers for pre-harvest sprouting in 36 rice cultivars

نشانگر SSR marker	شاخص شانون Shanon's information index (I)	تعداد آلل مؤثر Effective No. alleles (Ne)	تعداد آلل مشاهده شده Observed No alleles (Na)	محتوای اطلاعات چند شکل PIC
RM128	1.47	3.57	6	0.71
RM549	0.67	1.94	2@	0.41
RM525	1.00	2.57	3	0.56
RM519	1.21	2.74	5	0.60
RM488	0.95	2.00	4	0.48
RM447	1.26	3.12	4	0.65
RM282	0.13@	1.06@	2@	0.10@
RM309	1.14	2.81	4	0.61
RM252	0.96	2.44	3	0.54
RM220	1.41	3.77	5	0.71
RM164	1.56	4.10	6	0.74
RM104	1.75	5.56	6	0.81
RM320	1.12	2.46	5	0.57
RM11	1.24	3.26	4	0.64
RM7	1.17	3.02	4	0.63
RM481	1.64	4.59	6	0.77
RM528	1.14	2.82	4	0.61
RM315	1.22	3.04	4	0.64
RM247	1.12	2.47	4	0.58
RM124	0.62	1.78	2@	0.34
میانگین Mean	1.14	2.95	4.15	0.59

بیشترین مقادیر شاخص‌های تنوع @: کمترین مقادیر شاخص‌های تنوعMin = @ Max :-

معنی‌داری (r=۰/۹۴۹**) داشتند، ضمن اینکه بین این دو صفت با درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت نیز همبستگی بسیار بالایی (به ترتیب r=۰/۹۵** و r=۰/۸۲۵**) وجود داشت که وجود ارتباط بین نتایج مولکولی این صفات را توجیه می‌کند. بر این اساس می‌توان اظهار داشت که احتمالاً این نشانگرها پتانسیل استفاده برای انتخاب به کمک نشانگر برای دو صفت یاد شده را در پروژه‌های اصلاحی داره هستند. علاوه بر این پویش در نواحی کروموزومی اطراف این نشانگرها که قبلاً به عنوان نشانگرهای مرتبط با QTLهای کنترل کننده این صفات گزارش شده‌اند، می‌تواند در شناسایی ژن‌های کنترل کننده صفات مورد نظر سودمند باشد. در همین راستا، گائو و همکاران (Gao *et al*., 2013) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره از یک جمعیت برنج شامل ۱۶۴ بوته F_2 حاصل از تلاقی K81 (مقاوم به جوانه‌زنی پیش از برداشت) و G64B (حساس به جوانه‌زنی پیش از برداشت)، سه QTL کنترل کننده جوانه‌زنی پیش از برداشت را شناسایی کردند. در بین QTLهای شناسایی شده، qPSR8 را که به ترتیب در فاصله نشانگرهای RM447 و RM3754 روی کروموزوم شماره ۸ با توجیه ۴۳/۰۴ درصد قرار داشت، به عنوان تنوع فنوتیپی QTL بزرگ اثر، معرفی شد. شایان ذکر است که نشانگر RM447 در آزمایش حاضر نیز ارتباط معنی داری را با صفت جوانه‌زنی پیش از برداشت در ارقام مورد بررسی نشان داد که این مطلب کارایی مناسب روش تجزیه ارتباطی را در مقایسه با روش معمول نقشه یابی نشان می‌دهد. علاوه بر این به کمک روش تجزیه ارتباطی می‌توان اعتبار سنجی QTLs که در جمعیت های مختلف گزارش شده‌اند را در جمعیت مورد نظر همچون ژرم پلاسم برنج ایرانی، انجام داد.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

برای صفت حجم دانه تنها یک نشانگر RM447، ۱۱ درصد از تغییرات این صفت را توجیه کرد. همچنین نشانگر RM11 به ترتیب ۲۰ و ۱۲ درصد از تغییرات صفات ارتفاع بوته و ضخامت لما را توجیه کرد. چهار نشانگر RM282، RM220، RM447 و RM320 که مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت و خواب بذر می‌باشند (WWW.gramene.org)، ارتباط ۴۷ درصد را با صفت نسبت طول به عرض دانه (شکل دانه) نشان دادند. سه نشانگر RM282، RM447 و RM320، ۳۸ درصد از تغییرات صفت نسبت ضخامت به عرض دانه را توجیه کردند. وجود ضریب تبیین بالا بین نشانگر با صفات یاد شده، ارتباط نزدیک بین نشانگرها با صفات مذکور را نشان می‌دهد. صفات نسبت طول به عرض دانه و نسبت ضخامت به عرض دانه، همبستگی مثبت و معنی‌داری (r= ۰/۷۶۹**) داشتند که شاید دلیل مناسبی برای وجود ارتباط بین نتایج مولکولی این دو صفت باشد. وجود نشانگرهای مشترک برای چند صفت می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی دخیل در کنترل این صفات باشد (Jun *et al.*, 2008). همچنین با توجه به ضرایب همبستگی منفی بین نسبت طول به عرض دانه با ضخامت لما (r= −۰/۴۰۴) و پالئا (r= −۰/۲۳۴) و همچنین ضریب همبستگی منفی درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت با ضخامت پالئا (r= −۰/۴۰۶)، می‌توان اظهار کرد که شکل دانه احتمالا بصورت غیرمستقیم با صفت جوانه‌زنی پیش از برداشت که صفت وابسته با خواب بذر می‌باشد (Kulwal *et al*., 2010)، ارتباط دارد.

جدول ۵- تجزیه رگرسیون گام به گام بین صفات مرتبط با جوانه‌زنی پیش از برداشت و داده‌های مولکولی برای شناسایی نشانگرهای مثبت در ۳۶ رقم برنج

Table 5. Analysis of stepwise regression between plant characteristics related to pre-harvest sprouting and molecular data for effective markers identification in 36 rice cultivars

صفات گیاهی Plant characteristics	نشانگرها Markers	R^2	سطح معنی‌داری Pr.
شکل دانه Grain shape (length:width)	RM320- RM447-RM220-RM282	0.47	0.027
نسبت ضخامت به عرض دانه Grain thickness:width	RM282-RM320-RM447	0.38	0.022
حجم دانه Grain volume (mm^3)	RM447	0.11	0.029
محتوای پروتئین دانه Protein content of grain ($mmol.ml^{-1}$)	RM220	0.09	0.039
فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز Alpha amylase activity ($\mu mol.g\ Fw^{-1} \times 10^{-2}$)	RM525-RM447-RM124	0.28	0.047
ارتفاع بوته Plant height (cm)	RM11	0.20	0.003
تعداد پنجه Number of effective tillers	RM164	0.28	0.001
ضخامت لما Thickness of lemma (mm)	RM11	0.12	0.023
درصد باروری خوشه Panicle fertility	RM124	0.17	0.007
درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت Pre-harvest sprouting (%)	RM525	0.09	0.040

ادامه جدول ۵ (Table 5. Continued)

صفات گیاهی Plant characteristics	نشانگرها Markers	R^2	سطح معنی‌داری Pr.
درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت برحسب دانه‌پر Pre-harvest sprouting-based on filled grains (%)	RM525	0.14	0.015
فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه Frequency of sprouted seeds.spike $length^{-1}$	RM525-RM447-RM124	0.31	0.024

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد بین ژنوتیپ های مورد مطالعه به لحاظ صفت جوانه زنی پیش از برداشت تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه ای وجود دارد که دلالت بر پتانسیل بالای ژرم‌پلاسم موجود به عنوان یک منبع ژنی با ارزش برای مطالعات بعدی و برنامه های بهنژادی بخصوص برای صفت فوق می باشد. در تجزیه ارتباط بین نشانگرها و صفات مورد مطالعه، برای صفات درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت و درصد جوانه‌زنی پیش از برداشت بر حسب تعداد دانه پر، نشانگر مشترک RM525 و برای صفات فراوانی دانه جوانه‌زده در طول خوشه و میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز نیز به طور مشترک نشانگرهای RM525، RM447 و RM124 ارتباط معنی داری را نشان دادند. بنابر این با توجه به ارتباط بالای این نشانگرها با صفت جوانه ژنی پیش از برداشت، ادامه مطالعات مولکولی همچون پویش در نواحی کروموزومی مجاور این نشانگر ها می‌تواند در شناسایی ژن‌های کنترل کننده صفت جوانه‌زنی پیش از برداشت در ژنوتیپ‌های برنج مؤثر باشد.

منابع مورد استفاده

References

Allahgholipour, M., E. Farshadfar and B. Rabiei. 2014. Evaluation of molecular diversity in rice (*Oryzas ativa* L.) genotypes using microsatellite markers linked with agronomic and grain physico-chemical characteristics. Iran. J. Crop Sci. 15(4): 337-354. (In Persian with English abstract).

Bentsink, L., W. Soppe and M. Koornneef. 2007. Genetic Aspects of Seed Dormancy. In: Bradford K. J. and H. Nonogaki. (Eds.) Seed Development, Dormancy and Germination. Blackwell, Oxford, pp 264–304.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytic. Biochem. 72: 248-254.

Botstein, D., R. L. White, M. Skolnick and R. W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am. J. Hum. Genet. 32: 314- 331.

Dehghanpour Farshah, H., R. Tvakkol Afshari, F. Sharifzadeh and S. Chavoshinasab. 2011. Germination improvement and α-amylase and β-1,3-glucanase activity in dormant and non-dormant seeds of oregano (*Origanum vulgare*). Aust. J. Crop Sci. 5 (4): 421-427.

Don, R. H., P. T. Cox, B. J. Wainwright and J. S. Mattick. 1991. Touchdown PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. Nucleic Acid Res. 19: 4008-4009.

Esfahani,M., M. Mojtabaie Zamani and B. Amiri Larijani. 2009. The Growing Rice Plant University of Guilan Press. 380 pp. (In Persian).

Gao, X., C. H. Hu, H. Z. Li, Y. J. Yao, M. Meng, J. Dong, W. C. Zhao, Q. J. Chen and X. Y. Li. 2013. Factors affecting pre-harvest sprouting resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Anim. Plant Sci. 23 (2): 556-565.

Gao, F. Y., G. J. Ren, X. J. Lu, S. X. Sun, H. J. Li, Y. M. Gao, H. Luo, W. G. Yan & Y. Z. Zhang. 2008. QTL analysis for resistance to pre-harvest sprouting in rice (*Oryza sativa*). Plant Breed. 127: 268-273.

Gualano N. A. and R. L. Benech-Arnold. 2009. Predicting pre-harvest sprouting susceptibility in barley: Looking for "sensitivity windows" to temperature throughout grain filling in various commercial cultivars. Field Crops Res. 114: 35-44.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

Guo, L., L. Zhu, Y. Xu, D. Zeng, P. Wu and Q. Qian. 2004. QTL analysis of seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.). Euphytica, 140: 155-162.

Hussain, A., N. Khattak and A. **Qayyumkhan. 2008.** Cost benefit analysis of different rice varieties in district Swat. Sarhad J. Agric. 24 (4): 745-748.

IRRI. 2002. Standard Evaluation System for Rice (SES). International Rice Research Institute. Los Banos, Laguna, Philippines.

Jain, R. K. and S. Bal. 1997. Properties of pearl millrt. J. Agric. Eng. Res. 66: 85-91.

Jun, T. H., K. Van, M. Y. Kim, S. H. Lee and D. R. Walker. 2008. Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. Euphytica, 162: 179- 191.

Kebriaee, D., M. H. Rezadoust, M. Kordrostami and H. Samizadeh-Lahiji. 2012. Evaluation of genetic diversity in rice using microsatellite markers. Agric. Biotechnol. 12(2): 41-52. (In Persian with English abstract).

Kulwal, P. L., R. R. Mirs, S. Kumar and P. K. Gupta. 2010. QTL Analysis and molecular breeding for seed dormancy and pre-harvest sprouting tolerance in bread wheat. J. Plant Biol. 37 (1): 59-74.

Mahbub, A. A., M. S. Rahman, M. Khanam and A. R. Gomosta. 2005. Development of pre-harvest sprouting tolerance screening technique in rice. Int. Rice Res. Notes, 30 (1): 50-51.

Nourinia, A. 2002. Pre-harvest sprouting in wheat past research and future needs. In: 7th Iranian Crop Science Congress. 24 to 26 August. Karaj, Iran. (In Persian with English abstract).

Rahman, M. S., M. K. H. Sohag and L. Rahman. 2010. Microsatellite based DNA fingerprinting of 28 local rice (Oryza sativa L.) varieties of Bangladesh. J. Bangladesh Agric. Univ. 8(1): 7-17

Saghai-Maroof, M. A., K. M. Soliman, R. A. Jorgensen and R. W. Allard. 1984. Ribosomal DNA sepacer-length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 81: 8014-8019.

Sarmadnia, G. 1996. Seed Technology. Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR). pp.288. (In Persian).

Sasaki, K., Y. Kazama, Y. Chae and T. Sato. 2013. Confirmation of novel quantitative trait loci for seed dormancy at different ripening stages in rice. Rice Sci. 20 (3): 207−212.

Shanon, C. E. 1984. A mathematiacal theory of communication. Bell Syst. Tech. J . 27: 379-423, 623-656, July, October.

Thomson, M. J., Septiningsih, E. M., Suwardjo, F., Santoso, T. J., Silitonga, T. S. and S. R. McCouch. 2007. Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. Theor. Appl.Genet., 114: 559- 568.

Virk, P. S., B. V. Ford-Lioyd, M. T. Jackson, H. S. Pooni, T. P. Clemeno and H. J. Newbury. 1995. Marker-assisted prediction of agronomic traits using diverse rice germplasm. Third International Rice Genetics Symposium, 16 to 20 October Manila, Philippines. 307-316.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

Xie, K., L. Jiang, B. Y. Lu, C. Y. Yang, L. F. Li, X. Liu, L. Zhang, Z. G. Zhao and J. M. Wan. 2011. Identification of QTLs for seed dormancy in rice (*Oryza sativa* L.). Plant Breed. 130: 328-332.

Yang, J. and J. Zhang. 2010. Crop management technique to enhance harvest index in rice. J. Exp. Bot. 61 (12): 3177-3189.

Yeh, F. C. and T. J. B. Boyle. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. Belg. J. Bot. 129- 157.

Zhu, j., M. D. Gale and S. Guarrie. 1998. AFLP markers for the study of rice biodiversity. Theor. Appl. Genet. 96: 602-611.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]

Evaluation of allic frequency and association analysis of microsatellite markers with some traits related to pre-harvest sprouting in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars

Nikzade Talebi, S. [1], A. Aalami[2], M. Esfahani[3] and A.A. Ebadi[4]

ABSTRACT

Nikzade Talebi, S., A. Aalami, M. Esfahani and A. A. Ebadi. 2016. Evaluation of allelic frequency and association analysis of microsatellite markers with some traits related to pre-harvest sprouting in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars**. Iranian Journal of Crop Sciences. 18(1): 49-62. (In Persian).**

To study allelic frequency and association analysis of microsatellite markers with some traits related to pre-harvest sprouting in rice, 34 local varieties/ improved rice cultivars were planted in research field of Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran, in 2013 cropping season. Traits related to pre-harvest sprouting were measured in the field and recorded. Also the banding pattern of 20 microsatellite markers was determined and their association was evaluated with these traits. Results analysis of variance showed that local varieties/cultivars had significant differences for all traits at 1% of probability level that implies high genetic variation for traits related to pre-harvest sprouting. Results of allelic diversity revealed average number of effective alleles, Shannon's index and polymorphic information content equal to 2.95, 1.14 and 0.59, respectively. Association analysis between microsatellite markers and traits showed the highest coefficient of determination with 47% explained by four markers RM282, RM220, RM447 and RM320 for grain shape. For pre-harvest sprouting (%) and pre-harvest sprouting (%) based on the number of filled grain, a common marker, RM525, explained 9% and 14% of the variation observed for these two characteristics, respectively. Markers RM525, RM447 and RM124 commonly showed 31% and 28% association with two traits, frequency of sprouted seeds in the panicle and Alpha-amylase enzyme activity, respectively. Therefore, due to significant association of these markers, scanning of adjacent chromosomal regions can be useful for identifying allels controlling traits related to pre-harvest sprouting in rice.

Key words: Alpha amylase enzyme, Molecular markers, Pre-harvest sprouting and Rice.

Received: 5 November, 2015 , Accepted: 28 May, 2016

1- MSc Student, Faculty of Agricultural sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2- Assistant Prof., Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran (Corresponding author)
(Email: ali_aalami@guilan.ac.ir)
3- Professor, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
4- Assistant Prof., Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1395.18.1.4.3]