بررسی تنوع و روابط ژنتیکی بین تعدادی از ارقام برنج با استفاده از صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی RAPD

ع. ا. باباجانپور[۱]، ق. ع. نعمت‌زاده[۲]، ا. مجیدی[۳]، آ. ابراهیمی[۴]، ع. حاجی‌پور[۵]، س. ح. ر. هاشمی [۵] و س. م. علوی[۵]

چکیده

استفاده از پتانسیل ذخایر ژنتیکی جهت اصلاح برنج، مستلزم شناسایی ژرم پلاسم می‌باشد. تحقیق حاضر به منظور بررسی تنوع و روابط ژنتیکی بین۳۰ ژنوتیپ مهم برنج با استفاده از صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی RAPD اجرا شد. صفات زراعی مورد مطالعه نظیر ارتفاع بوته، تعداد پنجه در بوته، طول خوشه، طول شلتوک، عرض شلتوک، تعداد دانه پر و پوک درخوشه و وزن هزار دانه بودند. بیشترین ضریب تنوع مربوط به تعداد دانه پوک (۷۶/۷ درصد) و کمترین آن مربوط به طول خوشه (۱۸/۴۶درصد) بوده است. تجزیه خوشه ای نیز با استفاده از نـرم افزار NTSYS 2.02 و ضریب تشابه EUCLID و الگوریتم UPGMA برای میانگین استاندارد شده ($z = x-\mu/\sigma$) داده‌های صفات زراعی صورت گرفت. نتایج حاصل، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم می نماید بیشترین ضریب تشابه بین ژنوتیپ های سنگ جو و دم سیاه (۶۹ درصد) و کمترین آن مربوط به ژنوتیپ های سنگ طارم و بینام (۱۰/۰۱ درصد) مشاهده شد. از ۲۴ آغازگر تصادفی RAPD استفاده شده، ۱۲ آغازگر تصادفی، چند شکلی مطلوبی نشان دادند. تجزیه خوشه‌ای داده‌ها با استفاده از نرم افزار NTSYS ver. 2.02 انجام گرفت و الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه DICE مناسب‌ترین گروه‌بندی را در بین سایر روش‌ها نشان دادند. براساس نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه‌ای، ۴ گروه قابل تفکیک بدست آمده که بیشترین ضریب تشابه مربوط به ارقام آمل ۲ و هراز (۹۴/۲ درصد) و کمترین آنها هم برای ارقام زیره بندپی و ندا (۳۴/۲ درصد) بوده است.

واژه های کلیدی: برنج، تنوع، روابط ژنتیکی، صفات زراعی، نشانگرهای مولکولی RAPD

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد دانشگاه آزاد واحد علوم تحقیقات تهران
۲- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۳- استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
۴- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
۵- کارشناس ارشد پژوهشکده برنج و مرکبات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

مقدمه

تنوع ژنتیکی اساس اصلاح نباتات است که از تنوع طبیعی ناشی شده و از اجزای مهم پایداری نظامهای بیولوژیکی می باشد. ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی برای برنامه های اصلاح نباتات و حفاظت از ذخایر توارثی کاربرد حیاتی دارد. آگاهی از تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی برای انتخاب نژادهای والدینی در جهت حصول هیبریدهای مناسب و پیش بینی بنیه هیبرید به ویژه در محصولاتی که هیبرید آنها ارزش تجاری دارند، مهم است (۱۲ و ۱۵). مطالعات مختلف حاکی از آن است که تولیدات غذایی جهان تا سال ۲۰۲۵ باید دو برابر شود تا جوابگوی نیازهای جمعیت رو به رشد باشد. با توجه به محدودیت‌های اقلیمی برای توسعه زمین‌های زیر کشت، این مقدار غذا باید از زمین‌های موجود و با استفاده از مصرف نهاده‌های کمتر بدست آید. برنج تولید داخل حدود دو سوم میزان مصرف سالانه کشور را تامین می‌نماید و هر ساله باید یک سوم برنج مصرفی وارد گردد. به طور کلی اولین مرحله در بهبود ژنتیکی گیاهان، شناسایی ژرم‌پلاسم، بررسی تنوع ژنتیکی موجود در آن و نهایتا تشخیص ژنوتیپ‌های برتر در زمانی کوتاه می‌باشد (۷). نقش صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی در بررسی تنوع ژنتیکی و گروه بندی بر کسی پوشیده نیست. با استفاده از مطالعات مورفولوژیکی و مولکولی می‌توان ژرم‌پلاسم کشور را غربال و برخی از ارقام تکراری در ژرم‌پلاسم را شناسایی و حذف نمود. گذشته از این می‌توان لاین‌ها و ارقام محلی دارای صفات مطلوب را گزینش و خزانه ژنتیکی را جهت استفاده در پروژه‌های به‌نژادی غنی نمود. تجزیه خوشه ای یک سری از روش های ریاضی است که جهت پیدا نمودن شباهت بین مواد در یک مجموعه به کار می رود. در واقع هدف از روش‌های خوشه بندی آن است که مجموعه‌ای از داده‌ها، در گروه‌ها یا دسته‌های مجزا قرار گیرند. دلیل اهمیت این روش نسبت به روش های دیگر به لحاظ ماهیت روابطی است که بین افراد وجود دارد یعنی افراد، جمعیت ها، نمونه‌ها و رقم‌ها واحدهایی هستند که نمی‌توان در آن واحد و همزمان آنها را به دو گروه مختلف اختصاص داد. نشانگرهای RAPD مورد توجه بسیاری از محققین گیاهی به لحاظ سادگی این روش و همچنین عمومیت آغازگرهای الیگونوکلئوتیدی که می توان آنها را در هر گونه‌ای مورد استفاده قرار داد می باشد. روش هایی که از آغازگرهای اختیاری بویژه RAPD بهره برداری می کنند در مطالعات ژنتیکی گیاهان بسیار رایج می باشند. در به نژادی، تنوع و انتخاب دو رکن اساسی هستند و هدف از انجام تلاقی در برنامه اصلاحی، یافتن نتاجی است که از لحاظ صفات خاصی برتر از والدین خود باشد، والدین تلاقی بایستی از لحاظ صفات مورد نظر برتر از سایر ژنوتیپ ها بوده و در عین حال از لحاظ خصوصیات ژنتیکی از همدیگر تفاوت بیشتری داشته باشند تا در نتیجه بتوان از پدیده هتروزیس بهره مند شد (۱۶). تحقیقات گسترده‌ای در مورد تنوع ژنتیکی، همبستگی و تجزیه های چند متغیره صفات مختلف برنج در ایران و جهان صورت گرفته است.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

نتیجه گیری کلی از تحقیقات انجام شده موید این نکته است که در تمام مطالعات انجام یافته، تنوع ژنتیکی بالایی برای صفات مختلف در برنج مشاهده می‌گردد. و امکان افزایش ژنوتیپهای برتر به منظور افزایش عملکرد برنج و بهبود سایر صفات وجود دارد. باقری و همکاران (۳) به منظور بررسی تنوع صفات در برنج های بومی مازندران تعداد ۶۴ رقم و لاین برنج را مورد مطالعه قرار دادند. در این مطالعه ۱۴ صفت مهم زراعی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در تجزیه آماری داده ها تنوع زیادی بین هر صفت مشاهده شد. دندروگرام ترسیم شده براساس تجزیه خوشه ای آنها را در ۴ گروه قرار داد. و ضرایب تنوع فنوتیپی برای تعدادی از صفات بالا بود. حاج امیری (۱۰) در تعیین تنوع ژنتیکی و روابط بین صفات را در ۶۰ ژنوتیپ برنج مورد ارزیابی قرارداده و تجزیه واریانس نشان داد که کلیه ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد بررسی به غیر از دو صفت طول و عرض دانه تفاوت‌های معنی داری دارند. آقازاده قولکی و همکاران (۲) در طبقه بندی بخشی از ژرم پلاسم برنج با استفاده از نشانگر رپید، با ۱۲۹ نشانگر و ۵۶ ژنوتیپ برنج، آنها را در ۷ گروه طبقه بندی نمودند. افتخارالدوله و همکاران (۱) در مطالعه تنوع ژنتیکی، رابطه بین صفات و معیار انتخاب در ۱۹ ژنوتیپ برنج، اظهار داشتند که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در ۵ کلاستر قرار گرفته و صفات تعداد دانه درخوشه، تعداد خوشچه اولیه، طول برگ پرچم، وزن هزار دانه و ارتفاع بوته به ترتیب بیشترین نقش را در افزایش تنوع ژنتیکی نشان دادند. زانگ و همکاران (۱۷) با بررسی ۱۱ صفت کمی در ۲۴ لاین برنج و ۴ رقم تستر، آنها را به ۴ گروه تقسیم کردند. با این روش فوکوکا و همکاران (۹) نیز ۱۶ واریته برنج را مورد ارزیابی قرار دادند. دندروگرام حاصل از داده های رپید نشان داد که تیپ جاوانیکا از نظر ژنتیکی به تیپ ژاپونیکا نزدیکتر است. همبستگی بین صفات در اصلاح نباتات از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد، زیرا این همبستگی‌ها ممکن است اصلاحگر را در گزینش غیرمستقیم برای صفات مهم از طریق صفات کم اهمیت که اندازه گیری آنها آسانتر است، کمک نماید (۴). هدف از این تحقیق استفاده از صفات زراعی و نشانگرهای مولکولی به منظور ارزیابی و بررسی تنوع و روابط ژنتیکی تعدادی از ارقام برنج بوده است.

مواد و روشها

در این تحقیق ۳۰ ژنوتیپ برنج تهیه شده از بانک ژن گیاهی ملی ایران متعلق به نقاط مختلف جغرافیایی استفاده شد (جدول ۱). عملیات زراعی و اندازه‌گیری‌های صفات مورفولوژیکی ژنوتیپ‌ها در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده برنج و مرکبات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری صورت گرفت. تهیه خزانه و بذر پاشی طبق عرف منطقه انجام و بوته‌ها با فاصله ۲۵×۲۵ در ۴ ردیف و ۱۰ بوته در روی ردیف بصورت مشاهده‌ای نشاکاری شدند. در بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از صفات زراعی به طور متوسط ۵ بوته از ردیف میانی به تصادف، انتخاب و صفاتی نظیر ارتفاع بوته، تعداد پنجه، طول خوشه،

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

تعداد دانه پر و پوک در خوشه، وزن هزار دانه اندازه‌گیری گردیدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها نیز با استفاده از نرم افزار NTSYS 2.02 و از ضریب تشابه EUCLID ($E_{ij} = \sqrt{\sum_k (x_{ki}-x_{kj})^2}$) و الگوریتم UPGMA برای میانگین استاندارد شده ($z = x- \mu/\sigma$) داده‌های زراعی صورت گرفت. ضریب تغییرات صفات زراعی با استفاده از نرم افزار EXCEL و تجزیه عاملی صفات زراعی با استفاده از نرم افزار SPSS15 محاسبه گردید. نمونه برگی جهت استخراج DNA در مرحله پنجه‌زنی تهیه و بلافاصله به فریزر انتقال داده شد. از روش دلاپورتا و همکاران (۶) برای استخراج DNA استفاده گردید.

جدول۱ - ژنوتیپ های برنج مورد مطالعه

ردیف	ژنوتیپ	ردیف	ژنوتیپ	ردیف	ژنوتیپ
۱	سنگ جو	۱۱	بجار	۲۱	آمل۲
۲	شاهپسند	۱۲	گرده	۲۲	هراز
۳	IR58	۱۳	موسی طارم	۲۳	دادرس
۴	حس سرایی	۱۴	میر طارم	۲۴	گرم طارم
۵	زیره بندپی	۱۵	عنبر بو	۲۵	صدری مولایی
۶	سالاری	۱۶	سپید رود	۲۶	آخوند مولایی
۷	رشتی سرد	۱۷	گرده رشتی	۲۷	صدری
۸	IR56	۱۸	سنگ طارم	۲۸	صدری عطری
۹	طارم امیری	۱۹	دم سیاه	۲۹	ندا
۱۰	رشتی	۲۰	بینام	۳۰	نعمت

برای تکثیر DNA از دستگاه PCR (MJMINI مدل PTC-1148) استفاده گردید. حجم و غلظت مواد برای تکثیر به ترتیب، آب ۴/۱۴ میکرولیتر، بافر PCR (1X) ۱/۲۵ میکرولیتر، کلرید منیزیوم ۱/۳۰ میکرولیتر (۲ میلی‌مولار)، dNTPs ۰/۳میکرولیتر (۲۴۰ میکرومولار)، آغازگر ۱/۲۵میکرولیتر (یک میکرومولار)، Taq پلیمراز ۰/۲۶ میکرولیتر (یک واحد) و DNA الگو ۴ میکرولیتر (۴۰ نانوگرم) بود.

چرخه دمایی مورد استفاده نیز به ترتیب شامل واسرشته سازی در ۹۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها در ۳۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه و تکثیر در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت دو دقیقه بود. تعداد کل چرخه ها ۴۱ و چرخه آخر، ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد برای تکمیل بسط آغازگر توسط آنزیم Taq پلیمراز تعیین گردیدند. محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۷ درصد الکتروفورز و با ولتاژ ۸۰ ولت و بافر TBE(1X) الکتروفورز (BIORAD) شد. ژلها با اتیدیوم بروماید (۱۰ میلی‌گرم پرلیت) رنگ آمیزی و الگوی نواری با نورUV عکس برداری و مورد آنالیز قرار گرفتند. برای تجزیه مولکولی از اعداد صفر و یک استفاده شد، بدین ترتیب یک ماتریس ۳۰ در ۳۵ از اعداد

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

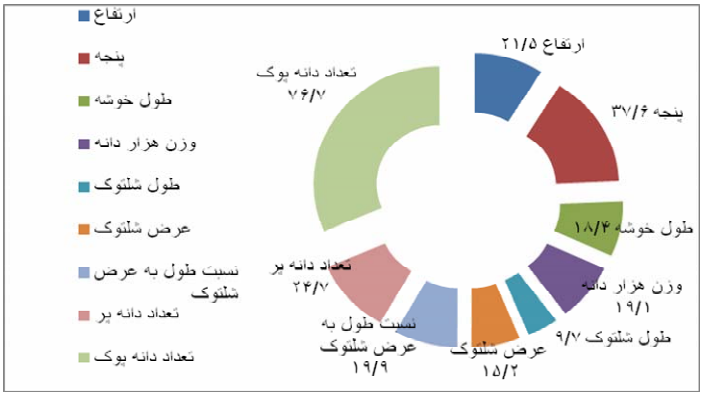
۰ و ۱ تشکیل گردید بطوری که سطرها برای ژنوتیپ و ستون‌ها برای باندها اختصاص یافت. گروه بندی ارقام براساس داده های رپید و الگوریتم UPGMA و نیز ضریب تشابه دایس (2a/2a+b+c) صورت گرفت.

نتایج و بحث

آمار توصیفی برای صفات مورد مطالعه در جدول (۲) آمده است. در میان صفات زراعی تعداد دانه پوک، تعداد پنجه، تعداد دانه پر و ارتفاع بوته به ترتیب با ضریب تغییرات ۷۶/۷، ۳۷/۶۶، ۲۴/۷۳ و ۲۱/۵۵ درصد از بیشترین تنوع برخوردار بودند (شکل ۱). این موضوع نشان دهنده دامنه زیاد تنوع ژنتیکی بین صفات مورد مطالعه می‌باشد. همچنین ضریب تغییرات بسیار پایین حاکی از دقت در اندازه‌گیری و یکنواختی ماده آزمایشی است.

جدول۲- آمار توصیفی مربوط به صفات مورد مطالعه

صفات	میانگین	انحراف معیار	دامنه تغییرات	شماره ژنوتیپ دارای	
				بالاترین دامنه	کمترین دامنه
ارتفاع	۱۴۴/۹	۳۸/۹	۱۸۳ -۶۳/۶	۲۸	۸
تعداد پنجه	۴۴/۶	۲۱	۵۹/۶ -۱۷/۴	۱۷	۲۲
طول خوشه	۲۹/۸	۴/۸	۴۲ -۲۱/۳	۱۵	۱۱
وزن هزار دانه	۲۳/۷	۳/۷	۳۳ -۲۲/۱۶	۲	۲۶
طول شلتوک	۹/۹	۰/۸	۱۱/۴۸ -۸/۰۸	۱۶	۱۲
عرض شلتوک	۲/۴	۰/۲۶	۲/۸۵ -۲/۱۷	۲۴	۴
طول به عرض ش	۴/۱	۰/۶۱	۵/۰۷ -۲/۵۶	۱۶	۱۲
تعداد دانه پر	۱۱۲/۹	۳۱/۵	۱۸۶ -۷۰/۶	۱۳	۲۵
تعداد دانه پوک	۲۸/۶	۲۲	۹۶/۲ -۶/۲	۲۱	۸



شکل ۱- ضریب تغییرات صفات مورد مطالعه.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

باقری و همکاران (۳) در میان صفات زراعی تعداد دانه سالم در خوشه، تعداد دانه کل در خوشه، مدت زمان ۵۰ درصد گلدهی و ریزش دانه به ترتیب از بیشترین ضریب تغییرات برخوردار بودند. در نتیجه لزوم توجه به پتانسیل بالقوه و استفاده به هنگام از تنوع در برنامه‌های به‌نژادی تاکید دارد. نتایج تجزیه تحلیل همبستگی دو به دوی صفات مورفولوژیکی با استفاده از نرم افزار SPSS 15 نشان داد که ارتفاع بوته با طول خوشه، طول شلتوک با عرض شلتوک، طول شلتوک و عرض شلتوک با نسبت طول به عرض شلتوک و وزن هزاردانه با تعداد دانه پوک دارای همبستگی معنی داری در سطح ۱٪ می باشند (جدول ۳) که طبیعی هم می باشد. رابطه منفی و معنی دار وزن هزار دانه و تعداد دانه پوک (بعنوان معیار عملکرد) یعنی با کاهش دانه های پوک و چروکیده، وزن هزار دانه افزایش می‌یابد. وجود چنین روابطی را می‌توان به تنوع ژنتیکی و پاسخ‌های متفاوت ژنوتیپ‌های مختلف جدید نسبت داد به طوری که بسیاری از ژنوتیپ‌های که دارای سازگاری مناسبی با محیط بوده‌اند در مقدار صفات مورد نظر از جمله ارتفاع بوته، تعداد دانه در خوشه و وزن هزاردانه بیشتر بوده و برعکس ژنوتیپ‌هایی که دارای سازگاری مناسبی با شرایط محیطی نبودند، کوتاهتر از حد معمول بوده‌اند. عدم تظاهر مناسب صفات زراعی در بعضی ژنوتیپ‌ها از جمله تعداد پنجه، طول خوشه و وزن هزار دانه که در مزرعه مشاهده شد نیز تایید کننده این مطلب می‌باشد.

جدول۳- همبستگی دو به دوی بین صفات زراعی در ارقام مورد مطالعه

صفات مورفولوژیک	ارتفاع بوته	تعداد پنجه	طول خوشه	وزن هزار دانه	طول شلتوک	عرض شلتوک	نسبت طول به عرض شلتوک	تعداد دانه پر	تعداد دانه پوک
ارتفاع بوته	۱								
تعداد پنجه	۰/۱۵۳۱	۱							
طول خوشه	۰/۷۲۴**	۰/۰۱	۱						
وزن هزاردانه	-۰/۰۳۴	-۰/۲۳	-۰/۰۲	۱					
طول شلتوک	۰/۰۸۲	-۰/۰۳	۰/۱۷۷	۰/۳	۱				
عرض شلتوک	۰/۰۸۲	-۰/۰۳	۰/۱۷۷	۰/۳	۱**	۱			
طول به عرض شلتوک	-۰/۰۷	۰/۰۰۹	-۰/۰۲	۰/۲۹۵	۰/۷۴۲**	۰/۷۴۲**	۱		
تعداد دانه پر	-۰/۱۴	-۰/۳۵	-۰/۱۹	۰/۳۳۷	۰/۰۸۵	۰/۰۸۵	۰/۱۲۹	۱	
تعداد دانه پوک	-۰/۱۰۸۹	-۰/۲۳۲۸	۰/۱۵۱۸	-۰/۴۹۴**	۰/۱۶۴۳	۰/۱۶۴۳	۰/۰۰۱۷	-۰/۱۶	۱

**: معنی دار در سطح ۱٪.

براساس نتایج تجزیه عاملی براساس داده‌های استاندارد شده ۹ صفت زراعی، تعداد ۴ عامل پنهان معرفی شدند که در مجموع ۸۴/۵۴ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه نمودند (جدول ۴). در عامل اول صفت ارتفاع بیشترین بار عامل بود که می‌توان این عامل را به نام عامل قامت گیاه نامید، که افزایش آن باعث ورس و کاهش عملکرد می‌گردد که

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

وجود بوته‌های با میانگین ارتفاع ۱۴۴/۹ و ۳۸/۹ دلیل بر وجود تنوع برای این صفت بود. عامل دوم را می‌توان عامل مثبت برای صفت تعداد پنجه بارو بیشتر نامگذاری نمود. در عامل سوم و چهارم که طول سنبله و وزن هزار دانه است که انتخاب بر اساس این عاملها مطمئنا توده‌هایی با طول خوشه زیاد، تعداد سنبلچه و وزن هزار دانه بیشتر و عملکرد بیشتر برگزیده خواهد شد که می‌توان آن را عوامل اجزای عملکرد نامید. والتون (۱۴) از تجزیه عامل‌ها در شناسایی ویژگی‌های رشدی و مورفولوژیک در گندم استفاده نمود و ۴ عامل را شناسایی نمود که شامل اجزای عملکرد، صفات مورفولوژیک طول سنبله و تعداد دانه و طول دوره پر شدن دانه بود.

جدول۴- نتایج تجزیه عاملی براساس داده‌های استاندارد شده ۹ صفت زراعی

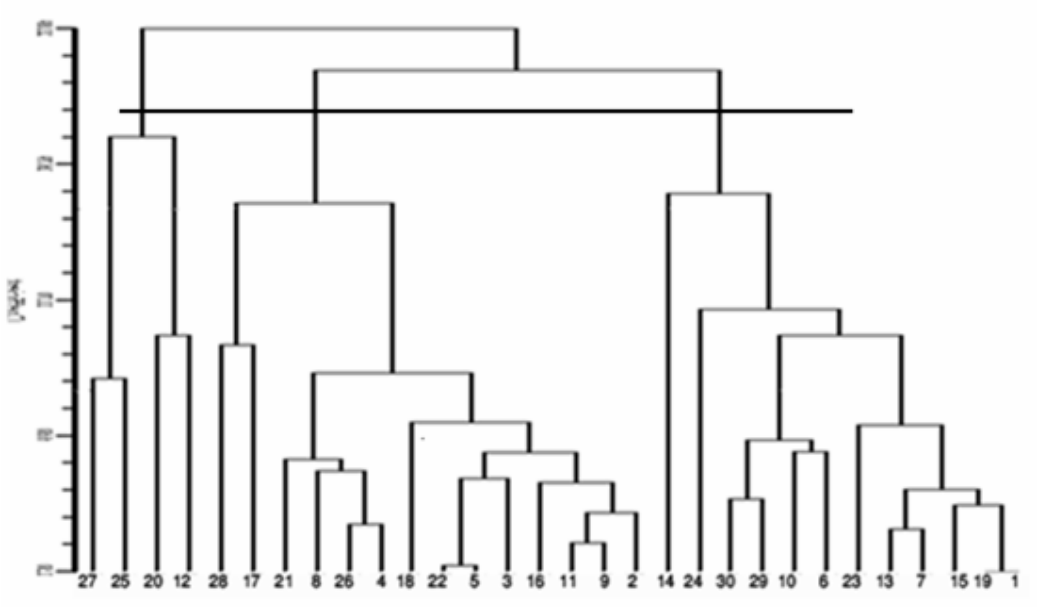
صفات مورفولوژیک	واریانس			واریانس بار شده			واریانس چرخش داده شده		
	کل	درصد از واریانس	تجمعی	کل	درصد از واریانس	تجمعی	کل	درصد از واریانس	تجمعی
ارتفاع	۲/۸۷۵	۳۱/۹۴۸	۳۱/۹۴۸	۲/۸۷۵	۳۱/۹۴۸	۳۱/۹۴۸	۲/۷۷۸	۳۰/۸۷۰	۳۰/۸۷۰
تعداد پنجه	۱/۹۶۸	۲۱/۸۷۱	۵۳/۸۱۹	۱/۹۶۸	۲۱/۸۷۱	۵۳/۸۱۹	۱/۶۷۷	۱۹/۶۲۰	۵۰/۴۹۰
طول خوشه	۱/۵۱۰	۱۶/۷۷۳	۷۰/۵۹۱	۱/۵۱۰	۱۶/۷۷۳	۷۰/۵۹۱	۱/۵۹۱	۱۷/۶۷۹	۶۸/۱۶۹
وزن هزار دانه	۱/۲۵۶	۱۳/۹۵۰	۸۴/۵۴۱	۱/۲۵۶	۱۳/۹۵۰	۸۶/۵۴۱	۱/۴۷۴	۱۶/۳۷۳	۸۴/۵۴۱
طول شلتوک	۰/۶۱۲	۶/۸۰۴	۹۱/۳۴۶						
عرض شلتوک	۰/۳۳۲	۳/۶۹۲	۹۵/۰۸۳						
نسبت طول به عرض شلتوک	۰/۲۶۹	۲/۹۸۹	۹۸/۰۲۷						
تعداد دانه پر	۰/۱۷۸	۱/۹۷۳	۱۰۰						
تعداد دانه پوک	۴/۶	۵/۱۱	۱۰۰						

میشرا و همکاران (۱۱) با اندازه‌گیری هفت صفت کمی در ۳۷ لاین برنج، توانستند آنها را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به پنج گروه تقسیم نمایند. نتایج حاصل از دندروگرام، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در فاصله ۱۷ به سه گروه تقسیم می‌نماید (شکل ۲). گروه یک شامل ژنوتیپ‌های سنگ جو، دم سیاه، عنبربو، رشتی سرد، موسی‌طارم، سالاری، رشتی، ندا، نعمت، گرم طارم و میرطارم بوده و گروه ۲ شامل ژنوتیپهای شاه پسند، طارم امیری، بجار، سپیدرود، IR58، زیره بندپی، هراز، سنگ طارم، حسن سرایی، آخوندمولایی، IR56، آمل۲، گرده رشتی و صدری عطری می‌باشد. گروه ۳ نیز شامل گرده، بینام، دادرس، صدری

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

مولایی و صدری می‌باشند. همانطور که انتظار می‌رفت در گروه بندی با استفاده از معیار فاصله اقلیدوسی و صفات زراعی که از جمله صفات کمی و تحت شرایط محیط‌های مختلف تغییر می‌کنند ژنوتیپ‌ها به سه گروه طبقه بندی شدند که به دلیل شرایط محیطی تفکیک مناسب ژنوتیپ‌ها انجام نشد و پیشنهاد می‌گردد که از صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی بیشتر استفاده نمود. اگر چه ژنوتیپ‌های همچون سنگ جو، دم سیاه، سنگ طارم و صدری عطری در گروه های مختلف (به لحاظ تفاوت صفات مورفولوژیکی) قرار گرفته اند اما از آنها برای اصلاح ارقام بومی و وارداتی در سطح گسترده استفاده می گردد.



شکل ۲- نمودار درختی حاصل از تجزیه خوشه ای ارقام مختلف برنج براساس صفات مورفولوژیک (اعداد شماره ژنوتیپ ها).

از ۲۴ آغازگر RAPD استفاده شده، ۱۲ آغازگر چند شکلی مناسبی نشان دادند (جدول ۵). از مجموع ۱۰۵ نوار بدست آمده تعداد ۳۵ نوار (۳۳/۳ درصد) چند شکلی بودند که دامنه آن از ۷ تا ۱۹ عدد متغیر بود. تعداد نوار در نشانگر رپید بین ۱ تا ۲۰ گزارش شده است (۸). کمترین و بیشترین تعداد نوار به ترتیب به آغازگرهای OPB-14 و OPH-12 اختصاص داشت. تعداد متوسط نوار برای هر آغازگر ۱۰ عدد بود. در گزارشات راوی و همکاران (۱۳) نیز تعداد باندها از یک الی ده متغیر و از میانگین ۵/۷ برخوردار بود. بیشترین تشابه بین ارقام آمل ۲ و هراز (۹۴/۲٪) و کمترین آن بین زیره بندپی و ندا (۳۴/۲٪) مشاهده گردید. با توجه به دندروگرام بدست آمده و برش در فاصله ۵۵ (شکل ۲) می‌توان ارقام را در ۴ گروه دسته بندی نمود، گروه اول شامل ژنوتیپ‌های هراز، آمل ۲،

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]
[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

سپیدرود، بجار، نعمت، طارم امیری، IR58 و ندا (ارقام پرمحصول) گروه دوم شامل IR56 و گرم طارم، گروه سوم نیز دو لاین گرده و رشتی و گروه چهارم دارای ارقام معطر و زودرس کیفی همچون سنگ جو، میر طارم، شاه پسند، سالاری، زیره بندپی، عنبربو و دم سیاه (ارقام کیفی) بوده اند. از آنجائی که به لحاظ تئوریک فرض می‌شود، تلاقی ژنوتیپ‌هایی که در گروه‌های متفاوت قرار داشته و بعبارت دیگر از فاصله ژنتیکی بیشتری برخوردار باشند، هتروزیس بیشتری را در نتاج F_1 نشان خواهند داد. با مقایسه دو نمودار درختی حاصل از صفات کمی و نشانگرهای تصادفی که به ترتیب به ۳ و ۴ گروه تقسیم شده اند به دلیل کمی بودن و تاثیر زیاد شرایط محیطی بر این دسته از صفات می‌باشد که ارقام ذاتاً غیرمشابه در یک گروه یا گروه‌های نزدیک به هم قرار گرفته اند. همچون ارقام ندا و نعمت با انواع طارم در گروه اول قرار گرفته‌اند، در مقابل گروه بندی با استفاده از نشانگرهای تصادفی RAPD که پوشش ژنومی خوب دارند ارقام با خصوصیات ژنتیکی نزدیک به هم که شرایط محیطی بر آن بی تاثیر است در گروه های جداگانه تفکیک شده اند، همچون گروه اول که ارقام با میانگین ارتفاع کمتر و تعداد پنجه بیشتر و در گروه چهارم ارقامی با ارتفاع بیشتر، تعداد پنجه کمتر، طول خوشه بیشتر و وزن هزار دانه کمتر قرار گرفته اند، اشاره نمود. لذا می‌توان در برنامه دورگ گیری و انتخاب والدین به کمک نتایج حاصل از نشانگرهای مولکولی DNA، هتروزیس بیشتری را در نتاج F_1 نشان خواهند داد. از نتایج این تحقیق می‌توان جهت انتخاب والدین مناسب و استفاده از آنها جهت پروژه‌های اصلاحی مبتنی بر هیبریداسیون و دیگر روشها به منظور یافتن نتاج با عملکرد بالا و کیفیت بهتر استفاده نمود.

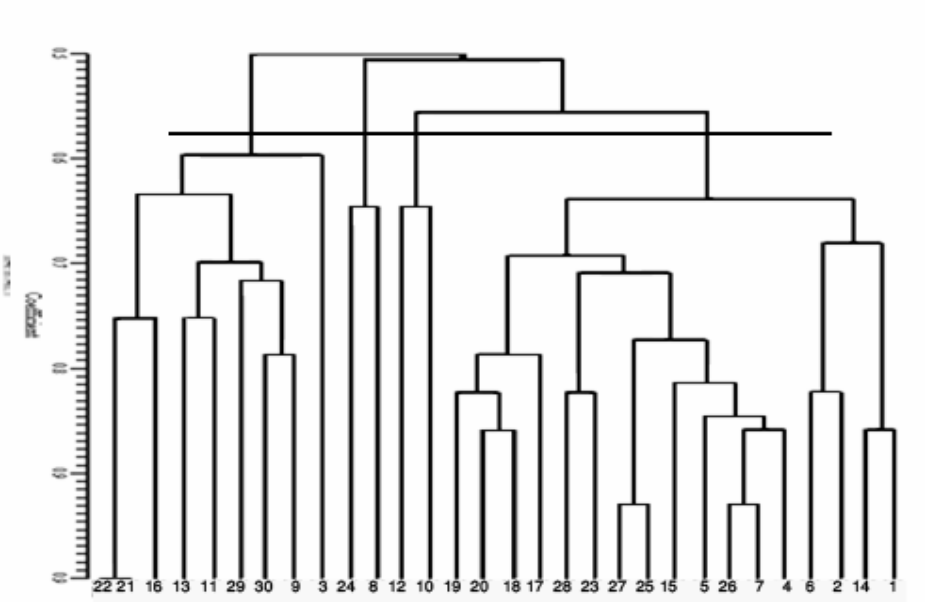
هدف از تجزیه کلاستر، گروه بندی افراد مورد مطالعه بر اساس تشابه یا تفاوت‌هایشان می‌باشد. افرادی که در یک گروه قرار می‌گیرند از نظر ژنتیکی مشابه بوده و افرادی که در دو طرف دندروگرام گروه بندی قرار می‌گیرند دارای اختلاف و تفاوت بیشتری از نظر ژنتیکی خواهند بود و از طرف دیگر امکان دورگ گیری بین ارقام با بیشترین تفاوت ژنتیکی، امکان ایجاد هتروزیس بیشتر و یا امکان انتقال صفات نادر را خواهد داشت (۵).

جدول ۵- آغازگرهای RAPD مورد استفاده و توالی آنها در ارزیابی و طبقه بندی ژنوتیپ های برنج مورد مطالعه

ردیف	آغازگر	توالی نوکلئوتیدی (´۳-´۵)	تعداد نوار	ردیف	آغازگر	توالی نوکلئوتیدی (´۳-´۵)	تعداد نوار
۱	OPH-10	CCTACGTCAG	۱۳	۷	OPH-19	GGGAGACATC	۸
۲	OPH-12	ACGCGCATGT	۱۹	۸	OPH-01	GGTCGGAGAA	۱۲
۳	OPH-15	AATGGCGCAG	۱۲	۹	OPH-20	AACGGTGACC	۱۱
۴	OPH-13	GACGCCACAC	۹	۱۰	OPC-08	TGGACCGGTT	۱۲
۵	OPH-18	GAATCGGCCA	۱۲	۱۱	OPH-14	ACCAGGTTGG	۸
۶	OPH-05	AGTCGTCCCC	۸	۱۲	OPB14	TCCGCTCTGG	۷

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]



شکل ۲- دندروگرام ارقام مورد مطالعه برنج براساس الگوی باندی DNA از طریق آغازگرهای تصادفیRAPD (اعداد شماره ژنوتیپ ها).

لذا براساس اطلاعات حاصل از کلاستر داده‌های نشانگر رپید و میزان تشابه آنها براساس جدول ماتریس تشابه، تلاقی بین افراد موجود در یک گروه بهتر است صورت نگیرد چرا که شباهت بیشتری با هم دارند. بنابراین جهت استفاده از تنوع موجود، مثلا می‌توان از ارقامی که در گروه های ۱ و ۴، مانند زیره بندپی و ندا و یا آمل۲ و سنگ جو، قرار گرفته‌اند با توجه به خصوصیات زراعی و مورفولوژیکی مطلوب آنها در برنامه‌های دورگ گیری و غیره استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از پژوهشکده برنج و مرکبات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به خاطر مساعدت در مراحل مختلف اجرای این تحقیق، صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

منابع

1. Aftekharuddaula, K.M., A. Khaleda, M.S. Hassan and K. Fatema. 2002. Genetic divergence, character association and selection criteria in Irrigated Rice. Journal of Biological Science. (2): 243-246.
2. Aghazade-gholaki, R., B. Ghareiazi, G.A. Nematzadeh and N.A. Babaeian. 2003. Classification of some Iranian rice germplasms by use of RAPD marker. Iranian J. Agric. Sci., 34(3): 757-767.
3. Bagheri, N.A., N.A. Babaeian-jelodar and E. Hasan-Nataj. 1387. Genetic diversity of Iranian hermpiasm based on morphoiojcal traits. Journal of researches Agriculturel Iran. (6): 235-243.
4. Bapu, J.R.K. and G. Soundara Pandian. 1992. Grnotypic association and path analysis is F_3 generation of rice crosses. Mddras Agricultural Journal. (79): 619-623.
5. De, R.N., J.N. Reddy, A.V. Suriava and K.K. Mohanty. 1992. Genetic divergence in early rice under two situations. Indian J. Genet., (52): 225-229.
6. Dellaporta, S.L., J. Wood and J.B. Hick. 1983. A plant DNA minipreparation. Plant Mol. Biol. Rep., (1): 19- 21.
7. Delseny, M., J. Salses, R. Cooke, C. Sallaud, f. Regad, P. Lagoda, E. Guiderdoni, M. Ventelon, C. Brugidou and A. Ghesquiere. 2001. Rice genomics Present and future. Plant Physiol. Biochem. (39): 323-334.
8. Edwards, K.J., A. Karp, P.G. Isaac and D.S. Ingram. 1998. Randomly amplified polymorphic DNAs (RAPDs). In Molecular toods for screening biodiversity. Chapman and Hall. (3): 171-175.
9. Fukuoka, S., K. Hosaka and O. Kamijima. 1992. Use of Random Amplified Polymorphic DNAs(RAPDs) for identification of rice accessions. Jap. J. Genet. (67): 243-252.
10. Hajiamiri, M. 2008. A Study of Correlation between some quantitative traits and grain yield rice (*Oryza sativa* L.) using with path analysis. Thesis, Agriculture of Mazandaran. 132 pp.
11. Mishra, S.B. and S.P. Saha. 1994. Studhes on genetic diveregence in five Iandraces of rice in North Bihar. Annals of Agricultural Reserch. (15): 217-221.
12. Nandakumr, N., A. Singh, K. Sharma, R.K. Mohapara, T.K.V. Prabhu and F.U. Zaman. 2004. Molecular fingerprinting of hybrids and assessment of genetic purity of hybrid seeds in rice using microsatellite markers. Euphytica. (136): 257-264.
13. Ravi, M., S. Geethanjali, F. Sameeyafarheen and M. Maheswaran. 2003 Molecular marker based genetic diversity analysis in rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and SSR markers. Euphytica. (133): 243-252.
14. Walton, P.D. 1971. The use of factor analysis in determining characters for yield selection in wheat. Euphytica. (20): 416-421.
15. Xiao, J., J. Li, L. Yuan, S.R. McCouch and S.D. Tanksley. 1996. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR based markers in rice. Theoretical and Applied Genetics. (92): 637-643.
16. Xu, W., S.S. Virmani, J. Hernandez, L.S. Sebastian, E.D. Redona and Z. Li. 2002. Genetics diversity in the parental lines and heterosis of tropical rice hybrids. Euphytica. (127): 139-178.
17. Zhang, J. Z., L.J. Fang and Y.W. Yuan. 1997. Study on the application of genetic distance to the selection of Honglian type restorers in hybrid rice. Gunangdong Agricural Science. (10): 131-152.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]

Study of Variation and Genetic Relationships Among Some Rice Varieties Via Agronomic Traits and RAPD Markers

A.A. Babajanpour[1], G.A. Nematzadeh[2], E. Majidi[3], A. Ebrahimi[4], A. Hajipour[5], S.H.R. Hashemi[5] and S.M. Alavi[5]

Abstract

Identification of rice germplasm is necessary for aplication of genetic resources for rice breeding. In this purpose 30 rice genotypes evaluated based on important agronomic traits and RAPD markers. The maximum variation coefficient belonged to unfilled grain (76.6%) and minimum to panicle iength (18.46%). results of Euclidean similarity coefficient and UPGMA algorithm indicated 3 distanced groups. The maximum similarity related between Sang-Joe and Domsia (69%) and the minimum to the Sang-Tarom and Binam genotypes (10.01%). Towelve RAPD primers out of 24 primers indicated suitable polymorphism and its cluster analysis also shown 4 groups that Amol2 with Haraz with maximum similarity (94.2%) and Zire-bandpay with minimum similarity (34.2%).

Keywords: Rice,Variation, Genetic relationships, Agronomic traits, Molecular RAPD markers

1- M.Sc. Student, Islamic Azad University, Sciences and Research, Tehran Branch
2- Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
3- Professor, Islamic Azad University, Sciences and Research, Tehran Branch
4- Assistant Professor, Islamic Azad University, Sciences and Research, Tehran Branch
5- M.Sc., Rice and Citrus Research Institute, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

[DOR: 20.1001.1.22286128.1388.1.3.4.8]