



تعیین روابط ژنتیکی برخی ژنوتیپ‌های برنج بر اساس صفات مهم تغذیه‌ای

راویه حیدری^۱، نادعلی باقری^۲، نادعلی بابائیان جلودار^۳ و حمید نجفی زرینی^۴

۱-۳، ۴- دانشجوی دکترای اصلاح نباتات، استاد و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- استادیار گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: nadali.bagheri@yahoo.com)
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۳
صفحه: ۱۰۵ تا ۱۱۴

چکیده

در تحقیق حاضر به منظور بررسی صفات مهم تغذیه‌ای مثل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنل، کارتنوئید، کربوهیدرات محلول و نامحلول و میزان آهن و روی، ۳۵ ژنوتیپ مختلف برنج از ژنوتیپ‌های بومی و خارجی انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در سه گروه قرار داد که صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با تجزیه تابع تشخیص ۹۴/۳ درصد بدست آمد. در این گروه‌بندی با توجه به میانگین هر گروه و درصد انحراف از میانگین کل، گروه‌های مطلوب و نامطلوب شناسایی و کمترین شباهت بین گروه‌های دو و سه مشاهده شد که نشان از اختلاف بین این دو گروه داشت، که گروه سوم با ژنوتیپ‌های فجر، غریب، اوندا و IR64724-67-2-1-2-2R مطلوب‌ترین و گروه دوم با ژنوتیپ‌هایی مثل آمل ۲، دانش، صدری، موسی طارم و سپیدرود، نامطلوب از نظر ارزش تغذیه‌ای در این تحقیق شناخته شدند. لذا می‌توان پیشنهاد نمود که بتوان برای انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی و دورگ‌گیری از این دو گروه استفاده نمود. نتایج تجزیه عاملی به روش مولفه‌های اصلی، چهار عامل اصلی و مستقل که ۷۶/۶۰۵ درصد واریانس را توجیه می‌کردند، را مشخص نمود. عامل اول با دارا بودن ۲۷/۵۴۲ درصد از واریانس کل به عامل کربوهیدرات و روی و عامل دوم، سوم و چهارم هم با اختصاص ۱۸/۱۶۹، ۱۶/۱۴۸ و ۱۴/۷۴۵ درصد به ترتیب به عنوان عامل فنلی، عامل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عامل آهن نام‌گذاری شدند.

واژه‌های کلیدی: برنج، تجزیه عاملی، تابع تشخیص، روابط ژنتیکی، صفات تغذیه‌ای

مقدمه

در کشورهای آسیایی پرجمعیت به خصوص بنگلادش، چین، هند، اندونزی، ایران، ژاپن، کره، پاکستان و سریلانکا برنج مهم‌ترین غذا می‌باشد (۱۱). بر اساس گزارش سازمان خواروبار جهانی (FAO) در سال ۲۰۱۲، سهم برنج در تامین کالری مردم آسیا بیشتر از متوسط جهانی بوده و حدود ۳۱ درصد می‌باشد. بنابراین سرمایه‌گذاری در زمینه افزایش کمیت و کیفیت برنج از طریق روش‌های مختلف به‌زراعی و به‌نژادی در استقلال اقتصادی و سیاسی کشور، نقش بسیار موثری خواهد داشت (۳). مطالعه روابط ژنتیکی، پیش‌نیازی برای اصلاح گیاهان زراعی و هم‌چنین حفظ و نگهداری منابع ژنتیکی است (۱۳). میزان موفقیت در یک برنامه اصلاحی و برنامه‌های انتخاب به دو عامل وجود تنوع ژنتیکی و انتخاب موثر ژنوتیپ‌های مطلوب بستگی دارد (۱۷)، که شناخت تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ذخایر توارثی یکی از فعالیت‌های مهم در زمینه به‌نژادی و حفظ ذخایر ژنتیکی در گیاهان است (۷). از این جهت که آگاهی از تنوع در گونه‌های گیاهی با انتخاب والدین مناسب در دورگ‌گیری‌ها و تولید نتایج مناسب در ارتباط می‌باشد (۱۵). در هر برنامه اصلاحی برای رسیدن به لاین یا لاین‌های جدید، خصوصیات زراعی متعددی توسط اصلاح‌گران ارزیابی می‌شوند که ممکن است تعدادی از آن‌ها در مدیریت، نگهداری و ارزیابی ژرم‌پلاسم دارای توان ممیزی بالایی نباشند. در چنین مواردی استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره مثل تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی می‌تواند برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و کاهش متغیرهای اولیه به چند عامل یا فاکتور مستقل از یکدیگر در ارزیابی ژرم‌پلاسم و کلکسیون موجود مفید و موثر باشد (۱۹) و در تعیین روابط

ژنتیکی کمک شایانی نماید. در سال ۱۹۹۲، محققین موسسه تحقیقات برنج ابری (IRRI) اقدام به ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۱۳۸ ژرم‌پلاسم برنج از نظر میزان عناصر آهن و روی در دانه نمودند که ژرم پلاسم مورد آزمون تنوع ژنتیکی بزرگی از نظر محتوای آهن و روی در دانه برنج قهوه‌ای نشان داد، در این تحقیق بطور متوسط میزان آهن در دانه حدود ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم و میزان روی ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بدست آمد. به دنبال آن به این نتیجه رسیدند که می‌توان صفت آهن و روی بالا را با صفات زراعی بهبود یافته ترکیب نمود. در این آزمایش مشخص شد که سه گروه ژنی با محتوای آهن بالا در ارتباط هستند که این گروه‌های ژنی روی کروموزوم‌های هفت، هشت و نه قرار دارند و سه گروه ژنی هم برای صفت عطر شناسایی شد که روی کروموزوم‌های پنج، هفت و هشت قرار دارند. بنابراین دو گروه ژنی برای آهن بالا و عطر روی کروموزوم‌های مشترک هفت و هشت قرار دارند که اگرچه مکان آن‌ها روی کروموزوم متفاوت است اما پیوستگی اندکی با هم دارند (۸). ابوطالبی و همکاران (۱) تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت ۵۰ رقم برنج با استفاده از ۴۰ نشانگر ریزماهوره مرتبط با آهن و روی را مورد ارزیابی قرار دادند. در ارزیابی تجزیه ساختار، ارقام به دو زیرجمعیت تقسیم شدند، زیرجمعیت اول شامل ارقام بومی و دوم شامل ارقام اصلاحی و خارجی بودند. در تجزیه واریانس مولکولی، واریانس درون جمعیتی بیشتر از واریانس بین جمعیتی بوده و حداقل فاصله ژنتیکی بین ارقام اصلاحی و خارجی و حداکثر آن بین ارقام بومی و خارجی مشاهده شد. بر اساس تجزیه خوشه‌ای نیز ارقام بومی در گروه مجزایی نسبت به سایر ارقام قرار گرفتند و عنوان داشتند که این نتایج می‌تواند

طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی را برداشته و با محلول DPPH به حجم ۱۰۰۰ رسانده شد و بعد نیم ساعت ماندن در تاریکی قرائت انجام شد. در نهایت فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره به صورت درصد مهارکنندگی DPPH با استفاده از رابطه زیر بدست آمد:

$$\text{DPPH}(\%) = 1 - \frac{A_{517\text{nm}} \cdot \text{sample}}{A_{517\text{nm}} \cdot \text{control}} \times 100$$

محتوای فنل دانه بر اساس روش رنگ سنجی فولین - سیکالچو (۴) اندازه‌گیری شد. مقدار ۶۰ میکرولیتر از عصاره متانولی را برداشته و به آن مقدار یک میلی‌لیتر معرف فولین و بعد از گذشت چند دقیقه مقدار یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه گردید و به مدت دو ساعت ماندن در دمای اتاق و تاریکی در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت توسط دستگاه انجام گرفت. مقدار فنل کل با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک و برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم آرد بدست آمد.

برای اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید از روش لیچتن‌تالر (۱۲) در سه طول موج مختلف ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر استفاده شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم بذر برنج را پودر و با استون ۸۰ درصد خوب مخلوط کرده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار داده و بعد از آن به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۰ هزار سانتیفریوژ کرده و از فاز رویی برای محاسبه کاروتنوئید برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده گردید. بپرا سنجش میزان کربوهیدرات محلول از روش فنل - سولفوریک در طول موج ۴۸۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر و با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز استفاده شد. به این صورت که ابتدا میزان ۰/۱-۰/۵ گرم نمونه در اتانول ۷۰ درصد حل و به مدت یک هفته در یخچال قرار گرفت. بعد از یک هفته از محلول رویی برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول (۱۰) و از بخش ته‌نشین شده برای اندازه‌گیری کربوهیدرات نامحلول استفاده شد (۹).

برای سنجش میزان آهن و روی در دانه‌ی برنج از روش هضم به روش سوزاندن خشک و ترکیب با اسید هیدروکلریدریک (۲۴۶) با دستگاه جذب اتمی استفاده گردید. به این صورت که ابتدا میزان ۰/۵ گرم از هر نمونه وزن شده و در کوره الکتریکی به مدت ۵ ساعت در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و به خاکستر تبدیل شد. سپس خاکستر در اسید هیدروکلریدریک هضم شده و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسید و بعد از عبور از صافی، عصاره بدست آمده جهت قرائت در دستگاه جذب اتمی قرار گرفت. عدد حاصل از دستگاه در فرمول زیر برای محاسبه میزان آهن و روی برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار گرفت.

$$c = \frac{a \times v \times d}{m \times Dm}$$

جهت طراحی برنامه‌های به‌نژادی آهن و روی دانه و گسترش پایه‌های ژنتیکی ارقام برنج استفاده شود. ساختار مورفولوژیک و فیزیوشیمیایی دانه در ۹۴ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۲۴ صفت مورفولوژیک و فیزیوشیمیایی دانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق تجزیه خوشه‌ای با روش دورترین همسایه‌ها و فاصله اقلیدوسی منجر به گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف برنج در نه گروه متفاوت با احتمال صحت ۹۲/۶ درصد شد. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند برای انتخاب هدفمند والدین مناسب از گروه‌های مختلف به‌منظور تولید رقم‌های جدید در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد (۲). برخی ارقام برنج تجاری خارجی با هدف بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین، شناسایی و گواهی روابط ژنتیکی میان آن‌ها با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مورد مطالعه قرار گرفتند. پارامترهای فاصله و تنوع ژنتیکی بین ارقام نشان از وجود تنوع محدودی میان آن‌ها بود. تجزیه خوشه‌ای، ارقام را بر اساس نوع دانه و شجره مورد گروه‌بندی قرار داد. نتایج نشان داد که شناسایی و گواهی ارقام با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره می‌تواند مکمل خوبی برای داده‌های زراعی - مورفولوژیک موجود باشد، زمانی که ارقام دارای ارتباط نزدیک با هم باشند (۵). رشیدی و همکاران (۱۸) به‌منظور تعیین روابط ژنتیکی صفات مورفولوژیک ۶۴ ژنوتیپ گندم دوروم شامل ۵۸ ژنوتیپ غیربومی و ۶ ژنوتیپ بومی آزمایشی را به اجرا درآوردند. نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده‌ها نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار وجود داشت، که حاکی از وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. جهت تعیین روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (ward) انجام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی به پنج گروه تقسیم شدند. ژنوتیپ‌های بومی در یک گروه قرار گرفتند و بقیه ژنوتیپ‌ها به چهار گروه منتسب شدند، که نشان‌دهنده قرابت ژنتیکی لاین‌های بومی با همدیگر و فاصله ژنتیکی آن‌ها با لاین‌های غیربومی بود. برخی از گروه‌ها برای بعضی صفات ارزش بالاتر از میانگین داشتند که می‌توان از ژنوتیپ‌های آن گروه برای بالابردن ارزش آن صفت در دورگ‌گیری‌های احتمالی استفاده کرد. هدف از تحقیق حاضر تعیین روابط ژنتیکی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از صفات مهم تغذیه‌ای دانه برای انتخاب والدین مناسب جهت استفاده در برنامه‌های دورگ‌گیری و تلاقی بود.

مواد و روش‌ها

مواد آزمایشی

بذر ۳۵ ژنوتیپ مختلف برنج در اردیبهشت ۱۳۹۴ از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه گردید (جدول ۱) و با دستگاه پوست‌کن، پوست آن‌ها جدا و سپس پودر شده و برای اندازه‌گیری صفات تغذیه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در آزمایشگاه مورد استفاده قرار گرفتند. صفات تغذیه‌ای و روش اندازه‌گیری آن‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی دانه: اندازه‌گیری بر اساس خاصیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره و به روش مولینوکس (۱۶) در

تجزیه آماری

از نرم افزار SAS برای تجزیه واریانس و محاسبه آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه در تحقیق و از نرم افزار SPSS برای تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به روش حداقل واریانس وارد (ward) و انجام تجزیه تابع تشخیص برای تعیین تعداد مناسب گروه در تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به عامل‌ها به روش مولفه‌های اصلی برای گروه‌بندی و تأیید روش خوشه‌ای استفاده گردید.

در این رابطه، c: غلظت عنصر موردنظر، a: مقدار عددی بدست آمده از دستگاه برحسب میلی گرم بر میلی لیتر، v: حجم نهایی محلول جهت آنالیز عنصر برحسب میلی لیتر، d: فاکتور رقت (اگر رقیق شدنی صورت نگیرد این مقدار برابر یک می‌باشد)، m: جرم پودر گیاهی توزین شده برای تهیه خاکستر و محلول برحسب گرم و Dm: درصد ماده خشک پودر گیاهی می‌باشند.

جدول ۱- نام و منشأ ژنوتیپ‌های برنج مورد استفاده

شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	منشا	شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	منشا
۱	بینام	بومی	۱۹	آبجی بوچی	بومی
۲	طارم محلی	بومی	۲۰	سنگ جو	بومی
۳	طارم هاشمی	بومی	۲۱	امل ۲	اصلاحی
۴	طارم امراللهی	بومی	۲۲	دشت	اصلاحی
۵	حسینی	بومی	۲۳	سپیدرود	اصلاحی
۶	دیلمانی	بومی	۲۴	کوهسار	اصلاحی
۷	سنگ طارم	بومی	۲۵	ندا	اصلاحی
۸	شصتک محمدی	بومی	۲۶	فجر	اصلاحی
۹	طارم نوک سیاه	بومی	۲۷	اوندا	اصلاحی
۱۰	عنبربو	بومی	۲۸	خزر	اصلاحی
۱۱	دم زرد	بومی	۲۹	دانش	اصلاحی
۱۲	طارم صدری	بومی	۳۰	چپش	اصلاحی
۱۳	طارم رشتی	بومی	۳۱	طارم جلودار	اصلاحی
۱۴	غریب	بومی	۳۲	IR68061-273-2-2-3R	ایری
۱۵	موسی طارم	بومی	۳۳	IR64724-67-2-1-2-2R	ایری
۱۶	گرده	بومی	۳۴	IR57301-158-1R	ایری
۱۷	محمدی چپرسر	بومی	۳۵	IR24	ایری
۱۸	طارم دمسیاه	بومی			

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه برای ۳۵ ژنوتیپ برنج در قالب طرح کاملاً تصادفی در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر کلیه صفات اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. ژانگ و همکاران (۲۵) در بررسی میزان پروتئین در ۷۱ لاین حاصل از تلاقی دو وارسته ژاپنی و هندی، تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد گزارش نمودند. شریفی

و همکاران (۲۱) تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های برنج از لحاظ محتوای عناصر مرتبط با کیفیت تغذیه‌ای مثل فسفر، پتاسیم، آهن، روی و منگنز در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد گزارش نمودند که نشان از وجود تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه آن‌ها بود. دامنه تغییرات تفاوت بین حداقل و حداکثر داده‌ها را نشان می‌دهد و نمی‌تواند معیار خیلی مهم تنوع و پراکندگی به‌شمار آید اما می‌توان برای مقایسه اولیه از آن استفاده نمود و یک دید کلی از میزان تفاوت‌های موجود پیدا نمود (۲۰). حداقل، حداکثر و دامنه تغییرات صفات در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس و آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های برنج

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات				
		فعالیت آنتی‌اکسیدانی	محتوای فنل کل	کربوهیدرات محلول	کربوهیدرات نامحلول	میزان آهن
ژنوتیپ	۳۴	۰/۰۶۸*	۲۳۸۳/۸۷*	۸۱۹/۴۷*	۲۸۸۱/۶۴*	۳۱۱۰/۶۶*
خطا	۷۰	۰/۰۰۱	۰/۰۹	۰/۴۶	۰/۰۷	۴/۷۷
ضریب تغییرات		۷/۴۶	۰/۰۸	۰/۸۹	۰/۳۰	۳/۸۳
میانگین		۰/۴۴	۳۷۰/۶۶	۷۵/۵۶	۹۰/۲۵	۵۶/۹۴
حداقل		۰/۱۷	۳۳۴/۸۴	۴۵/۴۰	۴۵/۶۴	۲۲/۰۱
حداکثر		۰/۸۵	۴۸۳/۳۲	۱۱۹/۸۰	۱۹۵/۱۲	۱۱۶/۰۰
دامنه تغییرات		۰/۶۸	۱۴۸/۴۸	۷۴/۴	۱۴۹/۴۸	۹۳/۹۹
انحراف معیار		۰/۱۵	۲۷/۹۱	۱۶/۳۷	۳۰/۶۹	۳۱/۹۴
میزان کارتنوئید						۱۶۰/۴۸*
میزان روی						۰/۰۶
میزان کلسیم						۰/۷۷
میزان پتاسیم						۳۲/۸۸
میزان فسفر						۱۹/۶۱
میزان منگنز						۴۸/۵۵
میزان روی						۲۹/۳۹
میزان کلسیم						۷/۲۴
میزان پتاسیم						۰/۵۹
میزان فسفر						۰/۰۲
میزان منگنز						۵/۲۹

گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه

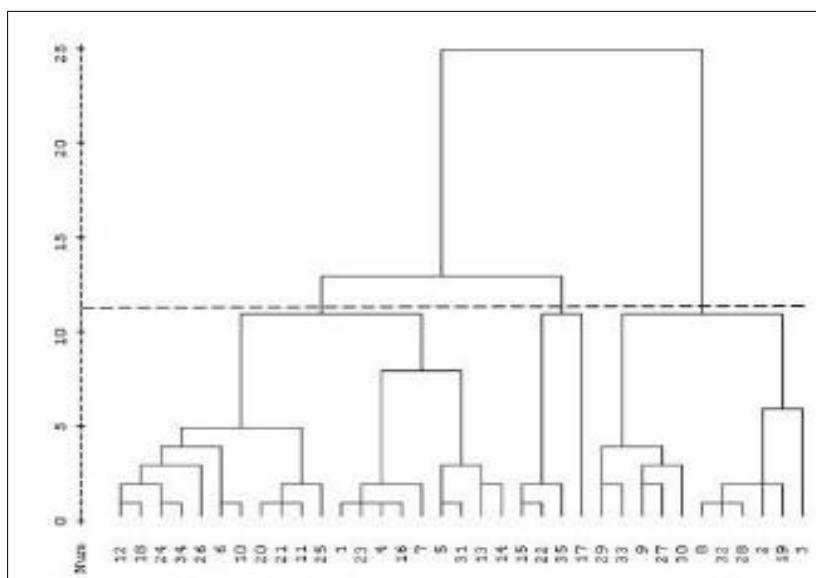
محققین جهت انتخاب بهترین والدین برای انجام تلاقی، در پی یافتن ارقام یا ژنوتیپ‌هایی هستند که از نظر ژنتیکی از هم دور باشند که این موضوع مهم می‌تواند از طریق بررسی فاصله بین ژنوتیپ‌ها براساس صفات با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بدست آید. جهت تعیین روابط ژنتیکی مورد بررسی بر اساس صفات تغذیه‌ای از تجزیه خوشه‌ای بر مبنای روش وارد استفاده شد. براساس نتایج حاصل (شکل ۱) ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه به ۳ گروه تقسیم گردیدند. برای مشخص نمودن میزان تاثیر هر یک از صفات مورد بررسی در تمایز کلاس ژنوتیپ‌ها، میانگین هر صفت و درصد انحراف از میانگین کل برای همان صفت، در هر یک از گروه‌ها محاسبه گردید. نتایج در جدول ۳ ارائه شده است. انحراف از میانگین کل برای هر صفت در هر یک از گروه‌ها تا حدودی می‌تواند بیانگر تنوع ژنوتیپ‌ها در این بررسی باشد. اگر میانگین یک صفت در یک گروه، از میانگین کل آن صفت بالاتر باشد، آن گروه از نظر ارزش بیشتر از متوسط ژنوتیپ‌ها خواهد بود (۱۸). نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای به صورت زیر می‌باشد:

گروه اول: ۲۰ ژنوتیپ در این گروه قرار گرفت که از نظر صفات فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل دانه، کارتنوئید کل و کربوهیدرات محلول از میانگین بالاتری نسبت به میانگین کل ژنوتیپ‌ها برخوردار بود ولی برای سایر صفات کمتر از میانگین کل می‌باشند. بنابراین برای بالا بردن این ارزش‌های تغذیه‌ای می‌توان ژنوتیپ‌های خوبی از این گروه را به‌عنوان والد جهت دورگ‌گیری انتخاب نمود.

گروه دوم: این گروه مشتمل بر ۱۱ ژنوتیپ مختلف می‌باشد که برای صفات کارتنوئید و محتوای آهن از میانگین بالاتری از میانگین کل ژنوتیپ‌ها برخوردار می‌باشند. بنابراین از ژنوتیپ‌های این گروه در ارتباط با همین صفات می‌توان

استفاده نمود اما برای سایر صفات مهم تغذیه‌ای ارزش بالایی نداشت.

گروه سوم: شامل فقط ۴ ژنوتیپ می‌باشد. از نظر اکثر صفات مهم تغذیه‌ای بجز کارتنوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل دانه از ارزش بالاتر از میانگین کل ژنوتیپ‌ها برخوردار می‌باشد، که می‌توان برای بالا بردن ارزش صفات فوق در دورگ‌گیری‌ها، والدین مطلوب را از این گروه انتخاب نمود. در نهایت با توجه به این گروه‌بندی بهترین گروه را می‌توان گروه سوم در نظر گرفت، چون از نظر اکثر صفات تغذیه‌ای مهم دارای مقادیر بالایی بود و از طرفی از نظر کربوهیدرات نامحلول که یک صفت تغذیه‌ای نامطلوب می‌باشد و در دو گروه دیگر مقدار بالایی داشت، در این گروه از کمترین مقدار دارا می‌باشد که این گروه را به گروه مطلوبی از نظر این صفات تغذیه‌ای تبدیل نموده است. گروه دوم را هم بخاطر اینکه از نظر اکثر صفات دارای کمترین مقدار بوده به گروه نامطلوب تلقی نمود. می‌توان پیشنهاد نمود که از ژنوتیپ‌های این دو گروه جهت دورگ‌گیری برای بالا بردن ارزش تغذیه‌ای در برنج برای برنامه‌های تلاقی تولید برنج هیبرید استفاده نمود. رشیدی و همکاران (۱۸) جهت تعیین روابط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه خود از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (ward) استفاده و ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به ۵ گروه تقسیم نمودند. همه ژنوتیپ‌های بومی در یک گروه و سایر ژنوتیپ‌ها در ۴ گروه قرار گرفتند که نشانگر قرابت ژنتیکی لاین‌های بومی با همدیگر و فاصله آن‌ها از لاین‌های غیربومی بود. همین‌طور برخی از گروه‌ها برای بعضی صفات مورد مطالعه آن‌ها (صفات موفولوژیکی)، ارزش بالاتر از میانگین داشتند عنوان شد از ژنوتیپ‌های آن گروه برای بالا بردن ارزش آن صفات در دورگ‌گیری‌های احتمالی استفاده شود.



شکل ۱- دندروگرام تعیین فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های برنج براساس صفات مورد مطالعه با روش ward

Figure 1. The dendrogram of genetic distance determining for rice genotypes based on studied traits with ward method

جدول ۳- تعداد گروه‌ها و اعضای هر گروه همراه با میانگین و درصد انحراف از میانگین کل برای صفات مورد مطالعه
Table 3. The number of groups and members of each group with mean and deviation percent of total mean for the studied traits

گروه	شماره ژنوتیپ	فعالیت آنتی اکسیدانی	محتوای فنل	محتوای کارتنوئید	کربوهیدرات محلول	کربوهیدرات نامحلول	محتوای آهن	محتوای روی	صفت
۱	۳۵، ۱۱، ۳۰، ۹	۰/۴۸۴۴	۳۷/۰۰۹۳	۰/۹۱۴۰	۸۰/۲۸۲۳	۷۹/۸۸۲۵	۳۷/۵۸۳۴	۳۳/۴۷۹	میانگین
	۱، ۱۸، ۳۲، ۲۴	۰/۰۶۷۷	-۰/۵۸۶۲	-۰/۰۵۶۹	۱/۵۸۱۷	-۵/۹۵۵۳	-۳۲/۶۱۵۴	-۱/۰۰۹۱	انحراف از میانگین
۲	۱۶، ۳، ۳۴، ۲۵	۰/۴۰۴۳	۳۷/۰۳۱۴	۱/۰۶۱۹	۵۹/۴۷۰۹	۱۲۱/۶۱۶۷	۷۹/۵۴۳۲	۲۸/۷۶۲۳	میانگین
	۸، ۱۰، ۲، ۵	-۰/۰۱۲۴	-۰/۵۶۴۱	-۰/۲۰۴۸	-۱۹/۲۳۰۷	۳۵/۷۷۹۸	۹/۳۴۴۴	-۵/۷۲۴۸	انحراف از میانگین
۳	۱۳، ۲۳، ۲۹	۰/۳۶۱۶	۳۸/۷۴۵۹	۰/۵۹۵۵	۹۶/۳۵۰۷	۵۶/۰۱۳	۹۳/۴۶۹۸	۴۱/۲۲۲۱	میانگین
	۱۹، ۲۸، ۱۸	-۰/۰۵۵۱	۱/۱۵۰۴	-۰/۲۶۱۶	۱۴/۶۴۹۱	۲۹/۸۲۴۸	۲۳/۲۷۱	۶/۷۳۴	انحراف از میانگین
کل	۱۲، ۲۰	۰/۴۱۶۷	۳۷/۵۹۵۵	۰/۸۵۷۱	۷۸/۷۰۱۶	۸۵/۸۳۷۸	۷۰/۱۹۸۸	۳۴/۴۸۸۱	میانگین کل گروه‌ها

مطالعه، ۳۳ ژنوتیپ به درستی و دو ژنوتیپ اشتباه گروه‌بندی شد و در نهایت صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای با روش تابع تشخیص ۹۴/۳ درصد شد (جدول ۵).
اله‌قلی‌پور و همکاران (۲) خصوصیات مرفولوژیکی و فیزیکی‌شیمیایی دانه در ۹۴ ژنوتیپ برنج با استفاده از ۲۴ صفت را مورد ارزیابی قرار دادند. در این تحقیق تجزیه خوشه‌ای منجر به گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف برنج در نه گروه متفاوت با احتمال صحت ۹۲/۶ درصد شد. نتایج حاصل از این مطالعه پیشنهاد گردید که برای انتخاب هدفمند والدین مناسب از گروه‌های مختلف به‌منظور تولید رقم‌های جدید در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.

صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای با روش تابع تشخیص

برای بررسی صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای، از تابع تشخیص به روش خطی فیشر استفاده شد. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود دو تابع تشخیص کانونی به ترتیب با ۸۵ و ۱۵ درصد از واریانس و در مجموع با ۱۰۰ درصد تنوع موجود را توجیه نمودند. طبق نتایج تابع تشخیص از ۲۰ ژنوتیپ گروه اول، ۱۹ ژنوتیپ به‌درستی و تنها یک ژنوتیپ به اشتباه گروه‌بندی شد. همچنین ۱۱ ژنوتیپ موجود در گروه دو به درستی در این گروه قرار گرفت. در گروه سوم نیز از چهار ژنوتیپ، سه ژنوتیپ به درستی و یک ژنوتیپ به اشتباه گروه‌بندی شد. در مجموع از ۳۵ ژنوتیپ مورد

جدول ۴- نتایج تابع تشخیص خطی فیشر براساس گروه‌بندی اولیه حاصل از تجزیه خوشه‌ای
Table 4. Results of Fisher linear discriminant function based on primary grouping of cluster analysis

تابع تشخیص کانونی	مقادیر ویژه	واریانس (درصد)	واریانس تجمعی (درصد)	همبستگی کانونی
۱	۷/۱۲۶	۸۵	۸۵	۰/۹۳۶
۲	۱/۲۵۹	۱۵	۱۰۰	۰/۷۴۷

جدول ۵- درصد موفقیت ژنوتیپ‌های برنج در هر گروه با تابع تشخیص
Table 5. The success percentage of rice genotypes in each group using discrimination function

گروه‌ها	تعداد ژنوتیپ‌ها در هر گروه	صحت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در هر گروه
۱	۲۰	۱۹ %۹۵
۲	۱۱	۱۱ %۱۰۰
۳	۴	۳ %۷۵ %۹۴/۳

سری عامل‌های کوچکتر با کمترین میزان ریزش اطلاعات تبدیل می‌کند (۱۴). بر اساس نتایج تجزیه عاملی، چهار عامل اصلی و مستقل با مقادیر ویژه بیش از یک استخراج شد که بعد از چرخش وریماکس توانست ۷۶/۶۰۵ درصد از تنوع کل داده‌ها را توجیه نمایند. مقادیر ویژه و میزان واریانس توجیه

تجزیه عاملی برای صفات ارزش تغذیه‌ای دانه برنج یک شیوه آماری جهت تحلیل روابط همبستگی میان گروه بزرگی از متغیرها و توصیف این متغیرها بر اساس ابعاد مشترک پنهان، تجزیه عاملی است، که به بیان اطلاعات موجود در تعدادی متغیر اصلی می‌پردازد و آن‌ها را به یک

نظر میزان هر دوی این صفات ضرایب بالایی داشتند که شامل ژنوتیپ‌های عنبربو، دشت، دیلمانی، دم‌زرد می‌باشد و ناحیه سوم که ناحیه نامطلوب از نظر این صفات می‌باشد شامل ژنوتیپ‌های آبجی‌بوچی، چپرسر، آمل ۲، خزر و غیره می‌باشند و همان ژنوتیپ‌های واقع در گروه نامطلوب حاصل از تجزیه خوشه‌ای می‌باشد. در شکل ۴ عامل اول و عامل چهارم آهن می‌باشند که ژنوتیپ‌های واقع در ناحیه اول بهترین ژنوتیپ‌ها به لحاظ میزان بالای این صفات می‌باشند که شامل کوهسار، فجر، طارم محلی و غیره بودند و ژنوتیپ‌های واقع در ناحیه سوم (شامل سیدرود، دانش، خزر، موسی طارم) از نظر این دو صفت مقدار پایینی را دارا می‌باشند.

بر اساس نتایج این تحقیق با تقویت تمام عامل‌ها می‌توان به تیپ ایده‌آل جهت رسیدن به ژنوتیپ با ارزش تغذیه‌ای بالا نزدیک گردید ولی نتایج تجزیه به عامل‌ها در این تحقیق تنها ایده‌ای کلی می‌دهد. طبق نتایج تجزیه خوشه‌ای، بهترین گروه، گروه سوم بود که شامل چهار ژنوتیپ فجر، اونداء، غریب و IR64724-67-2-1-2-2R بود. این ژنوتیپ‌ها در تمامی نمودارهای پراکنش حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی در کنار هم قرار گرفتند و همین‌طور ژنوتیپ‌های واقع در گروه نامطلوب تجزیه خوشه‌ای (گروه دوم) در تمامی نمودارهای حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی در ناحیه سوم و در کنار هم قرار گرفتند، که این ناحیه، ناحیه دارای کمترین ارزش تغذیه‌ای می‌باشد. پس می‌توان عنوان نمود که نتایج حاصل از این تجزیه‌ها تا حدود زیادی با هم مطابقت دارند. لذا می‌توان پیشنهاد نمود که بتوان برای انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی و دورگ‌گیری از این دو گروه استفاده نمود. در تحقیقی که روی ۲۰ واریته گندم از نظر فنل و فلاوونوئید بررسی شد. واریته‌هایی که در کل بیشترین و کمترین میزان این صفات را به خود اختصاص داده بودند معرفی شدند. عنوان شد که این یافته‌ها برای برنامه‌های اصلاحی و انتخاب در جهت اصلاح گندم از نظر این صفات بیوشیمیایی که برای سلامت انسان مفید می‌باشند، اهمیت زیادی دارد (۲۲).

شده و تجمعی و ضرایب عاملی برای هر یک از صفات در جدول ۶ و ۷ آورده شده است. اختصاص صفات به عوامل مختلف بر اساس مقادیر ضرایب عاملی صورت گرفت، به این ترتیب که ضرایب عاملی بزرگتر از نیم صرف‌نظر از علامت مربوطه، به‌عنوان ضرایب معنی‌دار در نظر گرفته شدند (۲۳، ۱۴).

عامل اول دارای ضرایب عاملی بالا در میزان کربوهیدرات محلول و نامحلول و میزان روی می‌باشد که بالا بودن این ضرایب نشان‌دهنده تنوع این صفات در این عامل می‌باشد که ضریب عاملی برای کربوهیدرات محلول و نامحلول به ترتیب مثبت و منفی است که می‌توان اینگونه بیان نمود که ژنوتیپی که دارای مقدار کربوهیدرات محلول بالایی است، کربوهیدرات نامحلول آن پایین می‌باشد. که این عامل به عامل کربوهیدرات و روی نام‌گذاری گردید. عامل دوم، ضرایب مثبت و معنی‌داری از نظر میزان فنل دارا است که به‌عنوان عامل فنلی و به همین ترتیب عامل سوم به عامل فعالیت آنتی‌اکسیدانی و عامل چهارم به عامل میزان آهن نام‌گذاری گردید.

بعد از انجام این تجزیه و گروه‌بندی صفات به کمک عوامل مشترک، بوسیله رسم نمودار پراکنش بر مبنای دو به دوی عامل‌ها، موقعیت هر ژنوتیپ در محور مختصات دو بعدی مشخص شد. در شکل ۲ عامل اول، عامل کربوهیدرات و روی و عامل دوم عامل فنل است همان‌طور که مشاهده می‌شود بهترین ناحیه، ناحیه اول است که دو ژنوتیپ فجر (ژنوتیپ واقع در گروه مطلوب تجزیه خوشه‌ای) و کوهسار در این ناحیه قرار گرفتند. در ناحیه سوم نمودار که میزان کربوهیدرات و فنل در پایین‌ترین مقدار می‌باشد، ژنوتیپ‌هایی قرار گرفتند که در تجزیه خوشه‌ای جزو گروه نامطلوب طبقه بندی شدند و دارای ارزش تغذیه‌ای پایینی بودند که شامل ژنوتیپ‌هایی مثل خزر، آمل ۲، چپرسر، موسی طارم و غیره می‌باشد. در شکل ۳، عامل اول و عامل سوم (فعالیت آنتی‌اکسیدانی) را مشاهده می‌کنید که می‌توان گفت بهترین ناحیه، ناحیه اول است که ژنوتیپ‌های واقع در این ناحیه از

جدول ۶- نتایج تجزیه عاملی به روش مولفه‌های اصلی در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه

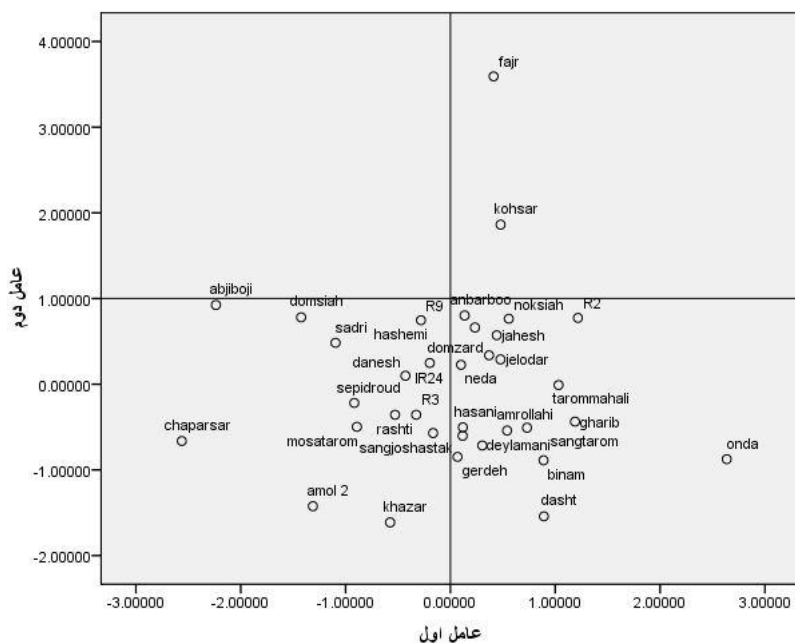
Table 6. Results of factor analysis according to principal component in studied rice genotypes

عامل	مقدار ویژه	واریانس توجیه شده (%)	واریانس تجمعی توجیه شده (%)
۱	۱/۹۲۸	۳۷/۵۴۲	۳۷/۵۴۲
۲	۱/۲۷۲	۱۸/۱۶۹	۴۵/۷۱۱
۳	۱/۱۳۰	۱۶/۱۴۸	۶۱/۸۵۹
۴	۱/۰۳۲	۱۴/۷۴۵	۷۶/۶۰۵

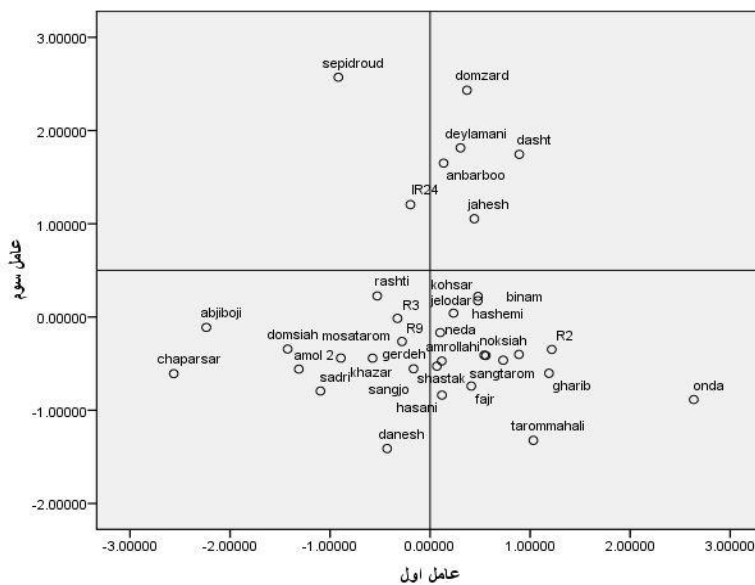
جدول ۷- ضرایب عاملی برای کلیه صفات در ژنوتیپ‌های برنج

Table 7. The factor coefficients for all traits in rice genotypes

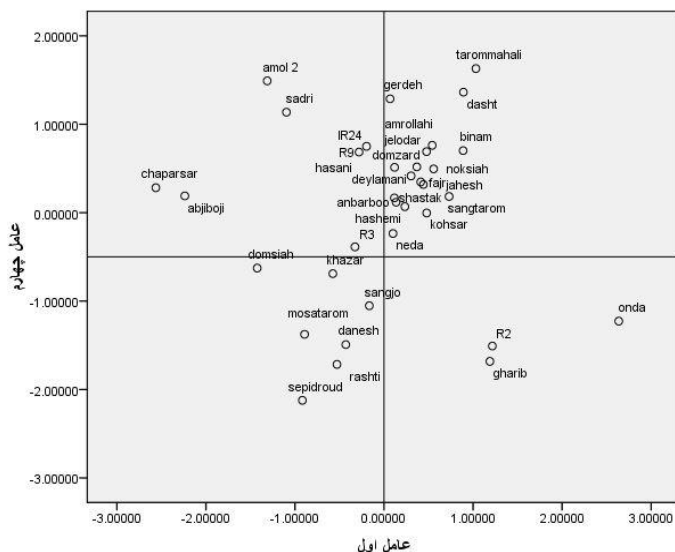
صفت	عامل اول	عامل دوم	عامل سوم	عامل چهارم
فعالیت آنتی‌اکسیدانی	۰/۲۴۵	-۰/۱۰۹	-۰/۶۹۴	۰/۶۰۸
فنل	۰/۳۸۸	۰/۶۶۲	-۰/۱۲۸	-۰/۱۸۱
کارتونوئید	-۰/۴۵۴	-۰/۵۳۳	-۰/۱۱۵	-۰/۴۹۴
کربوهیدرات محلول	۰/۷۳۸	-۰/۵۳۰	۰/۰۶۴	-۰/۰۳۴
کربوهیدرات نامحلول	-۰/۷۲۲	۰/۳۷۹	-۰/۱۹۰	۰/۰۹۰
آهن	-۰/۰۲۶	-۰/۰۷۴	-۰/۷۴۷	۰/۵۳۶
روی	۰/۶۶۷	۰/۳۰۵	-۰/۱۴۵	۰/۲۹۸



شکل ۲- نمودار پراکنش ژنوتیپ‌های برنج براساس عامل اول (کربوهیدرات و روی) و عامل دوم (فنل)
 Figure 2. The plot of rice genotypes on the first factor (carbohydrate and zinc) and second factor (phenol)



شکل ۳- نمودار پراکنش ژنوتیپ‌های برنج براساس عامل اول (کربوهیدرات و روی) و عامل سوم (فعالیت آنتی‌اکسیدانی)
 Figure 3. The plot of rice genotypes on the first factor (carbohydrate and zinc) and third factor (antioxidant activity)



شکل ۴- نمودار پراکنش ژنوتیپ‌های برنج بر اساس عامل اول (کربوهیدرات و روی) و عامل چهارم (آهن)
 Figure 4. The plot of rice genotypes on the first factor (carbohydrate and iron) and fourth factor (iron)

منابع

1. Abutalebi, S.H., M.H. Fotokian and M. Zeinalabedini. 2015. Evaluation of genetic diversity and population structure of rice cultivars using microsatellite markers linked to iron and zinc. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 4: 1-14 (In Persian).
2. Allahgholipour, M., E. Farshadfar and B. Rabiei. 2015. Morphological and physico-chemical diversity in different rice cultivars by factor and cluster analysis. *Journal of Cereal Research*, 4: 293-307 (In Persian).
3. Azizi, H., A. Aalami, M. Esfahani and A.A. Ebadi. 2017. The study of correlation and path analysis of grain yield and its related traits in rice (*Oryza sativa* L.) varieties and lines. *Journal of Crop Breeding*, 9(21): 36-43 (In Persian).
4. Bao, J.S., Y. Cai, M. Sun, G. Wang and H. Corke. 2005. Anthocyanins, flavonols and free radical scavenging activity of chinesebayberry (*Myricarubra*) extracts and their color properties and stability. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53: 2327-2332.
5. Becerra, V., M. Paredes, E. Gutierrez and C. Rojo. 2015. Genetic diversity, identification, and certification of Chilean rice varieties using molecular markers. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 3: 267-274.
6. Chapman, H.D. and P.F. Pratt. 1961. *Methods of analysis for soils, plants and waters*. University of California, Berkeley, CA, USA, 68 pp.
7. Goli, A., I. Jorjani, H. Sabouri and H.A. Fallahi. 2016. Assessment of genetic diversity of facultative wheat genotypes belong to north of Iran using ISSR markers. *Journal of Crop Breeding*, 8(20): 165-174 (In Persian).
8. Gregorio, G.B., D. Senadhira, H. Htut and R.D. Graham. 2000. Breeding for trace mineral density in rice. *Journal Food and Nutrition Bulletin*, 4: 382-386.
9. Khavarinezhad, R. 1999. *Applied plant physiology*. Omid Press, 192-197 (In Persian).
10. Kochert, A.G. 1978. Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. In: Helebus, J.A., J.S. Craigie (eds) *handbook of physiological methods: Physiological and biochemical methods*, Cambridge University Press, Cambridge, 95-97 pp.
11. Kodandaram Reddy, D. and M.G. Bhotmange. 2013. Isolation of starch from rice (*Oryza sativa* L.) and its morphological study using scanning electron microscopy. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 9: 859-866.
12. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes, *Method Enzymol*, 148: 350-382.
13. Mahjoob, B., H. Najafi-Zarini and S.H. Hashemi. 2014. Assessment of genetic relationships among 36 brassica genotypes using ISSR molecular markers. *Journal of Crop Breeding*, 14: 96-106 (In Persian).
14. Moghaddam, M., S.A. Mohammadi and M. Aghaei Sarbarze. 2015. *Introduction to methods of multivariate statistics*. Pariver Press, 280 pp (In Persian).
15. Mohammadi, S.A. and B.M. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and consideration. *Journal of Crop Science*, 43: 1235-1248.

16. Molyneux, P. 2003. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin, Journal of Science Technology*, 2: 211-219.
17. Nasiri, F. and Gh. Saeedi. 2013. Evaluation of genetic diversity in breeding lines of sesame landraces (*Sesamum indicum*). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 4: 659-666 (In Persian).
18. Rashidi, V., I. Majidi, S.A. Mohamadi and M. Moghadam Vahed. 2007. Determine of genetic relationship in durum wheat lines by cluster analysis and identity of morphological main characters in each groups. *Journal of Agricultural Sciences*, 2: 339-449 (In Persian).
19. Raychaudhuri, S., J.M. Stuart and R.B. Altman. 2000. Principal components analysis to summarize microarray experiments: Application to sporulation time series. *Pacific Symposium on Biocomputing*, 455-466.
20. Rezai, A. 2007. Concepts of probability and statistics. Mashhad Press, Mashhad, Iran, 444 pp (In Persian).
21. Sharifi, P. and H. Aminpanah. 2010. Estimation of genetic parameters for a number of nutrient quality traits in rice. *Journal of Crop Breeding*, 2(5): 1-16 (In Persian).
22. Serpen, A., V. Gokmen, A. Karagoz and H. Koksel. 2008. Phytochemical quantification and total antioxidant capacities of emmer (*Triticum dicoccon Schrank*) and einkorn (*Triticum monococcum* L.) wheat landraces. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 56: 7285-7292.
23. Tousi Mojaarad, M., M.R. Ghannadha, M. Khodarahmi and S. Shahabi. 2005. Factor analysis for grain yield and other attributes in bread wheat. *Pajouhsh and Sazandegi*, 66: 9-16 (In Persian).
24. Waling, I., W. Van Vark, V.J.G. Houba and J.J. Van der lee. 1989. Soil and plant analysis, a series of syllabi. Part 7, Plant Analysis Procedures. Wageningen Agriculture University, 197-200.
25. Zhang, W., J. Bi, L. Chen, L. Zheng, S. Ji, Y. Xia, K. Xie, Zh. Zhao, Y. Wang, L. Liu, L. Jiang and T. Wan. 2008. QTL mapping for crude protein and protein fraction contents in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science*, 48: 539-547.

Determination of Genetic Relationships of Some Rice Genotypes Based on Main Nutritional Traits

Ravieh Heydari¹, Nadali Bagheri², Nadali Babaeian Jelodar³ and Hamid Najafi Zarrini⁴

1, 3 and 4- PhD Student of Plant Breeding, Professor and Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran

2- Assistant professor of Department of Plant Breeding, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, (Corresponding author: nadali.bagheri@yahoo.com)

Received: September 10, 2017

Accepted: January 13, 2018

Abstract

In this study, in order to evaluate important nutritional traits such as antioxidant activity, phenol, carotenoid, soluble and insoluble carbohydrates and iron and zinc contents, 35 different genotypes of rice were selected from native and foreign genotypes and evaluated in completely randomized design in 3 Repeats. For the results of cluster analysis, rice genotypes were classified in three groups and the grouping accuracy of 94.3 percent was obtained by discriminant analysis. In this grouping, according to mean of each group and percentage of deviation from total mean, appropriate and inappropriate groups were identified and the least amount of similarity was observed between groups two and three, which showed the difference between these two groups, the third group with Fajr, Gharib, Onda and IR64724-67-2-1-2-2R genotypes most appropriate and the second group with genotypes such as Amol 2, Danesh, Sadri, Mosa Tarom and Sepidrud inappropriate for nutritional value were identified in this study. Therefore, it can be suggested that these two groups can be used parents selection in breeding and hybridization programs. In factor analysis, four main and independent factors were identified that contributed 76.605 percent of total variances. The first factor with 27.542 percent of total variances was named as carbohydrate and zinc factors and the second, third and fourth factors with 18.169, 16.148 and 14.745 percent were named as phenol, antioxidant activity and iron factors, respectively.

Keywords: Discriminant analysis, Factor analysis, Genetic relationships, Nutritional traits, Rice