

Study of genetic and geographical variation in rice (*Oryza sativa* L.) using physiological and agronomical traits

قربانعلی نعمت‌زاده^۱، رضا طالبی^۲، زهرا خدارحم‌پور^۳ و غفار کیانی^۴

SPSS

(SES)

()

می‌گردد که نیاز کشور به برنج تا سال ۲۰۲۰ میلادی به حدود چهار میلیون تن برسد (بابائیان جلودار و همکاران، ۱۳۷۸).

موفقیت هر بهنژادگر به تعیین تنوع و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی بستگی دارد. لذا ضروری است که تنوع موجود در جامعه گیاهی مورد مطالعه، به دقت بررسی و از آن استفاده گردد (آقازاده قولکی، ۱۳۷۹).

برنج بعد از گندم از مهم‌ترین غلات به شمار می‌رود و غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان را تشکیل می‌دهد. بیش از ۸۰ درصد کالری و ۷۵ درصد پروتئین مصرفی مردم آسیا از برنج تأمین می‌گردد. برنج غذای اصلی و مهم مردم ایران بوده و مصرف سرانه آن به ۳۸ کیلوگرم در سال می‌رسد. پیش‌بینی

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۲/۱۰/۱۸

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه مازندران- ساری

۴- عضو هیأت علمی دانشگاه مازندران- ساری

تاریخ دریافت: ۳۱۳۸۲/۳/۶

۱- دانشیار دانشگاه مازندران- ساری

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه مازندران- ساری

چو و همکاران (Cho et al., 1999) ۴۸ رقم برنج را با استفاده از نشانگرهای RAPD انگشت‌نگاری کردند. تجزیه و تحلیل آن‌ها نشان داد که از ۱۴۵ باند ایجاد شده، ۱۲۱ باند یا ۸۳/۴ درصد آنها چند شکلی (پلی مورف) ایجاد کردند.

طبق بررسی‌های انجام شده توسط نعمت‌زاده و همکاران (Nematzadeh et al., 1993) در خصوص طبقه‌بندی برنج به کمک مارکرهای آیزوزایم، ۶۰/۲ درصد در گروه ۷ (گروه ارقام کیفی)، ۶/۳ در گروه I (ارقام ایندیکا) و ۶/۳ در گروه VI (گروه ژاپونیکا) و بقیه ارقام (۲۷/۲ درصد) در هیچ یک از گروه‌های ۶ گانه تقسیم‌بندی کلازمن قرار نگرفتند.

زینلی‌نژاد و همکاران (۱۳۷۸) ۱۰۰ ژنوتیپ برنج را با استفاده از ۱۴ صفت زراعی مورد ارزیابی قرار دادند. دندروگرام به دست آمده با استفاده از صفات زراعی نشان داد که ارقام مطالعه شده در فاصله ژنتیکی ۱۵ در چهار گروه قرار می‌گیرند. ارقام محلی شمال کشور در گروه ۱، ارقام بومی منطقه اصفهان به همراه تعدادی از ارقام بومی شمال کشور و چند رقم اصلاح شده در گروه ۲، رقم اونداه به همراه برخی از ارقام بومی شمال در گروه ۳ و در نهایت ارقام اصلاح شده پرمحصول مانند ندا، نعمت و سپیدرود در گروه ۴ قرار می‌گیرند.

واعظی (۱۳۷۹) ۵۴ ژنوتیپ برنج را با استفاده از نشانگرهای RAPD (۶۶ نشانگر) و نشانگر مورفولوژیکی (نُه صفت) مورد ارزیابی قرار داد. نتایج به دست آمده نشان داد که از ۶۶ نشانگر مطالعه شده ۱۲ نشانگر دارای پلی مورفسم مطلوبی بودند. دندروگرام به دست آمده با استفاده از نشانگر مولکولی نشان داد که ارقام مطالعه شده در فاصله تشابه ژنتیکی ۱۸ در ۷ گروه قرار می‌گیرند، در حالی که دندروگرام به دست آمده با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی ارقام مورد مطالعه را در فاصله تشابه ژنتیکی ۱۸ فقط در سه گروه قرار داد.

وایرک و همکاران (Virik et al., 2000) توانایی چهار گروه از مارکرهای مولکولی (آیزوزایم‌ها، RAPD،

بابائیان و همکاران (۱۳۷۸) به منظور بررسی تنوع صفات در برنج‌های بومی مازندران تعداد ۱۰۱ رقم و لاین برنج را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج به دست آمده از مطالعات آن‌ها نشان داد که ارقام مورد مطالعه در فاصله تشابه ژنتیکی ده به هفت گروه مشخص تقسیم می‌شوند.

آقازاده قولکی (۱۳۷۹) ۵۶ ژنوتیپ برنج از بانک ژن گیاهی را با استفاده از نشانگر RAPD (۶۶ نشانگر) و نشانگر مورفولوژیکی (۱۵ صفت) مورد ارزیابی قرار داد. نتایج به دست آمده نشان داد که از ۶۶ نشانگر مطالعه شده، ۱۲ نشانگر دارای چند شکلی (پلی مورفسم) مطلوبی بودند و در مجموع از ۱۲۹ باند ایجاد شده ۸۰/۶۲ درصد چند شکلی و ۱۹/۳۸ درصد آن یک شکل (مونومورف) بودند. دندروگرام به دست آمده با استفاده از مارکرهای مولکولی نشان داد که ارقام مطالعه شده در فاصله تشابه ژنتیکی ۲۰ در هفت گروه قرار می‌گیرند، در حالی که دندروگرام به دست آمده با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی ارقام مورد مطالعه را در فاصله تشابه ژنتیکی ۲۰ فقط در سه گروه قرار داد.

فونتز و همکاران (Fuentes et al., 1999) تنوع ژنتیکی در واریته‌های برنج کوبائی را با استفاده از ۶۰ نشانگر تصادفی RAPD مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج به دست آمده میانگین تشابه ژنتیکی بین ۱۸ رقم برنج مورد مطالعه برای داده‌های RAPD، ۷۳ درصد برآورد گردید.

نی و همکاران (Ni et al., 2002) تنوع ژنتیکی ۳۸ رقم برنج، از دو زیر گونه تیپ ایندیکا و ژاپونیکا را بررسی نمودند. آن‌ها در این مطالعه از ۱۱۱ نشانگر میکروساتلایت استفاده کردند، در کل ۷۵۳ باند به دست آمد. لذا متوسط آن برای هر ژنوتیپ ۶/۸ باند برآورد گردید. این مطالعه نشان داد که در داخل تیپ ژاپونیکا تنوع ژنتیکی معنی‌داری در کروموزوم‌های شش و هفت وجود دارد و در کروموزوم دو تنوع بسیار کمی دیده شده است.

گیاهی در سال دریافت گردید. این ارقام در فصل زراعی در مؤسسه تحقیقات برنج کشور (معاونت آمل) کشت گردیدند. برای کشت ارقام ابتدا بذر مورد نظر در اواسط فروردین ماه در خزانه کشت گردید. بعد از مدت ۲۰-۳۰ روز که نشاها به مرحله پنجم تا شش برگی رسیدند به زمین اصلی منتقل شدند و یک هفته بعد از کشت، اولین وجین دستی صورت گرفت. در اوایل مرحله خوشه دهی مقدار ۷۰ کیلوگرم در هکتار کود ازت از منبع اوره و ۳۲ کیلوگرم فسفر از منبع فسفات به صورت سرک به زمین داده شد. نمونه برداری در طول مراحل مختلف رشد انجام پذیرفت. صفات کمی ۴۱۹ رقم برنج بر اساس دستورالعمل استاندارد ایری برای ارزیابی صفات از جمله: طول زبانک، تعداد برگ گیاهچه، طول ساقه، ارتفاع بوته، عرض برگ، طول برگ، تعداد پنجه، قطر ساقه، مدت زمان رسیدگی، مدت زمان ۵۰ درصد گلدهی، طول خوشه، تعداد دانه پوک، تعداد دانه سالم، تعداد کل دانه، درصد پوکی دانه صورت گرفت.

به منظور مشخص کردن میزان خویشاوندی یا فاصله ژنتیکی رقم های مورد بررسی از تجزیه کلاستر و برای گروه بندی از روش واریانس می نیمم وارد استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت.

برای بررسی تنوع جغرافیایی ژرم پلاسم کشور ارقام متعلق به هر استان جدا شد و به ترتیب تجزیه و کلاسترهای مربوطه رسم گردیدند. در نهایت کلاستر کل ارقام مطالعه شده در سطح کشور نیز رسم شد. با توجه به این که ارقام زیادی در کلاستر کل کشور و کلاستر گیلان و مازندران وجود داشت و تعدادی از این ارقام شباهت زیادی داشتند و در یک گروه قرار داشتند، جهت سهولت و جلوگیری از حجیم شدن کار و بزرگ شدن کلاسترهای ذکر شده از آنها نمونه برداری گردید و از هر گروه در هر کلاستر تعدادی نمونه تصادفی انتخاب شد و کلاستر نهائی رسم گردید.

ISSR و AFLP) را جهت تعیین تنوع ژنتیکی بین گونه های مختلف برنج را مورد مطالعه قرار دادند. تمام مارکرهای بررسی شده، برنج های مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم بندی کردند، مطالعات آنها نشان داد که مارکرهای AFLP و آیزوزایم ها بهتر می توانند تفاوت بین گروه های مختلف را مشخص کنند.

تان و همکاران (Than et al., 2000) با استفاده از نشانگر مایکروساتلایت (۱۴ نشانگر) و نشانگر مرفولوژیکی (۱۰ صفت مرفولوژیکی ریشه) ۴۶ ژنوتیپ برنج ویتنام را جهت تعیین تنوع ژنتیکی مورد مطالعه قرار دادند. دندروگرام مربوط به ۳۵ باند مایکروساتلایت و ۱۰ صفت مرفولوژیکی ریشه رسم و با هم مقایسه شدند. نتایج آنها نشان داد که این روش ها می تواند در تعیین و شناسایی لاین های مقاوم به خشکی مفید باشند.

الله قلی پور و همکاران (۱۳۸۱) ۱۰۰ رقم از ارقام بومی خارجی موجود در کلکسیون مؤسسه تحقیقات برنج را به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی و طبقه بندی ارقام جهت تعیین درجه خویشاوندی ژنتیکی مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی تعداد ۲۰ صفت کمی و کیفی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه کلاستر ارقام مورد نظر ۱۱ گروه با خصوصیات مشابه درون گروهی و غیر مشابه بین گروهی نشان داد.

هدف عمده این مطالعه، ارزیابی صفات زراعی و فیزیولوژیکی ارقام برنج برای گروه بندی آنها و نیز استفاده از آنها در اصلاح ارقام پر محصول کمی و کیفی از طریق برنامه های دورگ گیری می باشند.

تعداد ۴۱۹ رقم برنج مربوط به نقاط مختلف کشور از جمله استان های برنج خیز مانند: گیلان (۲۰۰ رقم)، مازندران (۱۷۰ رقم)، ایلام (۱۲ رقم)، خوزستان (۷ رقم)، خراسان (۸ رقم)، کهگیلویه و بویراحمد (۱۰ رقم)، فارس (۵ رقم)، سیستان و بلوچستان (۴ رقم)، چهارمحال و بختیاری (۳ رقم) از کلکسیون بانک ژن

نشان می‌دهد که اغلب ارقام کشت شده در خوزستان از تیپ چمپا می‌باشند.

تعداد ۲۹ رقم از این استان مورد بررسی قرار گرفت. دندروگرام شماره ۵ نشان داد که ارقام برنج استان ایلام در سه گروه جدا از هم قرار می‌گیرند. ارقام عنبربو و تیپ چمپا نزدیک به تیپ ژاپونیکا بوده و در یک گروه قرار دارند. بقیه ارقام از تیپ صدری هستند که در گروه‌های دیگر قرار دارند.

- با توجه به دندروگرام شماره ۶ ارقام برنج استان خراسان در دو گروه جدا از هم قرار می‌گیرند، ارقام در گل، سنگ طارم، طارم، کلات نادری و بینام در گروه یک، که جزو ارقام دانه دراز بوده در گروه دو، غریب پاکوتاه، چمپا و ار که قرار دارد که از ارقام دانه متوسط هستند.

با توجه به دندروگرام شماره ۷ ارقام برنج استان کهگیلویه و بویراحمد در ۲ گروه قرار می‌گیرند، ارقام بومی نظیر چمپا ریشکدار، سنگ طارم، سرد چمپا محلی، گرده ریشکدار، چمپا محلی و چمپا بی‌ریشک در گروه یک و ارقام اصلاح شده هراز، شلتوک آمل ۲، شلتوک هراز و آمل ۲ در گروه دو قرار گرفتند.

دندروگرام شماره ۸ ارقام برنج استان مازندران را نشان می‌دهد که در سه گروه جدا از هم قرار می‌گیرند، اکثر ارقام تیپ طارم و سایر ارقام محلی در گروه یک و در گروه دو ارقام حد واسط بین ارقام محلی دانه دراز و ارقام دانه متوسط هستند.

با توجه به دندروگرام شماره ۹ ارقام مطالعه شده از این استان در شش گروه جدا از هم قرار گرفتند. در گروه یک ارقام دانه‌دراز کیفی معطر، در گروه دو ارقام دانه متوسط، در گروه سه ارقام تیپ صدری، در گروه چهار ارقام تیپ صدری ریشک‌دار و در گروه پنج ارقام تیپ صدری بدون ریشک قرار دارند. و رقم صدری دم‌سرخ با ریشک‌های بلند و قرمز در یک گروه جداگانه قرار دارد. با توجه به این نتایج به خوبی

با توجه به کلاسترهای به دست آمده از ارقام مختلف استان‌های برنج خیز کشور نتایج زیر مشاهده گردید:

- تعداد نمونه‌ها از این استان بسیار کم (۳ رقم) بوده است و دندروگرام شماره ۱ نشان می‌دهد که ارقام مطالعه شده این استان در دو گروه جدا از هم قرار می‌گیرند، در گروه یک ارقام باسماتی و دری قرار دارند که جزو ارقام گروه ۷ کیفی طبق طبقه‌بندی آیزوزایم می‌باشند نعمت‌زاده و همکاران (Nematzadeh et al., 1993) در حالی که چمپا جزو گروه ۷ کیفی نمی‌باشد.

با توجه به دندروگرام شماره ۲، ارقام مطالعه شده استان سیستان و بلوچستان در دو گروه جدا از هم قرار می‌گیرند، ارقام صدری محلی و سه ماهه در گروه یک و رقم نازیپی در گروه دو قرار گرفتند.

با توجه به دندروگرام شماره ۳ ارقام برنج استان فارس در چهار گروه جدا از هم قرار گرفتند، چمپا قصرالدشتی و چمپا ملو در گروه یک، چمپا فیروزآباد در گروه دو، قصرالدشتی فیروزآباد در گروه سه و حسنی فارس در گروه چهار قرار گرفتند. رقم حسنی از گروه صدری می‌باشد و به همین دلیل در یک گروه خاص قرار گرفت، در حالی که سایر ارقام که ماهیت ژنتیکی چمپا را دارند در گروه‌های مختلفی قرار دارند. این نتیجه نشان دهنده آن است که ارقام یاد شده یا دارای اختلاط مکانیکی بوده و یا در طول تاریخ استفاده از آن‌ها از طریق دگرگشتی جنسی و یا موتاسیون تنوع قابل محسوسی از آن‌ها دیده می‌شود.

- تعداد ۶ رقم از این استان مورد بررسی قرار گرفت، نتایج به دست آمده با توجه به دندروگرام شماره ۴ نشان داد که ارقام برنج استان خوزستان در پنج گروه جدا از هم قرار گرفتند، شاه پسند و شلتوک چمپا در گروه یک، رشتی در گروه دو، شلتوک گرده در گروه سه، شلتوک رشتی و چمپا در گروه چهار و رقم خارجی 03SH.Ahv در گروه پنج قرار گرفتند. این نتایج

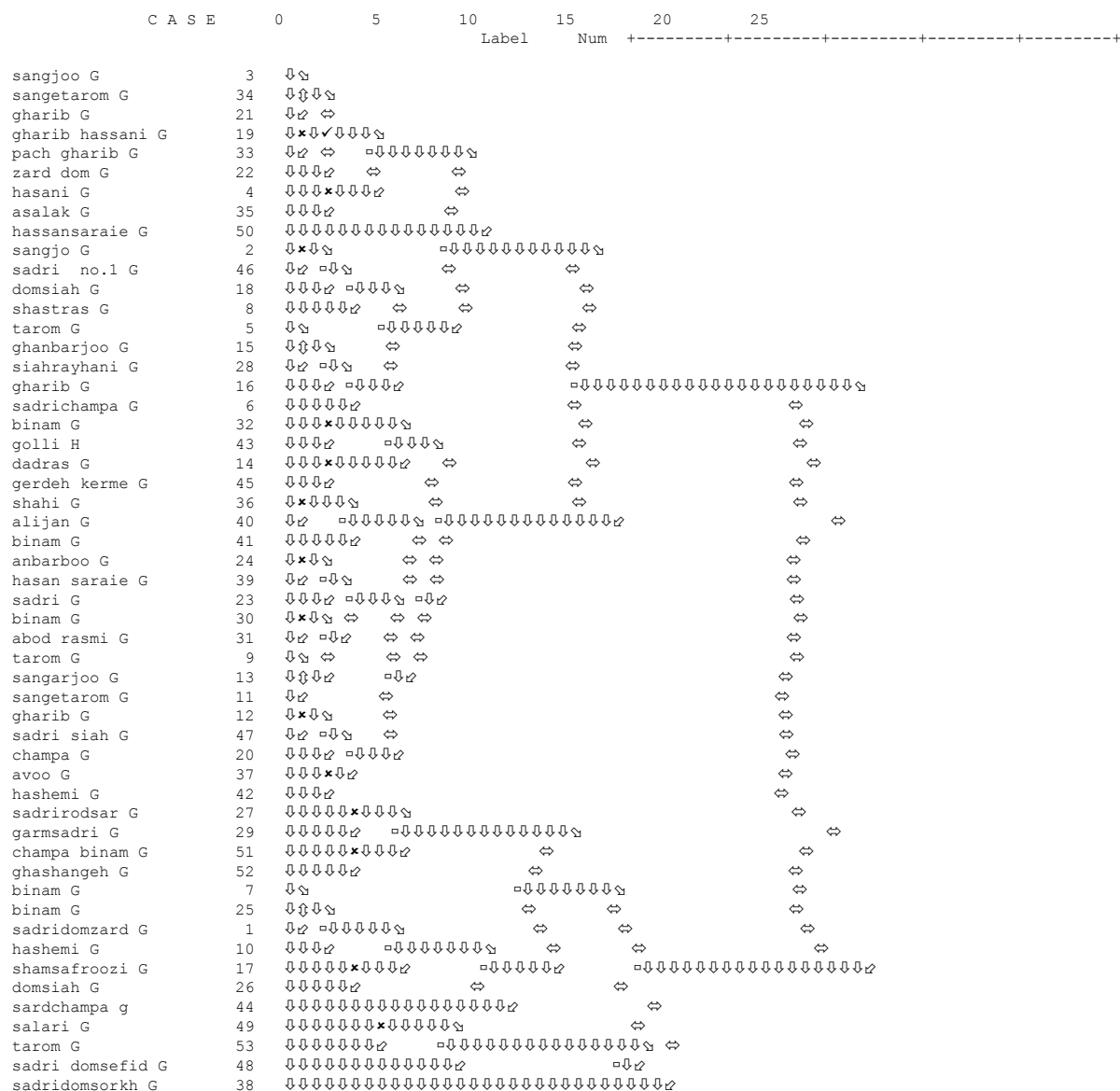


Fig. 9. Cultivar clustering of Gillan province

دندروگرام ۹- کلاستر ارقام استان گیلان



Fig. 10. Cultivar clustering of the whole country (Iran)

دندروگرام ۱۰- کلاستر ارقام کل کشور

References

- آقازاده فولکی، ر. ۱۳۷۹. طبقه‌بندی بخشی از ژرم پلاسم برنج ایرانی با استفاده از نشانگر RAPD و نشانگر مرفولوژیک (صفات کمی). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه مازندران. ۱۳۸ صفحه.
- الله‌قلی‌پور، م.، م. ص. محمدصالحی، م. اصفهانی و ع. ا. عبادی. ۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ارقام مختلف برنج. چکیده مقالات هفتمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. صفحات ۳۴۲-۳۴۳.
- بابائیان جلودار، ن.، ق. ع. نعمت‌زاده، م. ت. کربلانی و م. تائب. ۱۳۷۸. بررسی تنوع صفات زراعی در برنج‌های بومی مازندران. فصلنامه علمی - پژوهشی دانشگاه شاهد - شماره ۲۶. صفحات ۱۵-۲۶.
- زینلی‌نژاد، خ. ۱۳۷۸. بررسی تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی بخشی از ژرم پلاسم برنج ایرانی با استفاده از نشانگر مرفولوژیک و نشانگر RAPD. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه صنعتی اصفهان. ۱۱۲ صفحه.
- واعظی، ب. ۱۳۷۹. تعیین تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ژرم پلاسم برنج کشور از طریق مارکرهای مرفولوژیک و مولکولی RAPD-PCR. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه مازندران. ۱۲۷ صفحه.
- Cho, Y.C., Y.S. Shin, S.N. Ahn, G.B. Gregorio, K. H. Kang, D. Brar and H. P. Moon. 1999. DNA fingerprinting of rice cultivars using AFLP and RAPD markers. Korean. J. Crop Sci. **44(1)**: 26-31.
- Fuentes, J. L., F. Escobar, A. Alvarez, G. Gallego, M. Cduque, M. Ferrer, J. Enrique and M. Tohme. 1999. Analysis of genetic diversity in cuban rice varieties using isozyme, RAPD and AFLP markers. Euphytica. **109**: 101-115.
- Nematzadeh, Gh., G. S. Kush., B. S. Brar. 1993. Classification of Iran's rice germplasm via isozyme classification. Rice Genetic Newsletter, Vol 1, No 10.
- Ni, J., P. M. Colowit and D. J. Mackill. 2002. Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. Crop Sci. **42(2)**: 601-607.
- Than, N. D., H. G. Zheng, N. V. Dong, L. N. Trinh, M. L. Ali and H. T. Nguyen. 2000. Genetic variation in root morphology and microsatellite DNA loci in upland rice (*Oryza sativa* L.) from Vietnam. Euphytica. **105**: 43-51.
- Virk, P. S., J. Zhu, H. J. Newburg, G. G. J. Bryan, M. T. Jackson and B. V. Ford-Lloyd. 2000. Effectiveness of different classes of molecular marker for classifying and revealing variation in rice (*Oryza sativa* L.) germplasm. Euphytica. **112**: 275-284.

Study of genetic and geographical variation in rice (*Oryza sativa* L.) using physiological and agronomical traits

Gh. A. Nematzadeh¹, R. Talebie², Z. Khodarahmpour³ and Gh. Kiani⁴

ABSTRACT

Rice is an important nutrient crop and plays strategic role for food security worldwide. Study of genetic variation is essential for yield improvement, increasing quality and other agronomically important traits. Four hundred and nineteen rice accession of several provinces received from National Plant Gene Bank were studied. Sowing, seedling transplanting (single plant) and other husbandary measures carried out according to the cultural practices needed in Mazandaran region. Sixteen physiological and agronomically important traits recorded on the basis of standard evaluation system (SES). Cluster analysis performed according to the minimum variance, using SPSS software. The maximum and minimum variation belonged to the Gillan and Mazandaran provinces and Kohkiluih-Boyerahmad, Sistan-Baluchestan and Chaharmahal-Bakhtiari provinces, respectively. The cluster of the whole data (total population, 419 cultivars) showed 6 distinct clusters at 35% genetic distance. This dendrogram (total population) indicated that the rice accession from Gillan and Mazandaran located at two independent clusters but most of accessions from Eilam, Khuzestan, Kohkiluih-Boyerahmad and Fars provinces were very close to the Mazandaran accessions. It is concluded that many accessions of Mazandaran have been transferred to the these provinces.

Key words: Rice, Geographical and Genetic variation, Cluster analysis, Minimum variance, Accessions.

1- Assist. Prof., Mazandaran Univ., Sari, Iran.

2 & 3- MSc. Students, Mazandaran Univ., Sari, Iran.

4-Scientific member, Mazandaran Univ., Sari, Iran.