نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد نهم، شماره یکم، بهار ۹۵
۱۸۱-۱۹۸
http://ejcp.gau.ac.ir

ارزیابی تنوع ژنتیکی با استفاده از ویژگی‌های زراعی در ارقام مختلف برنج

*مجتبی جهانی[۱]، قربانعلی نعمت‌زاده[۲] و قاسم محمدی‌نژاد[۳]

[۱]دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، [۲]استاد گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، [۳]دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/٤/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/٦/۱٦

چکیده

سابقه و هدف: برنج یکی از مهترین غلات جهان است و غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان بشمار می‌رود. با توجه به نرخ رو به رشد افزایش جمعیت در کشورهای مصرف کننده برنج تقاضا برای تولید بیشتر این محصول در سال‌های آتی افزایش پیدا خواهد کرد و افزایش محصول هدف اصلی به‌نژادگران خواهد بود این هدف با ایجاد واریته‌های پر محصول، افزایش کیفیت غذایی و تحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی تأمین می‌شود. مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار جوامع طبیعی برای تعین استراتژی‌های اصلاح نباتات اهمیت دارد.

مواد و روش‌ها: صد ژنوتیپ متنوع برنج شامل بخشی از ذخایر توارثی ایرانی، واریته‌های از کشورهای مختلف جهان و لاین‌های بین‌المللی اصلاحی به‌منظور بررسی روابط ژنتیکی بین صفات مختلف در قالب طرح بلوک‌های ناقص سه‌گانه کشت شدند. این کلکسیون برای صفات پر اهمیت زراعی و کیفی همچون عملکرد و اجزای آن، صفات شکل دانه، صفات برگ پرچم و زودرسی ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس حاکی از تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها در سطح احتمال یک درصد برای تمامی صفات مورد بررسی بود. مقایسات گروهی حاکی از پتانسیل منحصر به فرد هریک از این گروه‌ها بود به طوری که می‌توان ذخایر توارثی ایرانی را به‌عنوان منبعی برای ژن‌های مؤثر در کیفیت دانه دانست در حالی‌که ارقام خارجی علی‌رغم عملکرد دانه مناسب فاقد کیفیت دانه بودند با این حال لاین‌های اصلاحی از لحاظ صفات اجزای عملکرد دارای بالاترین پتانسیل بودند. تجزیه کلاستر براساس صفات مورد مطالعه ژنوتیپ‌ها را در سه گروه با ویژگی‌های متفاوت گروه‌بندی کرد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی پنج مولفه که میزان ۸٤/۸ درصد از

*مسئول مکاتبه: mojtaba.jahani@hotmail.com

تغییرات کل را توجیه کردند را به‌عنوان مولفه‌های اصلی معرفی کرد که قادربه تفکیک کلکسیون بـرای صـفات مختلف بودند.

نتیجه‌گیری: این تحقیق با ارزیابی صفات پر اهمیت زراعی در ژرم‌پلاسم برنج ایرانی و یافتن جایگـاه ایـن ژرم پلاسم در مقابل لاین‌های اصلاحی و کولتیوارهای خارجی نتایج مناسبی جهت بهره‌وری از ذخایر توارثی کشور و یافتن ژنوتیپ‌های با پتانسیل مناسب صفات زراعی در ژرم‌پلاسم دیگر نقاط جهان بـه عنـوان مکملـی بـرای اهداف به‌نژادی در ذخایر توارثی برنج ایرانی ارئه می‌دهد. جمعیت مورد بررسی دارای تنـوع مناسـب در تمـام صفات مورد بررسی بود. با توجه به نتایج مقایسات گروهی هرکدام از سه گـروه ژنوتیـپ‌هـای ایرانـی، ارقـام خارجی و لاین‌های اصلاحی دارای ویژگی‌های منحصر بفردی هستند. به‌طوری کـه ارقـام ایرانـی را مـی‌تـوان ارقامی مناسب از لحاظ صفات مربوط به کیفیت دانه دانست ولی در مقابل ارقام خـارجی دارای عملکـرد دانـه مناسب ولی کیفیت نه چندان خوب دانه بودند. این در حالی است که لاین‌های اصـلاحی منبـع مناسـبی بـرای صفات اجزای عملکرد به نظر می‌رسیدند. از این رو، می‌توان این مجموعه را مجموعـه غنـی و متنـوع از نظـر صفات پر اهمیت زراعی دانست. تجزیه کلاستر و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در این تحقیق موفـق بـه تفکیـک ژنوتیپ‌های برنج بر اساس صفات ظاهری شد و افراد دارای صفات مشابه در گروه یکسان قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: برنج، تنوع ژنتیکی، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیه کلاستر، مقایسات گروهی

مقدمه

برنج با سطح زیر کشت جهانی ۱۵۷/۵ ملیون هکتار دارای رتبه دوم تولید میان غلات است تولید جهانی شلتوک برنج در سال ۲۰۱۲ به مقدار ۷۱۹/۷٤ میلیون تن رسیده است (۵). با این حال، با نرخ رو به رشد مصرف کنندگان برنج پیش‌بینی می‌شود که تولید برنج تا سال ۲۰۳۰ باید تا حدود ٤۰ درصد افزایش یابد (۱۰). تقاضا برای تولید بیشتر، به‌نژادگران برنج را به سمت افزایش محصول متمایل کرده است. علم به‌نژادی برای بهبود گیاهان راهکارهایی ارئه داده است از این جمله می‌توان به: شناسایی صفاتی که در سازگاری، کیفیت و عملکرد گونه‌های گیاهی موثرند و ارزیابی پتانسیل ژنتیکی ژن‌های مربوط به این صفات و همچنین جستجوی ژرم‌پلاسم‌ها برای پیدا کردن منابع چنین ژن‌های به منظور استفاده در برنامه‌های به‌نژادی اشاره کرد (۹). از این رو موفقیت هر به‌نژادگر در سایه شناخت ژرم‌پلاسم طبیعی گیاه مورد نظر و تعین تنوع آن به منظور بهره‌گیری در انتخاب، محافظت و استفاده هرچه بیشتر از این سرمایه می‌باشد (۱۲). علاوه بر این در برنامه‌های به‌نژادی بر پایه دورگ‌گیری برای حصول تفکیک متجاوز بایستی والدین از نظر ژنتیکی در صفات مورد مطالعه باهم فاصله داشته باشند. به طوری که فارغی و همکاران (۲۰۰۷) تنوع ژنتیکی را از مهمترین شاخص‌های انتخاب والدین دانسته‌اند (٦). با توجه به این مطالب بررسی فواصل ژنتیکی میان ژنوتیپ‌ها در ژرم‌پلاسم‌های ملی و بین‌المللی بر اساس صفات زراعی اهمیت ویژه‌ای می‌یابد. در چنین مطالعاتی عموماً از تجزیه و تحلیل‌های چند متغیره به منظور توصیف و ارزیابی مواد ژنتیکی جهت بهره‌گیری بهینه و همچنین مطالعه روابط داخلی بین صفات استفاده می‌شود (۷). تجزیه کلاستر یک آنالیز چند متغیره است که در آن، با در دست داشتن نمونه‌ای از n فرد و اندازه‌گیری p متغیر بر روی هر فرد، می‌توان افراد را در کلاس‌هایی گروه‌بندی کرد که افراد مشابه در داخل یک کلاس قرار بگیرند (۱۱). علاوه بر این، تجزیه به مولفه‌های اصلی به همراه رسم پلات دو بعدی برای مولفه‌ها روش چند متغیره دیگری است که برای مطالعه فاصله بین افراد مناسب می‌باشد. چنین روش‌های آماری اساس مطالعه بسیاری از محققین برای بررسی تنوع ژنتیکی ذخایر توارثی گیاهان قرار گرفته است. نعمت‌زاده و همکاران (۲۰۰۳) ٤۱۹ ژنوتیپ برنج را با استفاده از صفات مورفولوژیکی در ٦ گروه مختلف با فاصله تشابه ژنتیکی ۳۵ درصد قرار دادند (۱۳). در حالی‌که در مطالعه زینلی‌نژاد و همکاران (۲۰۰٤) با بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰۰ ژنوتیپ برنج و گروه‌بندی آن‌ها با استفاده از تجزیه کلاستر بر پایه صفات فنوتیپی، ارقام برنج را در چهار گروه اصلی قرار دادند و همچنین با بهره از تجزیه عاملی، سه عامل اصلی که ۹۰ درصد از تغییرات را توجیه می‌کردند، معرفی شدند (۱۵).

باقری و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه تنوع زیستی ذخایر توارثی برنج ایرانی به روش تجزیه به مولفه‌های اصلی، ٦ مؤلفه نخست را که سهم ٧٤ درصدی از تغییرات کل را توجیه می‌کردند به‌عنوان مؤلفه‌های اصلی معرفی کردند (٤). علاوه بر این، تجزیه کلاستر بر اساس صفات مورفولوژیک حاکی از وجود ٤ کلاستر در مطالعه آن‌ها بود. ابوذری گزافرودی و همکاران (۲۰۰۸) علاوه بر ذخایر توارثی ایران، از ارقام بین‌المللی استفاده کردند که نتیجه بررسی تنوع ژنتیکی به وسیله تجزیه کلاستر بر پایه صفات زراعی گروه‌بندی افراد در ٤ کلاستر بود (۱).

هدف از این مطالعه بررسی فواصل ژنتیکی ژرم‌پلاسم ایرانی در مقابل ارقام خارجی و همچنین لاین‌های اصلاحی به منظور درک بهتر روابط بین ذخایر توارثی ایرانی و ارقام بین‌المللی بود. علاوه بر این، با تعیین فواصل ژنتیکی و دانش در مورد صفات هر کدام از ژنوتیپ‌های مورد بررسی دست‌یابی به والدین مناسب برای طرح‌ریزی برنامه‌های به‌نژادی از طریق دورگ‌گیری تسهیل خواهد شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۰۰ ژنوتیپ برنج با گستردگی جهانی از بانک بذر ملی ایران، موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج[1] و پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان[2] دریافت گردید. این مجموعه از میان ژنوتیپ‌های کشورهای ایران، هند، ایتالیا، فیلیپین، ویتنام و چین گزینش شده و شامل ۳۹ ژنوتیپ و واریته ایرانی، ۲۵ رقم خارجی و ٣٦ لاین اصلاحی موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج بودند. (جدول ۱). این پژوهش در سال ۱۳۹۰ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان واقع در شهرستان ساری (۵۹ و ۹۹ درجه طول جغرافیایی، ٣٦ و ۲۱ درجه عرض جغرافیای) انجام شد. پس از آماده‌سازی زمین طبق روال معمول مواد گیاهی در طرح بلوک‌های ناقص (لاتیس) سه گانه ۱۰×۱۰ کشت شدند. کرت‌های آزمایشی شامل ۵ خط دو متری با فاصله ۲۵ سانتی‌متر بودند فاصله روی خط نشاها نیز ۲۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. برای کشت ارقام موردنظر ابتدا بذور در خزانه کشت شدند و پس از حدود یک ماه که نشاها به مرحله پنج تا شش برگی رسیدند به زمین اصلی منتقل شدند. ازت به‌صورت سرک در طی مرحله پنجه‌دهی به‌کار برده شد. به‌منظور حصول حداکثر عملکرد و جلوگیری از خسارت‌های ناشی از آفات و علف‌های هرز مبارزه با علف‌های هرز به‌صورت وجین دستی و مبارزه با آفات با استفاده از سموم انجام شد.

1. International Rice Research Institute (IRRI)
2. Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT)

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های ارزیابی شده.

Table 1 Characteristics of evaluated genotypes .

شماره ID	نام name	خاستگاه Origin	شماره ID	نام name	خاستگاه Origin	شماره ID	نام name	خاستگاه Origin
1	SANG JO	IRAN	35	PARDIS	IRAN	69	IR 83141-B-17-B	PHILIPPINES
2	HASAN SARAI	IRAN	36	NEDA	IRAN	70	IR 83141-B-18-B	PHILIPPINES
3	AHLAMI TAROM	IRAN	37	JELODAR	IRAN	71	IR 83142-B-19-B	PHILIPPINES
4	SHASTAK	IRAN	38	SHIROUDI	IRAN	72	IR 83142-B-20-B	PHILIPPINES
5	BINAM	IRAN	39	CHAMPA	IRAN	73	IR 83142-B-21B	PHILIPPINES
6	HASANI	IRAN	40	NEMAT	IRAN	74	IR 83142-B-49-B	PHILIPPINES
7	SALARI	IRAN	41	MARI 305	-	75	IR 83142-B-57-B	PHILIPPINES
8	GHARIB	IRAN	42	CRIPTO	ITALY	76	IR 83142-B-60-B	PHILIPPINES
9	FUJI MINORI	IRAN	43	RINGO	ITALY	77	IR 83142-B-61-B	PHILIPPINES
10	AMOL 2	IRAN	44	VIALONE NANO	ITALY	78	IR 83142-B-79-B	PHILIPPINES
11	PAJOUHESH	IRAN	45	BALDO	ITALY	79	IR 83142-B-7-B-B	PHILIPPINES
12	TAROM AMIRI	IRAN	46	LOMELLINO	ITALY	80	IR 83142-B-8-B-B	PHILIPPINES
13	RASHTI	IRAN	47	CORALLO	ITALY	81	IR 84675-7-3-2-B-B	PHILIPPINES
14	SADRI	IRAN	48	ROMEO	ITALY	82	IR 84675-25-7-3-B-B	PHILIPPINES
15	AMOL 1	IRAN	49	RIBE	ITALY	83	IR 84675-58-4-1-B-B	PHILIPPINES
16	BEJAR	IRAN	50	ONDA	ITALY	84	IR 84677-34-1-B	PHILIPPINES
17	GERDEH	IRAN	51	JASMINE 85	VIETNAM	85	IR 84677-51-1-B	PHILIPPINES
18	DASHT	IRAN	52	USEN	VIETNAM	86	IR 84677-132-2-B	PHILIPPINES
19	GHAEM	IRAN	53	MANJING	CHINA	87	IR 84678-25-5-B	PHILIPPINES
20	ABJI BUJI	IRAN	54	DULAR	INDIA	88	IR 66946-3R-178-1-1	PHILIPPINES
21	ANBARBOO	IRAN	55	CH 2	INDIA	89	HHZ 5-SAL9-Y3-Y1	PHILIPPINES
22	DOMSIAH	IRAN	56	G KH 23	-	90	HHZ 8-SAL9-DT1-Y1	PHILIPPINES
23	TAROM RASHTI	IRAN	57	IR 56	PHILIPPINES	91	HHZ 11-Y6-Y1-Y1	PHILIPPINES
24	AMOL 3	IRAN	58	IR 50	PHILIPPINES	92	HHZ 11-SAL6-Y1-Y1	PHILIPPINES
25	SEPIDROD	IRAN	59	IR 24	PHILIPPINES	93	HHZ 12-Y4-Y3-Y1	PHILIPPINES
26	ZARAK	IRAN	60	IR 58	PHILIPPINES	94	HHZ 5-SAL10-DT1-DT1	PHILIPPINES
27	NEMARIVARAN	IRAN	61	IR 64	PHILIPPINES	95	HHZ 5-SAL10-DT2-DT2	PHILIPPINES
28	ALAM SABZ	IRAN	62	IRRI 123	PHILIPPINES	96	HHZ 5-Y3-SAL3-DT1	PHILIPPINES
29	KOLA CHAI ZOODRAS	IRAN	63	IRRI 132	PHILIPPINES	97	HHZ 9-DT 7-SAL2-DT1	PHILIPPINES
30	KHAZAR	IRAN	64	IR 04L191	PHILIPPINES	98	HHZ 11-Y11-Y3-DT1	PHILIPPINES
31	SHAHAK	IRAN	65	IR 83140-B-11-B	PHILIPPINES	99	HHZ 17-DT 6-SAL3-DT1	PHILIPPINES
32	SARDAK	IRAN	66	IR 83140-B-28-B	PHILIPPINES	100	HHZ 15-SUB1-Y3-Y1	PHILIPPINES
33	SHALTOK HARAZ	IRAN	67	IR 83140-B-32-B	PHILIPPINES			
34	GHATERDOM BIRISHAK	IRAN	68	IR 83140-B-26-B	PHILIPPINES			

در این آزمایش صفات مختلفی از قبیل ارتفاع بوته، تعداد کل پنجه‌ها، تعداد پنجه بارور، تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه‌ها (از زمان نشاکاری)، طول خوشه (بدون در نظرگرفتن ریشک)، تعداد دانه پر در خوشه، تعداد کل دانه‌ها در خوشه، وزن هزار دانه، عملکرد در هکتار (تخمین زده شده از عملکرد در مترمربع)، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، سطح برگ پرچم، طول دانه، عرض دانه و نسبت طول به عرض دانه حداقل با ۵ نمونه در هرکرت پس از حذف اثر حاشیه اندازه‌گیری شد. یکی از لاین‌های اصلاحی وارد شده از موسسه بین‌المللی برنج (شماره ۱۰۰) قادر به خوشه‌دهی در منطقه جغرافیایی انجام آزمایش نبود، بنابراین تجزیه و تحلیل‌های آماری روی ۹۹ ژنوتیپ انجام شد.

با توجه مزیت نسبی طرح بلوک‌های کامل تصادفی نسبت به لاتیس، تجزیه واریانس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی ارایه شد و همچنین مقایسات گروهی صفات ارزیابی شده بین ارقام ایرانی، ارقام خارجی و لاین‌های اصلاحی (ایرانی/ خارجی و لاین، خارجی/ ایرانی و لاین، خارجی/ ایرانی و لاین) با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS V9.1 انجام گرفت. توارث‌پذیری خصوصی بر اساس اجزای واریانس در طرح بلوک‌های کامل تصادفی با در نظر گرفتن امید ریاضی محاسبه شد. بنا به گزارش کرسی و پونی (۱۹۹۸) در چنین جوامعی واریانس افزایشی برابر با نصف واریانس ژنتیکی است ($\sigma_A^2 = \frac{1}{2}\sigma_G^2$) از این رو با محاسبه واریانس افزایشی به‌عنوان صورت کسر توارث‌پذیری ($h_n^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_p^2}$) می‌توان گفت توارث‌پذیری محاسبه شده از نوع خصوصی می‌باشد (۸) ضرایب پراکندگی فنوتیپی با رابطه ($cv = \frac{\sigma}{\bar{x}}$) به‌منظور بررسی میزان تنوع صفات محاسبه شدند. علاوه براین، برای درک روابط صفات مورفولوژیکی و فواصل ژنوتیپ‌های مورد بررسی برحسب تعداد کمتری شاخص اثرگذار بر صفات مورد بررسی از تجزیه به مولفه‌های اصلی با استفاده از نرم‌افزار SAS V9.1 استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای بر اساس روش وارد (حداقل مجموع مربعات درون کلاستر) بر مبنای ماتریس فاصله حاصل از ۱۵ صفت مورد بررسی به وسیله SPSS V16 انجام شد. رسم دندروگرام بر اساس معیار فاصله اقلیدسی و پلات دو بعدی بر پایه مولفه‌های اصلی با نرم‌افزار XLSTAT صورت گرفت.

نتایج و بحث

پس از بررسی مقدار مزیت نسبی طرح بلوک‌های ناقص نسبت به طرح بلوک‌های کامل تصادفی مزیت چندانی برای استفاده از بلوک‌های ناقص مشاهده نشد. از این‌رو، تجزیه واریانس در طرح

بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. عدم وجود مزیت برای طرح بلوک‌های ناقص حاکی از یکنواخت بودن ماده آزمایشی و عملیات اجرایی بوده است و حضور بلوک‌های ناقص تفاوت چندانی ایجاد نمی‌کند. به منظور بررسی سهم اثر ژنتیکی در هر صفت میزان توراث‌پذیری بر مبنای اجزای واریانس در طرح بلوک‌های کامل تصادفی با توجه به امید ریاضی محاسبه شد. با در نظر گرفتن این مطلب که تمامی ژنوتیپ‌ها خالص می‌باشند می‌توان گفت که سهم واریانس غالبیت صفر است.

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد برای تمامی صفات مورد بررسی مشاهده شد. این مطلب نشان دهنده وجود تنوع در مجموعه مورد بررسی است و نویدبخش پتانسیل بهره‌وری این ژنوتیپ‌ها در به‌نژادی می‌باشد. میزان توارث‌پذیری صفات در جدول (۲) آورده شده است. توارث‌پذیری برای صفاتی همچون تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه‌ها، ارتفاع گیاه، نسبت طول به عرض دانه، عرض دانه، طول دانه و عرض برگ پرچم دارای مقدار بالایی داشت این در حالی است که تعداد دانه پر در خوشه، طول برگ پرچم و عملکرد دانه کم‌ترین میزان توارث‌پذیری را در میان صفات مورد بررسی داشتند. همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود بیش‌ترین ضریب پراکندگی فنوتیپی مربوط به صفت عملکرد دانه و کم‌ترین آن مربوط به طول دانه بود. نتایج این بررسی نشان داد که ژنوتیپ IR58 بیش‌ترین عملکرد (٦ تن و ۵۰۰ کیلوگرم در هکتار) و ژنوتیپ سردک کم‌ترین عملکرد (۳ تن و ۸۰۰ کیلوگرم در هکتار) را داشت. مدت زمان تا ظهور ۵۰ درصد خوشه‌ها دارای میانگین ۱۰٦ روز و دامنه تغییرات ۷٦ تا ۱۲۱ روز بود. در حالی که طول دانه به‌عنوان یک صفت مهم در کیفیت دارای میانگینی برابر با ۹/۵ میلی‌متر بود و در دامنه ۷ تا ۱۲ میلی‌متر متغیر بود. رقم فوجی مینوری دارای کوتاه‌ترین دانه و رقم نعمت بلندترین دانه‌ها را داشت. بیش‌ترین عرض دانه که یک صفت نامطلوب در کیفیت دانه می‌باشد مربوط به یک رقم ایتالیایی به نام CRIPTO بود و کم عرض‌ترین دانه‌ها را رقم ایرانی پردیس دارا بود. وضعیت صفات دیگر در جدول (۲) آورده شده است.

نتایج مقایسات گروهی (جدول ۳) نشان داد که ارقام ایرانی از لحاظ تمامی صفات به جز سطح برگ پرچم، تعداد کل پنجه‌ها، تعداد دانه پر درخوشه، وزن هزار دانه و عملکرد دانه در هکتار دارای تفاوت معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) با ارقام خارجی و لاین‌های اصلاحی بودند. در میان این صفات طول دانه و نسبت طول به عرض دانه در گروه ژنوتیپ‌های ایرانی میانگین بالاتری را نسبت به لاین‌های اصلاحی و ارقام خارجی به خود اختصاص داد. همچنین ارقام ایرانی در صفات طول برگ پرچم،

ارتفاع و طول خوشه نیز نسبت به گروه‌های دیگر برتر بودند. که می‌توان از این ژنوتیپ‌ها به عنوان منبعی مناسب حاوی ژن‌های مطلوب در پروژه‌های دورگ‌گیری برای صفات مذکور بهره برد. در مقایسه بین ارقام خارجی در مقابل لاین‌های اصلاحی و ارقام ایرانی، تنها در صفات سطح برگ پرچم، تعداد کل دانه و تعداد دانه پر در خوشه بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و در ۱۲ صفت دیگر تفاوت معنی‌داری بود. با توجه به میانگین ارقام خارجی نسبت به دو گروه دیگر می‌توان ارقام خارجی را از لحاظ صفات عملکرد دانه و وزن هزار دانه با تفاوت معنی‌داری برتر از ارقام ایرانی و لاین‌های اصلاحی دانست ولی با این وجود این گروه از لحاظ عرض دانه نیز دارای بالاترین میانگین بود که یک صفت نامطلوب از نظر کیفیت دانه بشمار می‌رود. به‌طورکلی می‌توان ارقام خارجی را ارقامی با عملکرد دانه بالا ولی کیفیت دانه نامناسب در این کلکسیون دانست. همچنین مقایسه لاین‌های اصلاحی در مقابل ارقام خارجی و ارقام ایرانی صورت پذیرفت، نتایج نشان داد در تمامی صفات به جز طول دانه تفاوت معنی‌دار بود. لاین‌های اصلاحی عرض و سطح برگ پرچم، تعداد پنجه‌های بارور، تعداد کل پنجه‌ها، تعداد کل دانه‌ها در خوشه و تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه‌ها زیادتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند. با توجه به نتایج مقایسات گروهی هرکدام از سه گروه ژنوتیپ‌های ایرانی، ارقام خارجی و لاین‌های اصلاحی دارای ویژگی‌های منحصر بفردی هستند. به طوری که ارقام ایرانی را می‌توان ارقامی مناسب از لحاظ صفات مربوط به کیفیت دانه دانست ولی در مقابل ارقام خارجی دارای عملکرد دانه مناسب ولی کیفیت نه چندان خوب دانه بودند. این در حالی است که لاین‌های اصلاحی منبع مناسبی برای صفات اجزای عملکرد به نظر می‌رسیدند.

جدول ۲- آمار توصیفی صفات مورد بررسی.

Table 2. descriptive statistics of evaluated traits.

صفت Trait	میانگین Mean	دامنه تغییرات Range	انحراف معیار Standard deviation	کمترین Minimum	بیش‌ترین Maximum	ضریب پراکندگی Coefficient of variation	توارث‌پذیری Heritability
طول برگ پرچم (میی‌متر) Flag leaf length (mm)	376.32	256-489	42.53	VIALONE NANO	AMOL 1	0.13	0.42
عرض برگ پرچم (میی‌متر) Flag leaf width (mm)	13.70	10-20	2.10	AHLAMI TAROM	SHASTAK	0.15	0.75
سطح برگ پرچم (میی‌متر مربع) Flag leaf area (mm^2)	3331.50	2040-5266	652.61	AHLAMI TAROM	AMOL 1	0.20	0.46
ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	122.57	86-180	21.14	IR58	DOMSIAH	0.17	0.89
تعداد پنجه در بوته Number of total tillers (cm)	15.60	8-26	3.31	VIALONE NANO	IR58	0.22	0.48
تعداد پنجه بارور در بوته Number of fertile tillers	14.55	8-25	3.25	VIALONE NANO	IR58	0.22	0.47
تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه‌ها heading Days to %50	106.15	76-121	9.39	ZARAK	CHAMPA	0.90	0.95
طول خوشه (سانتی‌متر) Panicle length (cm)	268.10	168-328	32.46	MARI 305	DOMSIAH	0.12	0.65
تعداد دانه در خوشه Number of grain per panicle	159.66	92-273	37.44	GHAEM	HHZ 11-SAL6-Y1-Y1	0.23	0.44
تعداد دانه پر در خوشه Number of filled grain per panicle	109.15	52-167	23.88	SARDAK	ONDA	0.22	0.25
طول دانه (میلی‌متر) Grain length (mm)	9.52	7-12	0.75	FUJI MINORI	NEMAT	0.08	0.83
عرض دانه (mm) Grain width (mm)	2.30	2-3	0.32	PARDIS	CRIPTO	0.14	0.87
نسبت طول به عرض دانه Grain length/ width ratio	4.24	2-6	0.75	FUJI MINORI	IR24	0.18	0.89
وزن هزار دانه (گرم) 1000-grains weight (g)	23.49	16-40	3.93	HHZ 9-DT7-SAL2-DT1	CORALLO	0.17	0.73
عملکرد (کیلوگرم در هکتار) Grain yield (kg/hr^{-1})	3886.106	969-6522	1071.13	SARDAK	IR58	0.28	0.44

جدول ۳- مقایسات گروهی بین ارقام ایرانی، خارجی و لاین‌های اصلاحی

Table 3. Orthogonal comparisons of Iranian, foreign varieties and inbreeding lines

مقایسات گروهی Orthogonal comparisons	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean of squares				
		تعداد پنجه در بوته Number of total tillers	ارتفاع بوته Plant height	سطح برگ پرچم Flag leaf area	عرض برگ پرچم Flag leaf width	طول برگ پرچم Flag leaf length
ایرانی/ خارجی و لاین Iranian/foreign & line	1	23.03*	39021.80**	299863.43^{ns}	213.97**	75751.05**
خارجی/ ایرانی و لاین Foreign/ Iranian & line	1	106.57**	2784.97**	940144.96*	11.08**	24727.31**
لاین/ خارجی و ایرانی Line/ foreign & Iranian	1	204.11**	23697.94**	207606.99*	142.22**	19154.44**
		تعداد دانه پر در خوشه Number of filled grain per panicle	تعداد دانه در خوشه Number of grain per panicle	طول خوشه Panicle length	تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه‌ها Days to %50 heading	تعداد پنجه بارور در بوته Number of fertile tillers
ایرانی/ خارجی و لاین Iranian/foreign & line	1	2417.77**	29811.97**	47178.04**	2875.03**	96.03**
خارجی/ ایرانی و لاین Foreign/ Iranian & line	1	68.96^{ns}	1019.60^{ns}	100187.37**	1017.80**	77.74**
لاین/ خارجی و ایرانی Line/ foreign & Iranian	1	17.61**	42227**	4310.21**	7021.78**	325.04**
ایرانی/ خارجی و لاین Iranian/foreign & line	1	21890.89^{ns}	2.83^{ns}	14.99**	1.09**	15.91**
خارجی/ ایرانی و لاین Foreign/ Iranian & line	1	7561494.46**	316.28**	33.74**	6.57**	22.16**
لاین/ خارجی و ایرانی Line/ foreign & Iranian	1	6641671.66**	208.55**	1.75**	1.60**	0.04^{ns}

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری است.

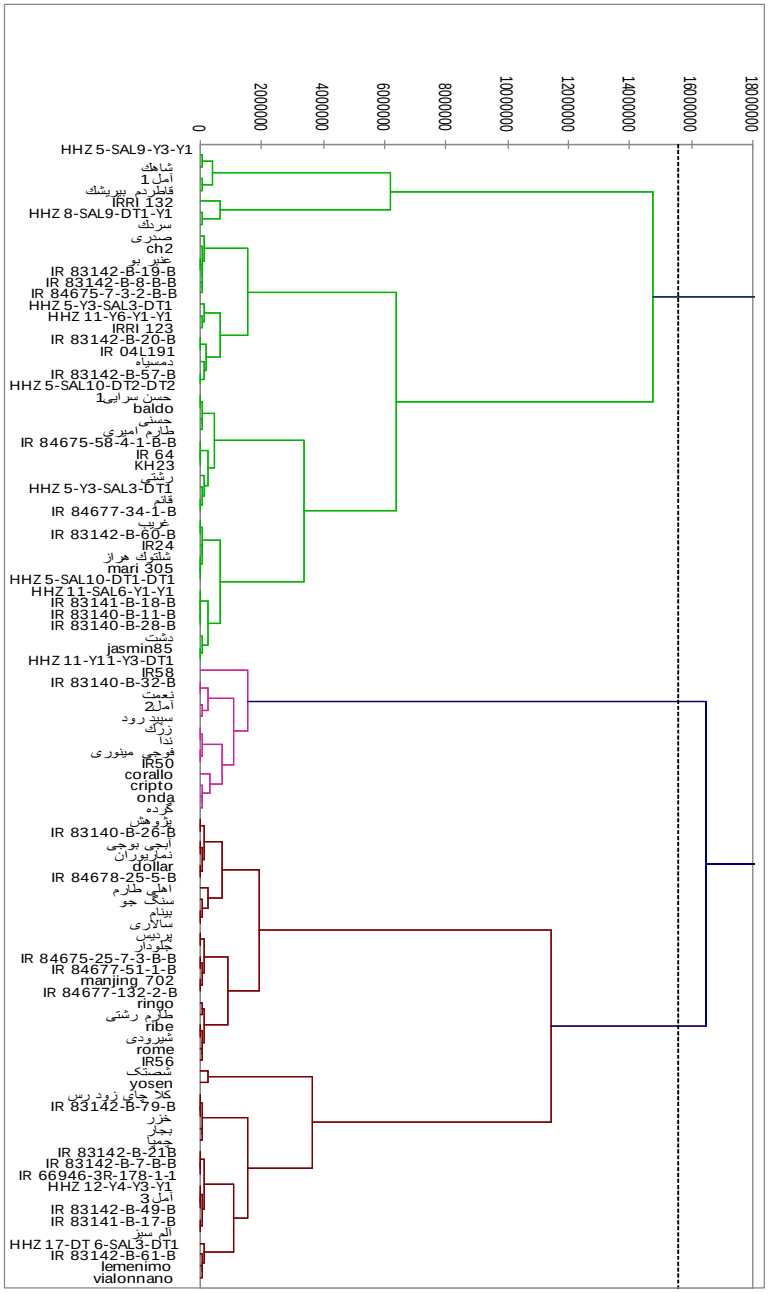
**, *, ns: Significant at 1% and 5% probability level and no significant based on LSD.

به‌منظور تعیین اندازه فاصله ژنتیکی، دوری و نزدیکی ۹۹ ژنوتیپ براساس ۱۵ صفت زراعی، دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد ترسیم شد که در شکل ۱ آمده است. این دندروگرامدارای سه کلاستر اصلی بود. کلاستر اول شامل ٤١ ژنوتیپ، کلاستر دوم شامل ۱۳ و کلاستر سوم به عنوان بزرگترین کلاستر ٤٥ ژنوتیپ را در خود جای داد. در این تحقیق به منظور بررسی سهم صفات مورد مطالعه در ایجاد هر کلاستر، انحراف از میانگین هر کلاستر از میانگین کل برای کلیه صفات محاسبه گردید و نتایج آن در جدول (٤) درج گردیده است. ارزش فنوتیپی انحراف از میانگین کل در کلاستر اول برای صفات ارتفاع بوته، تعداد دانه پر در خوشه، طول خوشه، عملکرد دانه، وزن هزار دانه، نسبت طول به عرض دانه و طول دانه مثبت بوده و برای سایر صفات دارای ارزش کمتری از میانگین کل بود. در این میان کلاستر اول دارای رتبه دوم از لحاظ میزان عملکرد بود که می‌توان آن را به میزان مثبت تعداد دانه پر و وزن هزار دانه ارتباط داد. وجود مقادیر منفی تعداد پنجه بارور در بوته مانع ایجاد حداکثر میانگین عملکرد دانه در این کلاستر بوده است. لاین اصلاحی IR 83142-B-21-B نزدیک‌ترین مقادیر صفات را به میانگین صفات این کلاستر داشت و می‌توان آن را به عنوان نماینده‌ای دارای ویژگی‌های این گروه معرفی کرد. کلاستر دوم شامل ارقامی پر محصول، پا کوتاه زودرس بود. میزان صفات موثر عملکرد در این کلاستر حداکثر میزان بود این در حالی است که در صفات کیفیت، مانند طول دانه این کلاستر در پایین‌ترین میزان خود در میان کلاسترهای دیگر قرار داشت. رقم فوجی مینوری در مرکزیت این کلاستر قرار گرفته است. در گروه سوم که دارای حداکثر میزان عملکرد و تعداد پنجه بود لاین اصلاحی دیگری با نام IR 83142-B-57-B در مرکزیت کلاستر قرار گرفته است. تجزیه کلاستر در این تحقیق موفق به تفکیک ژنوتیپ‌های برنج بر اساس صفات ظاهری شد و افراد دارای صفات مشابه در گروه یکسان قرار گرفتند. از آنجا که ژنوتیپ‌های با مبدا متفاوت ممکن است دارای فنوتیپ‌های مشابه‌ای باشند بدین جهت می‌توان عنوان کرد که تجزیه کلاستر صفات فنوتیپی در تفکیک جغرافیایی ارقام از لحاظ خاستگاه ژنتیکی روش موفقی نبود.

نتایج حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی نشان داد که پنج مولفه اول حدود ۸۵ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. به طوری‌که، مولفه اول حدود ۲۹ درصد، مولفه دوم حدود ۱۹ درصد، مولفه سوم حدود ١٦ و مولفه چهارم و پنجم به‌ترتیب حدود ١٤ و ۷ درصد از تغییرات را به خود اختصاص دادند (جدول ۵).

در مولفه اول وزن هزار دانه، عملکرد دانه، عرض دانه بار عاملی بزرگ و مثبتی را داشتند. از طرفی مولفه اول دارای بار عاملی منفی و بزرگی برای صفاتی همچون نسبت طول به عرض دانه، طول دانه، طول خوشه و تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه می‌باشد بنابراین با توجه به این مولفه می‌توان ژنوتیپ‌های پرعملکرد، زودرس و با کیفیت پایین دانه (دانه کوتاه و پر عرض) را در این مجموعه تفکیک کرد. مولفه دوم بیشترین بار عاملی مثبت را در صفاتی مانند تعداد دانه در خوشه، تعداد دانه پر در خوشه، سطح برگ پرچم، عرض برگ پرچم، طول برگ پرچم داشت ولی بار عاملی منفی بزرگ اثری هم در تعداد پنجه در آن مشاهده شد. این مولفه به دلیل تاثیر بسزا در صفات شکل و تعداد دانه در خوشه و شکل ظاهری برگ پرچم قادر به تفکیک ژنوتیپ‌هایی با این خصوصیات خواهد بود. مولفه سوم دارای بیش‌ترین ضرایب مثبت عاملی مربوط به صفات تعداد پنجه بارور و تعداد کل پنجه‌ها در بوته و ضریب منفی در صفات ارتفاع و طول دانه بود. از این رو، برای گزینش خصوصیات ظاهری در کلکسیون مورد بررسی می‌توان مولفه سوم را مد نظر قرار داد. این در حالی است که مولفه چهارم دارای بار عاملی بزرگ و مثبتی در صفات ارتفاع و طول برگ پرچم بود و همچنین بار عاملی صفت تعداد دانه پر در خوشه در مولفه پنجم حداکثر میزان مثبت را به خود اختصاص داده بود. ضرایب عاملی پنج مولفه اول به طور کامل در جدول (۵) آورده شده است. با توجه به اینکه در تجزیه به مولفه‌های اصلی، مولفه‌ها مستقل و غیر همبسته هستند، بنابراین نقش مهمی در شناسایی جنبه‌های مختلف صفات و گزینش ارقام در برنامه‌های اصلاح نباتات ایفا می‌کند (١٤). عدم همبستگی این مولفه‌ها به یکدیگر به‌دلیل اندازه‌گیری جنبه‌های مختلف داده‌ها بسیار مفید است.

با توجه به پراکنش ژنوتیپ‌ها در پلات دو بعدی بر مبنای ترکیب هر کدام از مولفه‌ها که محور افقی آن متعلق به یک مولفه و محور عمودی آن متعلق به مولفه دیگر است می‌توان ژنوتیپ‌های برتر بر مبنای ترکیب دو مولفه را انتخاب نمود. از این رو سه مولفه اول برای تفکیک ژنوتیپ‌ها در پلات دو بعدی انتخاب شدند (شکل ۲). به این‌وسیله از طریق ترکیب‌های مختف مولفه‌ها در پلات دو بعدی با توجه به خصوصیات مطلوب هر کدام از مولفه‌ها گزینش انجام داد. رحیمی و همکاران (۲۰۰۹) پنج عامل اصلی را که ۸۲ درصد از تغییرات را توجیه می‌کردند گزارش دادند (١٤). با این حال برخی محققین از جمله اله قلی‌پور و محمدصالحی (۲۰۰۳) و باقری و همکاران (۲۰۰۸) تا ٦ مولفه را نیز گزارش دادند (۲ و ٤).



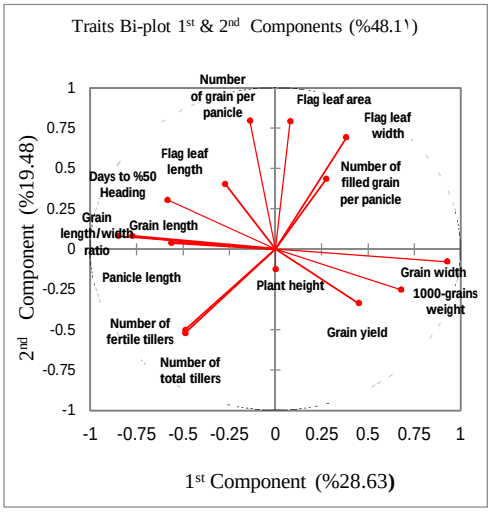
شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای صفات مورد بررسی بر اساس روش وارد و معیار فاصله اقلیدسی.

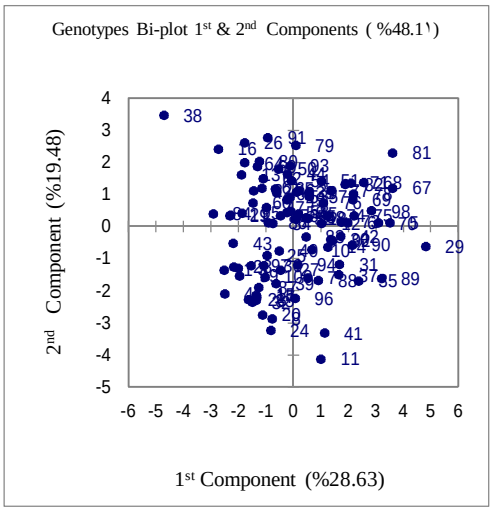
Figure 1. Dendrogram of cluster analysis for evaluated traits based on ward method and Euclidean distance.

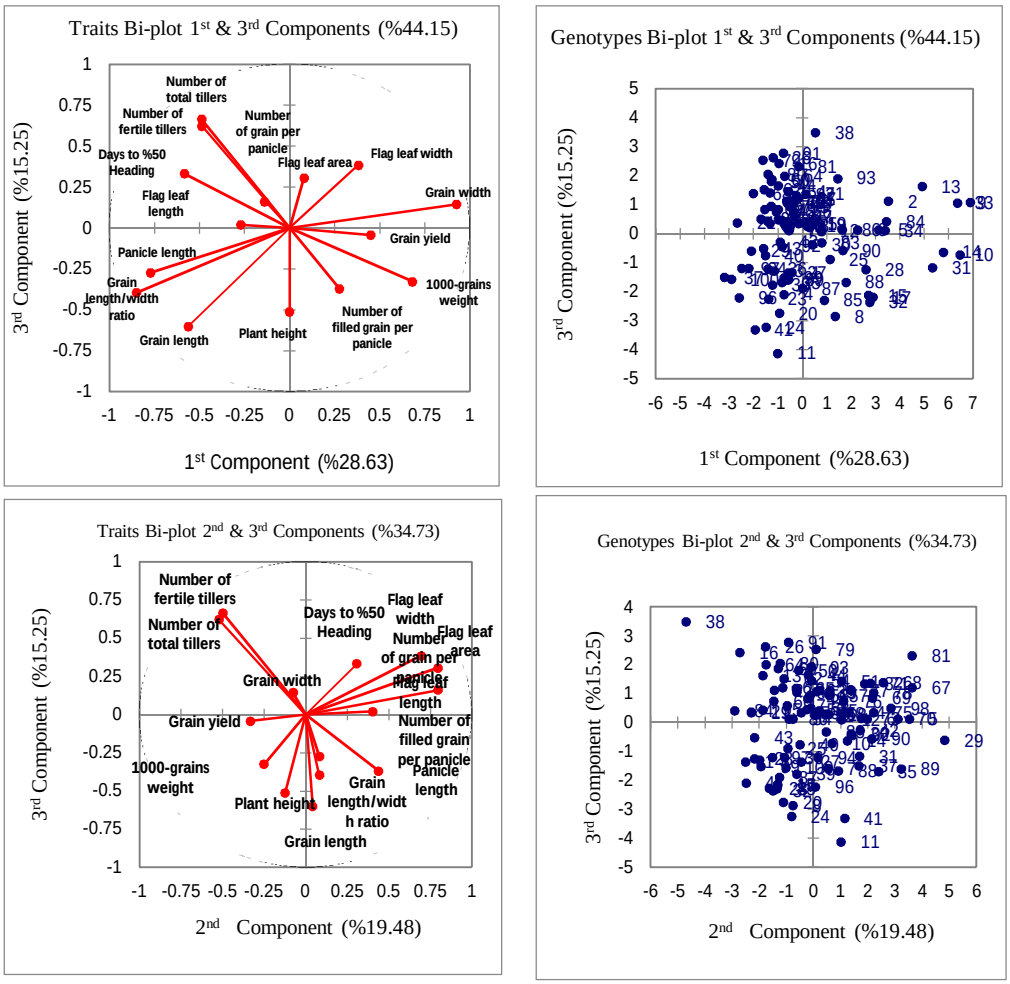
جدول٤- انحراف از میانگین کل برای صفات مورد بررسی در هر کلاستر.

Table 4. Deviation of the total average for the evaluated traits in each cluster.

کلاستر cluster	طول برگ پرچم (میلی‌متر) Flag leaf length (mm)	عرض برگ پرچم (میلی‌متر) Flag leaf width (mm)	سطح برگ پرچم (میلی‌مترمربع) Flag leaf area (mm^2)	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	تعداد پنجه در بوته Number of total tillers
1	-6.10	-0.16	-96.22	2.13	-0.27
2	13.27	0.17	170.01	1.23	-0.09
3	-22.93	-0.29	-341.76	-11.24	1.34
	تعداد پنجه بارور در بوته Number of fertile tillers	تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه‌ها Days to %50 Heading	طول خوشه (سانتی‌متر) Panicle length (cm)	تعداد دانه در خوشه Number of grain per panicle	تعداد دانه پر در خوشه Number of filled grain per panicle
1	-0.23	-0.56	4.34	-0.86	6.27
2	-0.08	2.06	4.52	5.06	-7.54
3	1.15	-4.33	-25.61	-15.08	4.77
	طول دانه (میلی‌متر) Grain length (mm)	عرض دانه (میلی‌متر) Grain width (mm)	نسبت طول به عرض Grain length/ width ratio	وزن هزار دانه (گرم) 1000-grains weight (g)	عملکرد در هکتار (کیلوگرم) Grain yield (kg)
1	0.06	-0.00	0.02	0.68	484.09
2	0.11	-0.08	0.16	39104	-921.60
3	-0.42	-0.29	-0.54	3.00	1752.52







شکل ۲- پلات دو بعدی مولفه‌ها برای صفات و ژنوتیپ‌ها.

Figure 2. Principal component bi-plot for traits and genotypes.

برای استفاده بهینه از پروژه‌های دورگ‌گیری در به‌نژادی گیاهی باید والدین را با توجه به صفات موردنظر در فاصله مناسبی از هم انتخاب نمود، در این راستا ارونا چالام (۱۹۸۱) اظهار داشت که هرچه فاصله والدین بیشتر باشد شانس به‌دست آوردن F_1 هتروتیک افزایش می‌یابد (۳). نتایج این تحقیق با توجه به استفاده از ژرم پلاسم ایرانی در مقابل ارقام و لاین‌های خارجی به‌عنوان یک مجموعه متنوع، و همچنین ارزیابی صفات پر اهمیت زراعی و بررسی فواصل ژنتیکی این کلکسیون،

راهنمای مناسبی برای به‌نژادگران برنج به منظور گزینش والدین در پروژه‌های به‌نژادی خواهد بود. از آنجای که فاصله ژنتیکی در روش‌هایی که بر مبنای صفات فنوتیپی انجام می‌شوند تمامی جنبه‌های تنوع را پوشش نخواهند داد. پیشنهاد می‌شود برای درک صحیح ساختار جامعه و فواصل ژنتیکی بر مبنای تفاوت در ژنوم از نشانگرهای مولکولی استفاده شود.

جدول ۵- بار عاملی صفات ارزیابی شده، واریانس نسبی و تجمعی در مولفه‌های اصلی.

Table 5.Evaluated traits loading, relative and cumulative variance in principal components.

صفات Traits		مؤلفه component				
		اول First	دوم Second	سوم Third	چهارم Fourth	پنجم Fifth
Flag leaf length	طول برگ پرچم	-0.27	0.40	0.02	0.73	0.08
Flag leaf width	عرض برگ پرچم	0.38	0.69	0.38	-0.14	-0.18
Flag leaf area	سطح برگ پرچم	0.08	0.79	0.30	0.39	-0.05
Plant height	ارتفاع بوته	0.00	-0.12	-0.05	0.71	0.14
Number of total tillers	تعداد پنجه در بوته	-0.48	-0.52	0.62	0.03	0.13
Number of fertile tillers	تعداد پنجه بارور	-0.48	-0.49	0.66	-0.01	0.10
heading Days to 50%	تعداد روز تا ظهور ۵۰ درصد خوشه	-0.58	0.30	0.33	-0.36	-0.35
Panicle length	طول خوشه	-0.07	0.08	-0.27	0.15	0.10
Number of grain per panicle	تعداد دانه در خوشه	-0.13	0.79	-0.16	-0.73	0.18
Number of filled grain per panicle	تعداد دانه پر در خوشه	0.27	0.47	-0.37	-0.39	0.58
Grain length	طول دانه	-0.56	0.04	-0.60	-0.25	-0.37
Grain width	عرض دانه	0.92	-0.07	0.14	0.17	-0.16
Grain length/width ratio	نسبت طول به عرض دانه	-0.84	0.08	-0.39	-0.25	-0.03
1000-grains weight	وزن هزار دانه	0.68	-0.25	-0.32	-0.16	-0.43
Grain yield	عملکرد در هکتار	0.45	-0.33	-0.04	-0.47	0.36
Relative variance	واریانس نسبی (درصد)	28.63	19.48	15.52	13.90	7.29
cumulative variance	واریانس تجمعی (درصد)	28.63	48.11	63.63	77.53	84.81

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی نتایج این پژوهش حاکی از تنوع مناسب در تمام صفات مورد بررسی در این مجموعه بود. این مجموعه با در بر گرفتن ژنوتیپ و واریته‌های ایرانی و خارجی و لاین اصلاحی علاوه بر یافتن جایگاه ذخایر توارثی ایران در مقابل ژرم پلاسم خارجی، با ارزیابی تمامی ژنوتیپ‌ها فرصتی برای بهره‌وری از پتانسیل ژرم پلاسم خارجی به عنوان مکملی جهت بهبود ارقام ایرانی را فراهم ساخت. از این رو، می‌توان این مجموعه را مجموعه غنی و متنوع از نظر صفات پراهمیت زراعی دانست. با توجه به این مطلب، بررسی چنین مجموعه‌ای به وسیله روش‌های آماری همچون تجزیه به مولفه‌های اصلی و رسم پلات دو بعدی فرصت مناسبی برای گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب توسط به‌نژادگران برنج از لحاظ دو مولفه به‌طور هم زمان را فراهم ساخته و همچنین با در نظر گرفتن فواصل ژنتیکی که به وسیله تجزیه خوشه‌ای مشخص شده است انتخاب والدین در برنامه‌های به‌نژادی تسهیل شده است.

منابع

1. Abouzari-Gazafrodi, A., Honarnegad, R., and Fotokian, M.H. 2008. The investigation of genetic diversity with morphological data in rice varieties (*Oryza sativa* L.). Pajouhesh and Sazandegi. 78: 110-117. (In Persian)
2. Alahgholipour, M., and Mohammadsalehi, M.S. 2003. Factor and path analysis in different Rice genotypes. SPIJ. 19(1): 76-86. (In Persian)
3. Arunachalam, V. 1981. Genetic divergence in plant breeding. Indian J Genet Plant Breed. 41: 226-236.
4. Bagheri, N., Babaeian-Jelodar, N., and Hasan-Nataj, E. 2008. Genetic diversity of Iranian rice germplasm based on morphological traits. Iran. J. Field Crops Res. 6(2): 235-243.
5. FAO, 2011. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations (http://faostat.fao.org/default.aspx).
6. Fareghi, SH., Farshadfar, M., and Farshadfar, E. 2007. Study of chemical composition and nutrition value of perennial Lucerne (*Medicago sativa* L.) and genetic diversity based on SDS-PAGE markers. IJRFPBGR. 15: 196-210. (In Persian)
7. Johnson, D.E. 1998. Applied Multivariate Methods for Data Analysis. Dunbury Press. New York. USA. 455p.
8. Kearsey, M.J., and Pooni, H.S. 1998. The Genetical Analysis of Quantitative Traits. Stanley Thornes (Publishers) Ltd. 381p.

9. Khush, G.S. 1995. Biotechnology approaches to rice improvement. Induced mutations and molecular techniques for crop improvement. Proceedings of an international symposium. Pp.455-457.
10. Khush, G.S. 2005. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030. Plant Mol. Boil. 59 (1):1-6.
11. Manly, F. 1986. Multivariate Statistical Methods. Chapman and Hall. 224p.
12. Mohammadi-Nejad, G., Arzani, A., Rezai, AM., Singh, R., and Gregorio, G.B. 2008. Assessment of rice genotypesfor salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL. Afr. J. Biotechnol. 7(6): 730-736.
13. Nematzadeh, Gh.A., Talebie, R., Khodarahmpour, Z., and Kiani, Gh. 2003. Study of genetic and geographical variation in rice (*Oriza sativa* L.) using physiological and agronomical traits. Iran. J. Crop Sci. 5(3): 225-234. (In Persian)
14. Rahimi, M., Ramezani, M., and Rabiee, B. 2009. Identification of elite lines and hybrids of rice using factor analysis. Pajouhesh and Sazandegi. 84: 78-85. (In Persian)
15. ZaynaliNejad, K., Mirlohi, A.F., Nematzadeh, G., and Rezai, A. 2004. Genetic Diversity in some of Iranian Rice (*Oriza sativa* L.) Germplasm Base on Morphological Traits. JWSS. 7(4): 199-214. (In Persian)