بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های M_2 حاصل از پرتودهی اشعه گاما در برخی ارقام برنج

مرتضی اولادی[*۱]، قربانعلی نعمت‌زاده[۱]، عمّار افخمی قادی[۱]، عمّار قلی زاده قرا[۱]، امیر ضیایی[۱]، مسعود رحیمی[۲]، کامران مظفری[۲] و بهنام ناصریان خیابانی[۲]

۱- پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

۲- پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران.

[*]m_oladi74@yahoo.com

چکیده

با توجه به سطوح پایین تنوع در سطح گونه‌های گیاهی به دلیل شدت کارهای اصلاحی، موتاسیون به عنوان فرآیند افزایش تنوع ژنتیکی مطرح می‌شود. مواد گیاهی در این تحقیق شامل دو رقم محلی برنج به نام‌های طارم هاشمی و سنگ جو و سه رقم اصلاح‌شده نعمت، فجر و جلودار بود. جهت القای جهش، پرتودهی بذور ارقام برنج با اشعه گاما با دز ۲۰۰ گری در سال ۱۳۹۰ و بلافاصله کشت آن در مزرعه و ارزیابی‌های اولیه در نسل M_1 انجام و انتخاب در داخل جمعیت نسل M_2 در سال زراعی بعد (۱۳۹۱) صورت پذیرفت. یادداشت‌برداری برخی صفات مهم زراعی و مورفولوژیکی انجام گرفت. تجزیه کلاستر رقم طارم هاشمی و نتاج M_2 حاصل از آن ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه قرار داد که رقم والدینی به همراه ۹ ژنوتیپ موتانت در گروه اول، رقم سنگ جو و ژنوتیپ‌های M_2 حاصل از آن در گروه‌بندی شامل پنج گروه که رقم والدینی به همراه ژنوتیپ موتانت شماره ۴ در گروه دوم قرار گرفته و با گروه سوم که ۴ ژنوتیپ دیگر موتانت را شامل می‌شود تفاوت ژنتیکی چندانی نداشت. نتایج حاصل از تجزیه کلاستر رقم فجر و نتاج M_2 حاصل از آن حاکی است ژنوتیپ‌ها شامل چهار گروه می‌باشد، که رقم والدینی به همراه ۵ ژنوتیپ موتانت در گروه دوم قرار گرفته است. در دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر رقم نعمت و نتاج M_2 حاصل از آن چهار گروه تشخیص داده شد. گروه-بندی رقم جلودار به همراه نتاج M_2 حاصل از پرتودهی نشان داد که ژنوتیپ‌ها به ۶ گروه تقسیم شدند. مقایسه دندروگرام‌ها نشان داد که بیشترین میزان تنوع ژنتیکی به ترتیب در رقم‌های جلودار و سنگ جو بود. در نتیجه، پرتودهی توسط اشعه گاما در ایجاد تنوع ژنتیکی ارقام برنج موثر بوده و در آینده نزدیک می‌توان از تنوع ژنتیکی موتانت‌ها در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود.

کلمات کلیدی: برنج، تنوع ژنتیکی، صفات مورفولوژیکی.

مقدمه

فراوانی جهش‌های طبیعی به شدت پایین است، لذا موتاسیون بریدینگ یک روش سودمند و کارا می‌باشد (Arulbalachandran *et al.*, 2010; Firozabadi, 2010). همچنین تنوع در سطح گونه‌های گیاهی به دلیل شدت کارهای اصلاحی، به سطح پایینی رسیده است بنابراین موتاسیون به عنوان فرآیند افزایش تنوع ژنتیکی شناخته می‌شود (Yilmaz and Boydak, 2006). به طور کلی در حدود ۷۵ تا ۸۰ درصد از موتاسیون‌ها در نسل M_2 بوجود

می‌آیند و تعداد زیادی نیز در نسل‌های بعدی اتفاق می‌افتند (Dubey et al., 2007). قابل ذکر است که اکثر جهش‌ها به صورت مغلوب رخ می‌دهند، از این رو جهش‌های مغلوبی که در نسل M_1 هتروزیگوت هستند، در نسل M_2 پس از خودگشنی قابل تشخیص می‌شوند (Madry et al., 1984). تریپانتی و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه تنوع لاین‌های M_2 گیاه خلر با استفاده از صفات مورفولوژیک توانستند ردیف‌های مطلوب را انتخاب نمایند. صباغی و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی صفات مورفولوژیک در نسل M_2 گیاه شب بو حاصل از القای موتاسیون با اشعه گاما، افزایش میزان تنوع را در صفاتی همچون ارتفاع و کیفیت گل گزارش کردند. عارفی و همکاران (۱۳۸۷) با استفاده از اشعه گاما روی بذور برنج، توانستند ارتفاع آن را به طور معنی‌داری کاهش داده و عملکرد را افزایش دهند. همچنین دو رقم موتانت برنج تابش و پویا نیز معرفی گردید. بابایی و همکاران (۲۰۱۰) در آزمایشی که روی بذور برنج ارقام طارم هاشمی، سنگ طارم و نعمت تحت تابش اشعه گاما با دزهای ۱۵۰، ۲۵۰، ۳۵۰ و۴۵۰ گری انجام دادند بیان نمودند دزهای ۲۵۰ و ۳۵۰ گری تنوع گسترده‌ای روی صفات درصد عقیمی خوشه، ارتفاع گیاه، وزن هزار دانه، و خوشه‌های بارور ایجاد می‌نماید. هدف از این تحقیق، بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های M_2 حاصل از پرتودهی اشعه گاما در برخی ارقام اصلاح شده و بومی برنج از طریق صفات مورفولوژیکی و گروه‌بندی آن‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای بود.

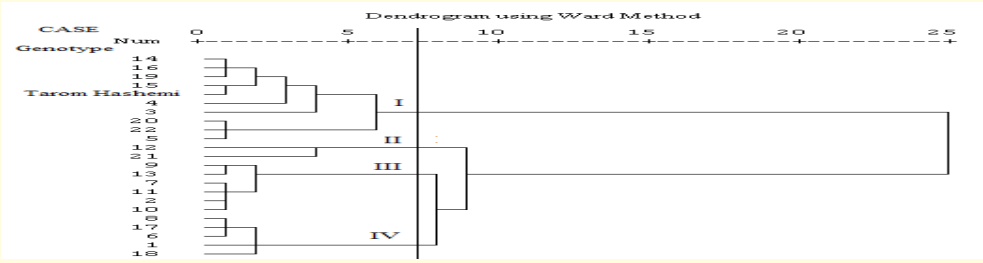
مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی در این تحقیق شامل دو رقم محلی برنج به نام‌های طارم هاشمی و سنگ جو و سه رقم اصلاح‌شده نعمت، فجر و جلودار استفاده شد. جهت القای جهش، پرتودهی بذور با اشعه گاما از چشمه کبالت ۶۰ با دز ۲۰۰ گری در سال ۱۳۹۰ در پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی انجام گردید. در سال زراعی اول بلافاصله بذور پرتوتابی شده به همراه بذور والدینی در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان بذرپاشی و ۳۰ الی ۳۵ روز بعد انتقال نشاها به زمین اصلی انجام گرفت. نشاکاری بصورت تک بوته و با فاصله ۲۰ سانتی متر انجام گردید. در کنار مزرعه M_1، ارقام والدینی نیز در حدود ۳ خط نشاکاری تا ارزیابی فنوتیپی به طور دقیق صورت پذیرد. در نهایت در زمان رسیدگی بذور خوشه‌های اصلی هر بوته در نسل M_1 بصورت جامعه بالک برداشت شد. در سال زراعی ۱۳۹۱ بذور نسل M_1 و والدین نیز همانند سال قبل به صورت تک بوته به تعداد ۵۰۰۰ بوته نشاکاری شد. در زمان گلدهی و رسیدگی، از هر جمعیت تعدادی بوته که از نظر مورفولوژیکی با والد متفاوت بودند انتخاب و برای اندازه‌گیری صفات استفاده گردید. یادداشت‌برداری برخی صفات مهم زراعی و مورفولوژیکی همچون تعداد دانه در خوشه، تعداد دانه پوک در خوشه، طول خوشه، تعداد پنجه بارور، طول دانه، عرض دانه، وزن ۱۰۰ دانه و عملکرد دانه (تک بوته) طبق دستورالعمل ثبت صفات SES[1] در مزرعه انجام و ارزیابی گردید (IRRI, 2002). به‌منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و ارقام والدینی از تجزیه کلاستر با استفاده از روش وارد (Ward) و ضریب تشابه مربع فاصله اقلیدسی از طریق نرم‌افزار SPSS استفاده گردید.

[1] Standard Evaluation System for Rice

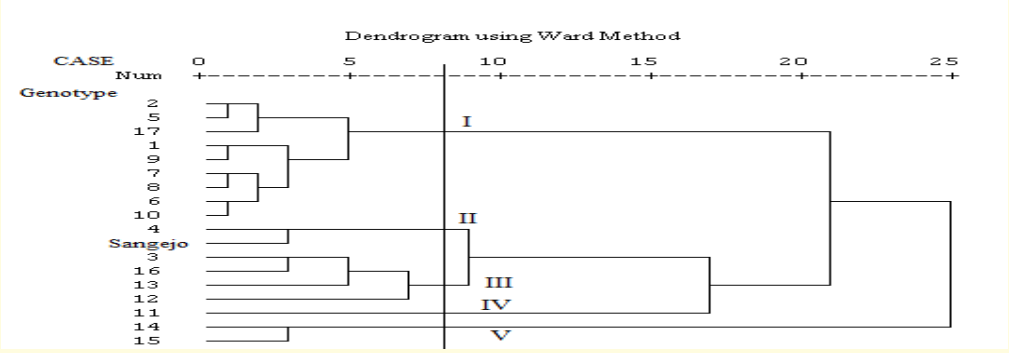
نتایج و بحث

گروه‌بندی رقم طارم هاشمی و نتاج M_2 حاصل از آن ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه قرار داد که رقم والدینی به همراه ۹ ژنوتیپ موتانت در گروه اول قرار گرفته و این گروه دارای بیشترین تعداد ژنوتیپ بوده است. گروه اول نسبت به سایر گروه‌ها دارای بیشترین میزان تفاوت ژنتیکی بوده است. گروه دوم، سوم و چهارم شباهت ژنتیکی بیشتری با یکدیگر داشتند (نمودار ۱). بابایی و همکاران نیز تنوع گسترده‌ای روی برخی صفات مورفولوژیکی در نتیجه القای موتاسیون در ارقام برنج گزارش کردند (Babaei *et al.*, 2010).



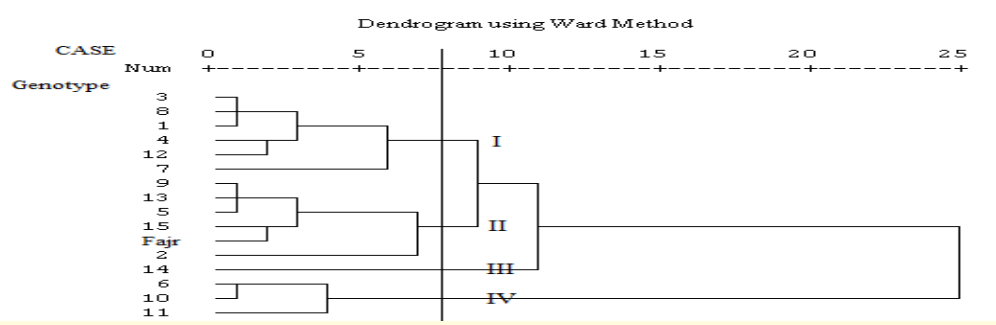
نمودار ۱. دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه برای رقم طارم هاشمی و نتاج M_2 حاصل از آن

در تجزیه کلاستر رقم سنگ جو و نتاج M_2 حاصل از آن ژنوتیپ‌ها به پنج گروه که رقم والدینی به همراه ژنوتیپ موتانت شماره ۴ در گروه دوم قرار گرفته و با گروه سوم که ۴ ژنوتیپ را شامل می‌شود تفاوت ژنتیکی چندانی ندارد. گروه اول که دارای بیشترین تعداد ژنوتیپ بوده است به همراه گروه پنجم نسبت به سایر گروه‌ها دارای بیشترین میزان تفاوت ژنتیکی بوده است (نمودار ۲).



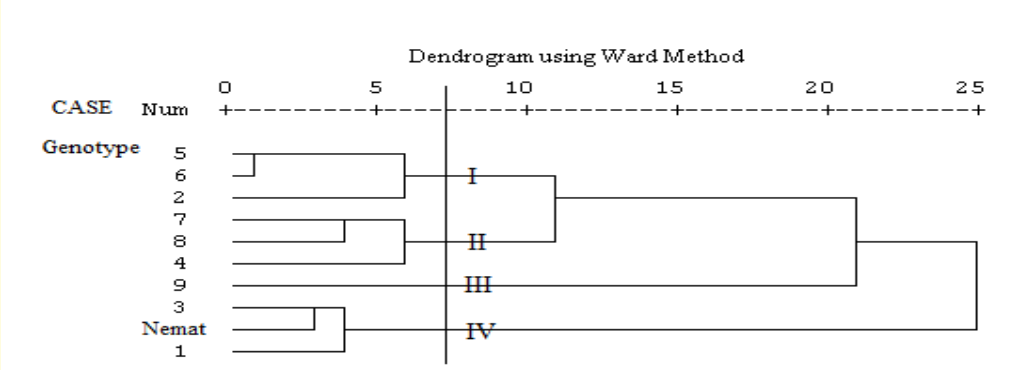
نمودار ۲. دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه برای رقم سنگ جو و نتاج M_2 حاصل از آن

گروه‌بندی رقم فجر و نتاج M_2 حاصل از آن ژنوتیپ‌ها را در چهار گروه قرار داد که رقم والدینی به همراه ۵ ژنوتیپ موتانت در گروه دوم قرار گرفته است. رقم فجر با ژنوتیپ‌های گروه چهارم که سه ژنوتیپ را شامل می‌شود دارای بیشترین میزان تفاوت ژنتیکی بوده است که از این تنوع ژنتیکی می‌توان بهره برد. سه گروه اول تفاوت ژنتیکی چندانی نداشته و در نتیجه تنوع قابل توجه‌ای در آن مشاهده نشد (نمودار ۳).



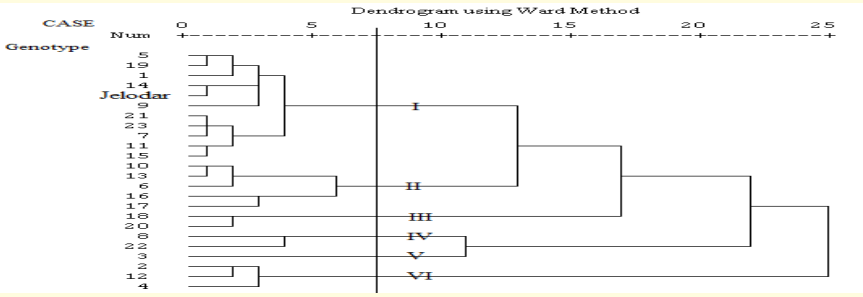
نمودار ۳. دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه برای رقم فجر و نتاج M_2 حاصل از آن

دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر رقم نعمت و نتاج M_2 حاصل از آن نشان داد که ژنوتیپ‌ها در چهار گروه قرار گرفته‌اند که رقم والدینی نعمت به همراه ۲ ژنوتیپ موتانت در گروه آخر قرار گرفته است. گروه چهارم که رقم والدینی نعمت نیز در آن قرار دارد با سایر گروه‌ها دارای بیشترین میزان تفاوت بوده است. ۷۰ درصد از ژنوتیپ‌ها با رقم نعمت تفاوت قابل توجهی داشته‌اند که نشان از تنوع بالا در اثر جهش در این رقم می‌باشد. از بین گروه‌ها، ژنوتیپ گروه سه (موتانت شماره ۹) بیشترین میزان تفاوت ژنتیکی با رقم نعمت داشته‌اند (نمودار ۴).



نمودار ۴. دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه برای رقم نعمت و نتاج M_2 حاصل از آن

گروه‌بندی رقم جلودار به همراه نتاج M_2 حاصل از پرتودهی نشان داد که ژنوتیپ‌ها به ۶ گروه تقسیم شدند. با توجه به این تعداد گروه مشخص شد که تنوع در رقم جلودار در اثر پرتودهی اشعه گاما بیشتر بوده است. رقم جلودار به همراه ۱۰ ژنوتیپ دیگر در گروه اول از دندروگرام قرار گرفته‌اند که بیش از ۴۵ درصد از کل ژنوتیپ‌ها در این گروه قرار گرفتند و نشان از شباهت این ژنوتیپ‌ها با رقم والدینی جلودار است(نمودار ۵). مقایسه دندروگرام‌های ارقام مورد مطالعه در این تحقیق و نتاج M_2 حاصل از آن حاکی است بیشترین میزان تنوع ژنتیکی در رقم جلودار اتفاق افتاده است. در تحقیقی که توسط خادمیان و بابائیان جلودار انجام گردید در نسل دوم (M_2) علاوه بر تعداد زیادی تک بوته‌های موتانت، دو لاین پاکوتاه (MTM2 , MTM1) از تیمار ۳۵۰ گری اشعه گاما بدست آمد (خادمیان و همکاران، ۱۳۸۷).



نمودار ۵. دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه برای رقم جلودار و نتاج M_2 حاصل از آن

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مدیریت محترم پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان به خاطر تأمین اعتبار و پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی سازمان انرژی اتمی ایران و همچنین همکاران محترم پژوهشکده از جمله آقای احمد اسفندیاری قدردانی می‌گردد.

منابع

خادمیان ر و بابائیان جلودار ن، ۱۳۸۷. تولید لاین‌های موتانت پاکوتاه، زودرس و با عملکرد بالا در رقم طارم محلی(*Oryza sativa* L.) از طریق پرتوتابی گاما. دومین همایش ملی کاربرد فناوری هسته‌ای در علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان ترویج، آموزش و تحقیقات کشاورزی- پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی.

صباغی ح، عرب م، لطفی م، عزیزی‌نیا ش، اکبری م، عرب م و دژاهنگ ع، ۱۳۹۱. بررسی تنوع ژنتیک لاین‌های جهش یافته نسل دوم شب‌بوی رقم سنتوم وایت با استفاده از صفات مرفولوژیک. دوازدهمین کنگره ژنتیک ایران، شهید بهشتی، تهران.

عارفی ح و نوروزی م، ۱۳۸۷. معرفی دو رقم جدید برنج از طریق موتاسیون (اشعه گاما)، موسسه تحقیقات برنج کشور- معاونت مازندران، صفحه های ۲ تا ۱۰.

Arulbalachandran DL, Mullainathan S, Karthigayan ST, Somasundaram and Velu S, 2010. Genetic Variation in Mutants of Black Gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) Evaluated by RAPD Markers. J. Crop Sci. Biotech 1: 1- 6.

Babaei A, Nematzadeh GA and Hashemi SHR, 2010. Radio sensitivity studies of mor pho-physiological characteristics in some Iranian rice varieties (*oryza sativa* L) in M_1 generation. African. J. of Agri. Res 16(21): 24-30.

Dubey AK, Yadav JR and Singh B, 2007. Studies on induced mutations by gamma irradiation in okra (*Abelmoschus esculentus (L.*) Monch.). Progressive Agric 71: 46-48.

Firozabadi F, 2010. Principles of genetics and breeding. Lorestan university publishers, Iran p 540.

Madry W, Wosinska A and Ubysz-Borucka L, 1984. Variability of pollen viability in the flowers and inflorescences of China aster (*Callistephus chinensis* Nees) caused by gamma rays in the M_1 and M_2 generations. Acta Agrobotanica 37(2): 133-139.

Tripathy SK, Lenka D, Rajesh R, 2011. Maximization of Mutation Frequency in Grasspea (*Lathyrus Sativus* L.). Legume Research International Journ 34 (4): 296-299.

Yilmaz A and Boydak E, 2006. The effect of cobalt-60 application yield components of cotton (*Gossypium barbadense* L.) Pak. J. Bio. Sci 9(15): 2761-769.