بررسی تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی اکوتیپ‌های مختلف سوروف (*Echinochloa crus-galli* L.)

لیلما سراوانی، عباس بیابانی، ابراهیم غلامعلی‌پور علمداری*، حسین صبوری و زینب اورسجی

ایران، گرگان، دانشگاه گنبد کاووس، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه تولیدات گیاهی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۹/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۳۰

چکیده

بمنظور بررسی تنوع فنوتیپی اکوتیپ‌های سوروف، بذر ۴۸ اکوتیپ از سوروف از مناطق مختلف استان‌های گلستان، گیلان، مازندران، اصفهان و بوشهر از مزارع برنج جمع‌آوری شد و در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در گلخانه دانشگاه گنبد کاووس کشت گردید. صفات مورد بررسی شامل وزن کل خوشه‌ها، تعداد خوشه، وزن خوشه اصلی، طول خوشه اصلی، تعداد خوشه ثانویه، تعداد دانه در خوشه اصلی، وزن کل دانه‌ها، ارتفاع ساقه، تعداد برگ، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، وزن ساقه و برگ، تعداد پنجه، تاریخ گلدهی و بیوماس بود. باتوجه به نتایج تجزیه واریانس، تمامی صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند که این موضوع نشان دهنده تنوع بالای اکوتیپ‌های سوروف می‌باشد. همچنین برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در ۴۸ اکوتیپ سوروف، تنوع آللی مکان‌های ژنی اکوتیپ‌های مختلف سوروف با استفاده از ۱۵ آغازگر رتروترانسپوزون در آزمایشگاه ژنتیک و اصلاح نباتات دانشکده‌ی کشاورزی مورد بررسی قرارگرفت. از تعداد ۸۵ آللی که در کل اکوتیپ‌ها تکثیر شد، ۴۰ قطعه چند شکل بودند. آل‌های چندشکلی شناسایی‌شده توسط هر نشانگر بین ۱ تا ۵ آلل متغیر بود و به‌طور متوسط ۲/۶۶ آلل برای هر جایگاه مشاهده شد. محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) بین ۰/۴۲۴ مربوط به نشانگر iPBS39 تا ۴۹/۹۷ مربوط به نشانگر iPBS38 متغیر بود و به‌طور متوسط ۴۰/۲۱ بود. نشانگر iPBS38 با دارا بودن مقادیر بالای محتوای اطلاعات چندشکلی و تنوع نی و تعداد آلل مؤثر در این مطالعه به‌عنوان بهترین نشانگر جهت بررسی تنوع ژنی در گونه های مختلف سوروف شناسایی شد.

واژه‌های کلیدی: سوروف، تنوع ژنتیکی، iPBS، چند شکلی، شاخص نشانگری، تنوع نی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۱۸۶۱۱۸۵۶ ، پست الکترونیکی: eg.alamdari@gonbad.ac.ir

مقدمه

سوروف (*Echinochloa crus-galli* L.) گیاهی C_4 و گرمادوست است که به دلیل تشابهات مورفولوژیک و فیزیولوژیک زیاد با گیاه برنج مهم‌ترین علف هرز این محصول محسوب می‌شود (۷). سوروف شامل تعداد زیادی اکوتیپ و زیر گونه است، اگرچه این اکوتیپ‌ها ویژگی‌های مورفولوژیکی مشابه دارند، با این حال در پاسخ به علف‌کش متفاوت‌اند. بنابراین شناسایی صحیح از لحاظ اقتصادی مهم است؛ زیرا سوروف به سختی کنترل می‌شود. پارامترهای مورفولوژیکی برای مطالعه رابطه فیلوژنتیک بین گونه‌ها، بررسی هیبریداسیون نزدیک بین گونه‌ها و تنوع ژنتیکی درون یک گونه استفاده می‌شود (۴). آگاهی از تنوع ژنتیکی و مدیریت منابع ژنتیکی ضمن حفاظت ذخایر ژنتیکی، قابلیت استفاده از آن‌ها را در برنامه اصلاحی ممکن می‌سازد (۱). حذف تنوع ژنتیکی در توده¬های بومی و تولید ارقام یکنواخت، آینده را به خطر می‌اندازد. بنابراین شناسایی تنوع ژنتیکی و حفظ و نگهداری ذخایر توارثی، ضروری و یکی از اولین قدم‌ها در یک برنامه به‌نژادی موفق است (۹). امروزه جهت تعیین تنوع ژنتیکی

بین جمعیت‌های حفاظت شده علاوه بر شیوه‌های سنتی (مبتنی بر خصوصیات و نشانگرهای مرفولوژیک و فیلوژنیک) از ابزارها و نشانگرهای نوین مولکولی از جمله نشانگرهای DNA استفاده می‌شود. لذا میزان چند شکلی بدست آمده از این نشانگرهای ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌ها و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین آن‌ها محسوب می‌شود (۵). ترانسپوزون‌ها که در اصلاح ژن‌های جهنده و یا عناصر ژنتیکی قابل انتقال نیز نامیده می‌شوند، توالی‌هایی از DNA هستند که قادرند در پروکاریوت‌ها از یک پلاسمید به یک کروموزم (یا پلاسمید دیگر) و یا در یوکاریوت‌ها از یک قسمت از یک کروموزوم به قسمت دیگری از همان کروموزوم یا کروموزوم‌های دیگر جابه‌جا شوند. وجود یا عدم یک ترانسپوزون در یک مکان ژنی می‌تواند به عنوان یک نشانگر مولکولی برای انگشت نگاری ژنوتیپ‌ها، بررسی تنوع ژنتیکی، تعیین روابط تکاملی و همچنین در تهیه نقشه‌های پیوستگی استفاده شود (۲). علی‌رغم تنوع فنوتیپی بسیار زیاد صفات مورفولوژیکی که در جمعیت‌های طبیعی سوروف مشاهده شده است، پژوهش‌های نسبتاً کمی در زمینه‌های ژنتیکی *E. crus-galli* صورت گرفته است. عبدالشکور جورامی و همکارن (۲۰۰۴) به بررسی تنوع مورفولوژیکی گونه‌های سوروف در ۱۷ مکان از مزارع برنج در مالزی (۱۱ ناحیه) و اندونزی (۶ ناحیه) پرداختند. نتایج بیانگر این بود که تنوع مورفولوژیکی بین توده‌های سوروف نشان می‌دهد که اختلاف بین دو منطقه نشان دهنده نقش تنوع جغرافیایی است (۳).

روی و همکاران (۲۰۰۰) تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف سوروف (*Echinochloa crus-galli* L.) که از دو منطقه امریکای شمالی و اروپا جمع‌آوری شده بود را با استفاده از نشانگرهای RAPD مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از تجزیه مولکولی نشان داد گونه‌هایی که از مناطق اروپایی جمع آوری شده بودند با یکدیگر متفاوتند ولی گونه‌های منطقه امریکای شمالی با یکدیگر متفاوت بودند (۱۱).

کایا و همکاران (۲۰۱۳) به ارزیابی تنوع ژنتیکی در میان ۲۸ گونه سوروف مناطق شمال غرب ترکیه با استفاده از نشانگرهای AFLP پرداختند. متوسط محتوی اطلاعات پلی‌مورفیسم 26/0 (PIC) بود. تجزیه خوشه‌ای به روش پیوستگی متوسط (UPGMA) گونه‌ها را به سه گروه تقسیم کرد. این محققین پرایمر EACA-MCAG را با داشتن بالاترین PIC بهترین ترکیب پرایمری بمنظور بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های سوروف معرفی کردند (۱۰). دانکوا و همکاران (۲۰۰۲) تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف سوروف مورد بررسی قرار دادند. گونه‌های مورد بررسی در مطالعه آن‌ها *E. crus-galli*، *E. colona* و *E. crus-pavonis* بود که از مزارع برنج در مناطق بنگلادش، هند، کلمبیا، کاستاریکا، ساحل عاج و فیلیپین جمع‌آوری شده بود. آن‌ها بیان کردند نتایج تجزیه خوشه‌ای گونه E. colona را به تنهایی در یک گروه قرار داد و ۱۵ نمونه از گونه E. crus-pavonis که از مزارع برنج ساحل عاج جمع‌آوری شده بود در ۴ گروه مختلف قرار داد (۸). هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مختلف سوروف می‌باشد.

مواد و روشها

۴۸ نمونه از بذر سوروف از مناطق مختلف استان¬های گلستان، گیلان، مازندران و بوشهر از گیاهان بالغ درست قبل از ریزش بذر با دست در مزارع برنج جمع‌آوری شد (جدول ۱). برای هر جمعیت، بذر گیاهان در پاکت‌های کاغذی در دمای اتاق تا شروع آزمایش ذخیره شد. آزمایش پارامترهای مورفولوژیکی سوروف در گلخانه در گلدان‌های پلاستیکی (قطر 20 cm ، ارتفاع 25 cm) در دانشگاه گنبد انجام شد. گلدان‌ها با خاک مزرعه برنج پر شدند و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار مرتب شدند. پس از سبز شدن اکوتیپ‌های مختلف سوروف تنک انجام شد و در هر گلدان ۳ بوته برای اندازه‌گیری قرار داده

شد. در طول فصل رشد وجین علف‌های هرز با دست صورت گرفت و گلدان‌ها تا زمان رسیدگی از آب غرقاب شدند. صفات مورفولوژیکی شامل وزن کل خوشه‌ها (گرم)، تعداد خوشه، وزن خوشه اصلی (گرم)، طول خوشه اصلی (سانتی‌متر)، تعداد خوشه ثانویه، تعداد دانه در خوشه اصلی، وزن کل دانه‌ها (گرم)، ارتفاع ساقه (سانتی‌متر)، تعداد برگ، طول برگ پرچم (سانتی‌متر)، عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، وزن ساقه و برگ (گرم)، تعداد پنجه و تاریخ گلدهی بود. برای استخراج DNA از ۴۸ بذر جمعیت جوانه‌زده در پتری دیش صورت گرفت. گیاهچه‌ها در گلدان کشت شدند و تا مرحله ۴-۲ برگی در گلخانه بودند. DNA ژنومی جوان‌ترین برگ از هر جمعیت استخراج شد. استخراج DNA با روش CTAB (۱۳) انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراجی با استفاده از ژل الکتروفورز بررسی شد. برای انجام واکنش PCR از ۱۵ نشانگر رتروترانسپزون استفاده شد. فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک و با اتیدیوم بروماید در زیر نور UV با دستگاه ژل داک رنگ آمیزی شدند. در نهایت برای محاسبه تنوع ژنی مشاهده شده و تعداد آلل‌ها از نرم‌افزار POPGEN استفاده شد. از نرم‌افزار SAS برای محاسبه تجزیه واریانس و مقایسه میانگین استفاده شد. بمنظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی، تجزیه کلاستر بر اساس صفات مورفولوژیک به روش WARD با نرم افزار SPSS انجام شد.

نتایج

تنوع بین جمعیتی این گونه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین صفات مورد بررسی وجود دارد. با توجه به جدول ۲ تمامی صفات اندازه‌گیری شده در ۴۸ گونه مختلف سوروف که از نظر ژنوتیپ مورد بررسی قرارگرفتند در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شدند. بیشترین ضریب تغییرات برای وزن کل دانه‌ها (۳۶/۹۰) و کمترین مقدار ضریب تغییرات برای صفت طول خوشه اصلی (۱۱/۷۴) می‌باشد.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها با روش LSD نشان داد که برای صفت وزن خوشه ژنوتیپ کردکوی، صفت تعداد خوشه ژنوتیپ شیرگاه، صفت وزن خوشه اصلی ژنوتیپ رامیان، صفت طول خوشه اصلی ژنوتیپ لشت نشا، صفت تعداد خوشه‌چه ثانویه ژنوتیپ بابلسر، صفات تعداد دانه در خوشه اصلی و وزن کل دانه‌ها ژنوتیپ نشتارود، صفات ارتفاع ساقه و تاریخ گلدهی ژنوتیپ چمستان، صفت تعداد برگ ژنوتیپ نوده آزادشهر، صفت طول برگ پرچم ژنوتیپ ساری، صفت عرض برگ پرچم ژنوتیپ نوده، صفت وزن ساقه و برگ ژنوتیپ قوینلی و صفت تعداد پنجه ژنوتیپ نورآباد ممسنی ۱ دارای بیشترین مقدار بودند.

در تجزیه خوشه‌ای که براساس صفات مورفولوژیک ذکر شده و با استفاده از روش WARD انجام شد، نهایتاً سه گروه براساس دندروگرام حاصل انتخاب شدند (شکل ۱). گروه اول دارای ۱۷ ژنوتیپ بودند که اکثر ژنوتیپ‌ها از استان‌های گیلان و مازندران بودند، در این گروه از اکوتیپ‌هایی شهرهای جنوبی هم قرار داشتند. تعداد اکوتیپ‌های گروه دوم بیشتر متعلق به استان مازندران و تعدادی نیز از استان گلستان بود. در گروه سوم همه ژنوتیپ‌ها به‌جز ژنوتیپ شوش از استان گلستان و از اطراف شهر گنبد بودند.

نتایج مربوط به این معیارها برای هر جایگاه با استفاده از نرم‌افزار Popgene در (جدول ۳) آورده شده است.

تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف سوروف با استفاده از ۱۵ آغازگر رتروترانسپوزون با نرم‌افزار PAST برای داده‌های مولکولی براساس روش UPGMA و ضریب جاکارد مورد بررسی قرارگرفت. آغازگرهای استفاده شده برای آنالیز تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف سوروف در مجموع توانستند ۸۵ مکان را شناسایی کنند که ۴۰ مکان از آن‌ها

چندشکلی را نشان دادند. از ۸۵ باند تشکیل‌شده، ۲/۶۶ درصد از باندها چند شکل بودند و نیز میانگین درصد چندشکلی، ۴۷/۵ درصد برآورد شد نشانگرهای iPBS49 و iPBS31 با ۹ باند و توالی آغازگری ۵`-ACCTAGCTCATCATGCCA-3` و ۵`-GCTCTGATACCA-3` بیش‌ترین تعداد باند و ترکیب نشانگری iPBS41 با ۳ باند کم‌ترین تعداد باند را به خود اختصاص داد. آلل‌های چندشکلی شناسایی‌شده توسط هر نشانگر بین ۱ تا ۵ آلل متغیر بود و به‌طور متوسط ۲/۶۶ آلل برای هر جایگاه مشاهده شد، و محتوای اطلاعات چندشکلی بین ۰/۴۲۴ تا ۴۹/۹۷ متغیر بود و به‌طور متوسط ۳۲/۶۲ بود. بیش‌ترین شاخص نشانگری (MI)، 18/159 مربوط به نشانگر iPBS34 و کمترین آن مربوط به نشانگر iPBS39 با مقدار ۰/۱ به‌دست آمد. تعداد آلل‌های مؤثر در بین نشانگرهای مطالعه شده متفاوت بود. میانگین تعداد آلل‌های مؤثر در کل ۱/۷۴۵ به دست آمد و از ۱/۰۴ تا ۱/۹۹۹ متغیر بود. بیش‌ترین تعداد آلل مؤثر برای پرایمرها iPBS38 با مقدار ۱/۹۹۹ شناسایی شد و کم‌ترین تعداد آلل¬های مؤثر برای نشانگر iPBS43 با مقدار ۱/۰۴ شناسایی شد.

جدول ۱- اکوتیپ‌های سوروف مورد بررسی از مناطق مختلف ایران

شماره	نام محل	شماره	نام محل	شماره	نام محل	شماره	نام محل	شماره	نام محل	شماره	نام محل
۱	قزلجه ماتی	۹	دزفول	۱۷	نوده	۲۵	نشتارود	۳۳	گالیکش ینقاق	۴۱	اهواز
۲	آستانه اشرفیه	۱۰	کوچصفهان	۱۸	کلاله اسلامی	۲۶	سلمانشهر ۳	۳۴	گالیکش	۴۲	درودزن
۳	ده حسن خان مینودشت	۱۱	لشت نشا	۱۹	رامیتن	۲۷	گنبد ایگدر	۳۵	قوینلی	۴۳	چمستان
۴	پیشکمر	۱۲	بهشر	۲۰	دانشگاه گنبد	۲۸	رودسر	۳۶	بابلسر مازندران	۴۴	پشمک
۵	نورآباد ممسنی	۱۳	شوش	۲۱	مرودشت	۲۹	کلاله بانیان	۳۷	نور مازندران	۴۵	گالیکش قنات
۶	گیلان	۱۴	گنبد ۲	۲۲	درودزن فارس ۵	۳۰	گنبد بایلر	۳۸	فاضل آباد آزادشهر	۴۵	نورآباد ممسنی ۱
۷	الوان	۱۵	سلمانشهر	۲۳	کردکوی	۳۱	فریدون کنار مازندران	۳۹	درودزن فارس	۴۷	شیرگاه
۸	نوده آزادشهر	۱۶	گنبد ۱	۲۴	بابل	۳۲	نگین شهر	۴۰	علمده محمود آباد	۴۸	ساری

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مختلف سوروف

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		وزن کل دانه‌ها	تعداد دانه در خوشه اصلی	تعداد خوشه ثانویه	طول خوشه اصلی	وزن خوشه اصلی	تعداد خوشه	وزن کل خوشه‌ها	ارتفاع ساقه
تیمار	۴۷	۰/۳۷**	۴۶۲۴۱/۸۰**	۱۷/۳۵**	۱۳/۰۸**	۰/۳۹**	۲۹۹/۷۳**	۳۵/۱۶**	۶۹۷/۹۵**
خطا	۹۶	۰/۰۶	۶۷۰۰/۶۳	۲/۷۶	۱/۸۳	۰/۰۶۱	۳۰/۵۳	۱/۲۴	۳۰۳/۹۸
ضریب تغییرات		۳۶/۹۰	۲۳/۵۵	۱۴/۴۱	۱۱/۷۴	۳۲/۶۹	۳۴/۴۵	۲۵	۱۷/۶۰

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

ادامه جدول ۲

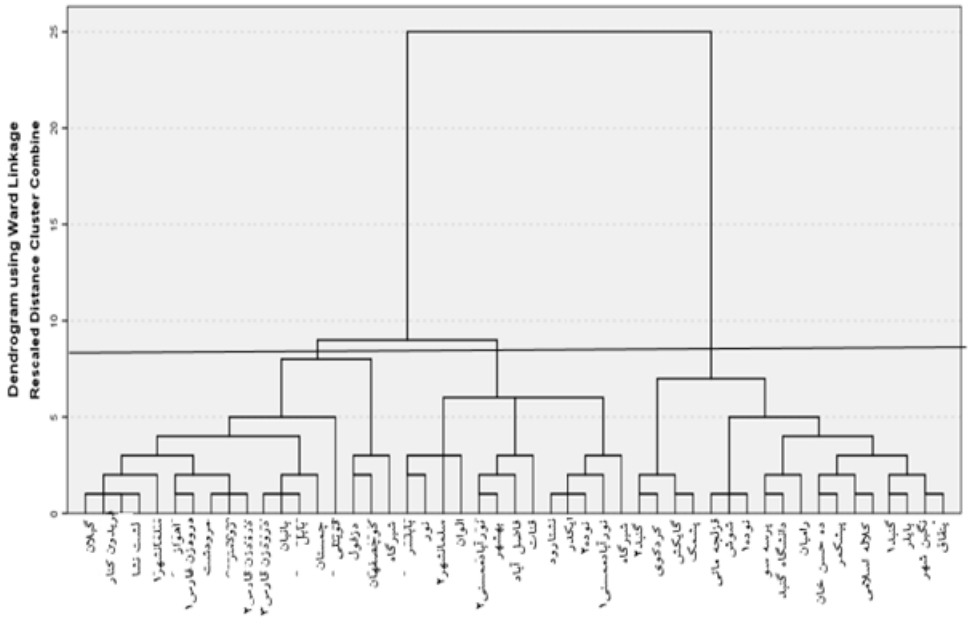
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		تاریخ گلدهی	تعداد پنجه	وزن ساقه و برگ	عرض برگ پرچم	طول برگ پرچم	تعداد برگ	**بیوماس**
تیمار	۴۷	۱۸۸/۸۲**	۱۱۶/۱۰**	۵۴۱/۸۷**	۰/۰۵**	۴۲/۱۴**	۱۰۲۹۱/۶۴**	**۷۰۳/۲۴****
خطا	۹۶	۹۸/۴۷	۱۱/۹۹	۷۶/۰۳	۰/۰۱	۹/۹۸	۱۶۳۶/۵۹	**۸۲/۴۴**
ضریب تغییرات		۱۵/۴۲	۱۹/۳۲	۲۶/۸۴	۱۵/۳۹	۱۴/۵۰	۲۳/۴۹	۲۴/۵۸

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

جدول ۳- میزان چندشکلی، متوسط تعداد آلل‌های مؤثر و مشاهده شده و سایر پارامترهای محاسبه شده

نام آغازگر	توالی آغازگر	تعداد کل باندها	تعداد باندهای چندشکل	تعداد باندهای یک شکل	درصد چند شکلی	شاخص نشانگری MI	محتوای اطلاعات چندشکلی	شاخص شانون	شاخص تنوع ژنتیکی نی	تعداد آلل مؤثر
37-20	5`-CAGACGGCGCCA-3`	۸	۵	۳	۶۲/۵	۱۵۰/۹۸	۴۸/۱۳	۰/۶۵۹	۰/۴۶۶	۱/۸۸۲
49-210	5`-ACCTAGCTCATCATGCCA-3`	۹	۴	۵	۴۴/۴۴	۸۸/۳۰	۴۹/۶۶	۰/۶۸۴	۰/۴۹۲	۱/۹۷۰
38-210	5`-GCAACGGCGCCA-3`	۷	۴	۳	۵۷/۱۴	۱۱۴/۲۴	۴۹/۹۷	۰/۶۹۰	۰/۴۹۹	۱/۹۹۹
41-210	5`-ACCTAGCTCACGATGCCA-3`	۳	۲	۱	۶۶/۶۶	۵۶	۴۲	۰/۶۷۹	۰/۴۸۶	۱/۹۴۷
42-210	5`-ATCCTGGCAATGGAACCA-3`	۶	۳	۳	۵۰	۷۳/۱۷	۴۸/۷۷	۰/۶۸۳	۰/۴۷۱	۱/۹۰۲
32-210	5`-CTCATGATGCCA-3`	۵	۱	۴	۲۰	۹/۹۷	۴۹/۸۱	۰/۶۹۲	۰/۴۹۷	۱/۹۹۶
43-210	5`-ACTTGGATGCTGATACCA-3`	۴	۱	۳	۲۵	۰/۹۹	۳/۹۹	۰/۰۹۸	۰/۰۳۹	۱/۰۴
31-210	5`-GCTCTGATACCA-3`	۹	۳	۶	۳۳/۳۳	۰/۴۶	۰/۴۶۱	۰/۵۱۷	۰/۳۳۶	۱/۰۲۷
39-210	5`-CTTCTAGCGCCA-3`	۴	۱	۳	۲۵	۰/۱۰	۰/۴۲۴	۰/۶۱۶	۰/۴۲۸	۱/۷۳۸
50-210	5`-GCCCCATGGTGGGCGCCA-3`	۴	۲	۲	۵۰	۰/۴۹	۰/۴۹۲	۰/۶۰۶	۰/۴۱۷	۱/۲۰۴
44-210	5`-AGAGAGGCTCGGATACCA-3`	۷	۲	۵	۲۸/۵۷	۰/۲۷	۰/۴۶۹	۰/۶۰۶	۰/۴۱۷	۱/۷۲۷
48-210	5`-AACCTGGCTCAGATGCCA-3`	۵	۲	۳	۴۰	۳۹/۹۹	۴۹/۹۷	۰/۶۸۹	۰/۴۹۶	۱/۹۸۷
47-210	5`-ACCTAGGCTCGGATGCCA-3`	۵	۴	۱	۸۰	۱۴۵	۴۵/۳۱	۰/۶۳۵	۰/۴۴۳	۱/۸۰۴
34-210	5`-CTCACGATGCCA-3`	۵	۴	۱	۸۰	۱۵۹/۱۸	۴۹/۷۴	۰/۶۸۵	۰/۴۹۲	۱/۹۷۰
45-210	5`-CCCCTACCTGGCGTGCCA-3`	۴	۲	۲	۵۰	۴۹/۹۲	۴۹/۹۱	۰/۶۹۰	۰/۴۹۷	۱/۹۹۱
کل	-	۸۵	۴۰	۴۵	۷۱۲/۶۴	۸۸۹/۰۵	۴۸۹/۳۴	۹/۲۲۹	۶/۰۳۲	۲۶/۱۸۴
میانگین	-	۵/۶۶	۲/۶۶	۳	۴۷/۵۰	۲۷/۵۹	۳۲/۶۲	۰/۶۱۵	۰/۴۰۲	۱/۷۴۵

برآورد شاخص شانون نشان داد میزان تنوع از ۰/۰۹۸ تا ۰/۶۹۲ متغیر است و ترکیبات آغازگری iPBS32، iPBS38 و iPBS45 بترتیب با مقادیر ۰/۶۹۲ و ۰/۶۹۰ بیش‌ترین میزان تنوع ژنتیکی شانون را دارا بودند. میانگین تنوع نی ۰/۴۰۲ برآورد گردید. نشانگر iPBS38 با دارا بودن مقادیر بالای محتوای اطلاعات چندشکلی و تنوع نی و تعداد آلل مؤثر در این مطالعه به‌عنوان بهترین نشانگر جهت بررسی تنوع ژنی شناسایی شد.



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه¬ای بر اساس صفات مورفولوژیک

بحث و نتیجه‌گیری

مطابق نتایج تجزیه واریانس بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اختلاف معنی‌دار وجود داشت که نشان دهنده وجود تنوع زیاد بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی برای صفات اندازه‌گیری شده بود. تنوع بین اکوتیپ‌های مورد بررسی با توجه به موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه برداری شده مورد انتظار بود. بارت و همکاران (۱۹۸۱) تنوع چهار جمعیت مختلف سوروف (*Echinochloa crus-galli*) را از لحاظ توانایی مهاجرت و تنوع در تاریخچه زندگی به صورت طرح کاملاً تصادفی و در گلخانه مورد بررسی قرار دادند. این چهار واریته شامل *crus-galli* var.، var. oryzicola، var. frumentacea و *E. muricata* بودند. صفات مورد بررسی در این پژوهش شامل وزن خشک، میزان باروری، تاریخ گلدهی و تعداد دانه بود. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین گونه‌ها از لحاظ صفات مورد بررسی وجود دارد (۶).

تجزیه خوشه‌ای برای پیدا کردن دسته‌های واقعی و هم‌چنین کاهش تعداد داده‌ها می‌باشد. به‌عبارت دیگر هدف شناسایی تعداد کم‌تری از گروه‌ها می‌باشد. بنابراین گروه‌هایی که شباهت بیش‌تری با یکدیگر دارند در یک گروه قرار داده می‌شوند و می‌توان گفت که تجزیه خوشه‌ای اصولی‌ترین روش برای برآورد شباهت بین افراد در یک مجموعه است. براساس نتایج حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها با تجزیه خوشه‌ای براساس روش وارد، برش دندروگرام ژنوتیپ‌ها را به ۳ گروه تقسیم کرد. بیش‌ترین تعداد ژنوتیپ‌ها در گروه اول و سوم (۱۷ ژنوتیپ) و کم‌ترین تعداد ژنوتیپ‌ها در گروه دوم (۱۳ ژنوتیپ) قرار گرفتند. باتوجه به نوع اکوتیپ‌های قرارگرفته در یک کلاستر، می‌توان انتقال و پراکنش اکوتیپ‌ها در استان‌های مجاور هم را دلیل گروه‌بندی عنوان کرد. اکوتیپ‌های موجود در یک کلاستر از نظر ویژگی‌های مرفولوژیک و مولکولی شباهت زیادی بهم داشتند. در واقع این گروه‌بندی تا حدودی توانست ژنوتیپ‌های اطراف شهر گنبد را در یک گروه قرار دهد. پراکندگی بذر سوروف به علت کشت بذور برداشت شده برنج آلوده به بذر سوروف که در بین شهرهای مختلف انتقال داده می‌شود، و همچنین

باتوجه به اینکه بذر سوروف قدرت تطبیق زیاد با شرایط متفاوت محیطی مرتبط را دارد، در بین شهرها زیاد می‌باشد.

روتلدگ و همکاران (۲۰۰۰) برای ارزیابی تنوع ژنتیکی میان جمعیت¬های مقاوم *E.corp-galli* در ۷ منطقه آرکانزاس و یک جمعیت از می‌سی‌سی‌پی، از لحاظ منشأ، مقاومت و پراکندگی آن، از ۱۳ نشانگر RAPD استفاده کردند. این نشانگرها در مجموع ۱۵۹ قطعه تکثیر کردند. فاصله ژنتیکی در میان جمعیت ها محاسبه شد و جمعیت ها خوشه بندی شدند. نتایج تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها را به دو گروه تقسیم بندی کرد (۱۲). در تحقیق عبدالشکور جورامی و همکارن (۲۰۰۴) تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها را به ۳ گروه اصلی تقسیم بندی نمود (۳). در پژوهشی دانکوا و همکاران (۲۰۰۲) در پژوهشی گزارش کردند که نتایج تجزیه خوشه‌ای منجر به تشکیل چهار گروه شد (۸).

آغازگرهای استفاده شده برای بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف سوروف در مجموع توانستند ۸۵ مکان را شناسایی کنند که ۴۰ مکان از آن‌ها چند شکلی را نشان دادند. پرایمر iPBS38 با دارا بودن بیش‌ترین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی و تنوع نی و تعداد آلل مؤثر در این مطالعه به‌عنوان بهترین نشانگر جهت بررسی تنوع ژنی شناسایی شد که باتوجه به این درصد چندشکلی می‌توان انتظار داشت که این نشانگرها بتوانند به‌عنوان یک ابزار قدرتمند در شناسایی و تفکیک گونه‌های سوروف عمل نمایند. آلتوپ و منان (۲۰۱۰) تنوع مورفولوژیکی و ژنتیکی جمعیت سوروف از ۳۴ مکان مختلف ترکیه را با استفاده از ۷ ترکیب پرایمری نشانگر RAPD مورد مطالعه قرار دادند. این نشانگرها ۵۵ باند تکثیر کردند که درصد چند شکلی آن‌ها ۷۵/۵۴ درصد بود. تجزیه خوشه¬ای بر اساس ضرایب جاکارد و به روش پیوستگی متوسط (UPGMA) گونه‌ها را به ۶ گروه تقسیم کرد. نتایج این پژوهش نشان دهنده‌ی تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی بالا بین ژنوتیپ‌ها در مکان‌های جغرافیایی بود (۴).

تسریف و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که تغییرات در ارتفاع بوته، طول خوشچه، سطح برگ، تعداد دانه در سنبلچه، طول ریشک و صفات دیگر در جمعیت‌های *E. crus-galli* مناطق مختلف جغرافیایی سوروف با هم اختلاف دارند. این اختلاف مورفولوژیکی در ساختار کانوپی و توانایی رقابتی گونه‌ها تغییر ایجاد می‌کند (۱۴).

باتوجه به میزان بالای چندشکلی به‌دست‌آمده که نشان‌دهنده‌ی کارایی بالای نشانگر iPBS در مطالعات مربوط به تنوع ژنتیکی می‌باشد لذا توصیه می‌گردد که از این نشانگر جهت بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان دیگر استفاده شود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین صفات مورد بررسی وجود دارد. تمامی صفات اندازه‌گیری شده در ۴۸ گونه مختلف سوروف که از نظر ژنوتیپ مورد بررسی قرارگرفتند، در سطح احتمال یک درصد ($P>0/01$) معنی‌دار شدند. در تجزیه خوشه‌ای که براساس صفات مورفولوژیک و به روش WARD انجام شد نهایتاً ۳ گروه را براساس دندروگرام مشخص نمود. آغازگرهای استفاده شده برای بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف سوروف در مجموع توانستند ۸۵ مکان را شناسایی کنند که ۴۰ مکان از آن‌ها چند شکلی را نشان دادند. پرایمر iPBS38 دراین مطالعه به‌عنوان بهترین نشانگر جهت بررسی تنوع ژنی شناسایی شد.

منابع

۱- قره‌یاضی، ب.، ۱۳۷۵. کاربرد نشانگرهای دی ان آ در اصلاح نباتات ایران. مجموعه مقالات کلیدی چهارمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات. ۴-۷ شهریور.

۲- نقوی، م. ر.، قره‌یاضی، ب.، و حسینی سالکده، ق.، ۱۳۸۸. نشانگرهای مولکولی، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۲۹۱-۱۲۵.

3- Abdul Shukor Juraimi, A., Suhaimi napis, J., and sastroutomo, S. S., 2004. Morphological variation of the ectyps of *Echinochloa crus-galli* var crus-galli (L). Beauv (Barnyard grass: Poaceae) in Malaysia and Indonesia. Biotropia, 22, PP: 1-14.

4- Altop, E. K., and Mennan, H., 2010. Genetic and morphologic diversity of *Echinochloa crus-galli* populations from different origins, Phytoparasitica, 39, PP: 93–102.

5- Bagheri, A., Darbandi, A., and Malboobi, M. A., 2002. Practical applications of Plant Molecular Biology. Ferdowsi Mashad University Publications, PP: 122-124.

6- Barrett, C. H., and Black Vilson, B. F., 1981. Colonizing ability in the *Echinochloa crus-galli* complex (barnyard grass), I., Variation in life history, Journal of Botany, 59 (10), PP: 1844-1860.

7- Chauhan, B. S., and Johnson, D. E., 2007. An influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of *Eclipta* (*Eclipta prostrata*) in a tropical environment, Weed Science, 56, PP: 383-388.

8- Danquah, E. Y., Johnson, D. E., Riches, C., Arnold, G. M., and Karp, A., 2002. Genetic diversity in *Echinochloa* spp, Collected from different geographic origins and within rice fields in Coˆ te d'Ivoire, Weed Research, 42, PP: 394–405.

9- Ghasemi, K., 1999. Investigation on genetic diversity in cotton genotypes by RAPD markers, MSc thesis in plant breeding, Tehran University, 16.

10- Kaya, H. B., Demirci, M., and Tanyolac, B., 2013. Genetic structure and diversity analysis revealed by AFLP on different *Echinochloa* spp. from northwest Turkey. Plant System Evolution, 300: 1337-1347.

11- Roy, S., Simon, J. P., and Lapointe, F. J., 2000. Determination of the origin of the cold-adapted populations of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*) in eastern North America: a total-evidence approach using RAPD DNA and DNA sequences, Journal of Botany, 78(12), PP: 1505-1513.

12- Ruteledeg, J., Ronald, E. T., and Sneller, C. H., 2000. RAPD analysis of genetic variation among propanil-resistant and -susceptible *Echinochloa crus-galli* populations in Arkansas. Weed Science, 48(6), PP: 669-674.

13- Saghai Maroof, M. A., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q., and Allard, R. W., 1994. Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barely species diversity, chromosomal location, and population dynamics, proceeding of the National Academy of Sciences. USA, 91, PP: 5466-5570.

14- Tasrif, A., Juraimi, A. S., Kadir, J., Sastroutomo, S. S., and Napis, S., 2004. Genetic diversity of *Echinochloa crusgalli* var, crus-galli (L.) Beauv, (Barnyardgrass: Poaceae) ecotypes in Malaysia and Indonesia as revealed by RAPD markers, Asian Journal of Plant Sciences, 3, PP: 231–238.

Study of genetic and phenotypic diversity of different species and ecotype of *Echinochloa crus-galli* L.

Saravani L., Biabani A., Gholamalipur Alamdari E., Sabouri H and Avarsaji Z.

Dept. of Plant Production Community Verified icon, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Univesity, Gorgan,I.R. of Iran.

Abstract

In order to study the phenotypic variation of *Echinochloa crus-galli* L., seeds of 48 species from different regions of Golestan, Gilan, Mazandaran, Sari and Bushehr were collected from rice fields and in a completely randomized design with three replications University of Gonbad Kavous were planted. Evaluations consisted of the total weight of panicle, the number of panicle, the main panicle weight, main panicle length, number of secondary branches, the main grain number, total grain weight, plant height, number of leaves, flag leaf length, flag leaf width, weight stems and leaves, flowering date and the number of tiller. According to the results of variance analysis, whole traits were significant at 1% that showed the diversity of species of *E. crus-galli*. In case of assessing genetically variation of 48 genotypes of *E. crus-galli* and in order to increasing the genetically loci of barley, we used 15 iPBS primers. This study took place in genetic and plant breeding laboratory of agricultural faculty of Gonbad Kavous University. From the 85 allels which were observed for all varieties, 40 pieces of them were polymorphism. The identified polymorphism allels observed by every primer, were 1 to 5 diverse allels (in average 62.66 allels for every section). The content of polymorphism of information (PIC) observed between 0.424 for the primer iPBS39 until 49.97 related to the primer iPBS48 and iPBS38 and finally 32.62 in average. The primer iPBS43 with the quantity of 0.098 was showed the least variation of Shannon. The average Nei is recorded 0.402 in this study. The best primer in order to study the genetic variation and having the most informative polymorphism and number of effective allels was the primer PR-38, Therefor it is recommended that is better to use it in reformatory works.

Key words: Distinctive criterion, *Echinochloa crus-galli*, Genetic diversity, iPBS, Polymorphism, Nei diversity.