

بررسی همبستگی ژنتیکی و تنوع صفات مورفولوژیکی القاء شده در جمعیت موتانت برنج (*Oryza sativa* L.) رقم هاشمی

لیلا خزائی^۱، رضا شیرزادیان خرم‌آباد^{۲*}، علی‌اکبر عبادی^۳ و علی مؤمنی^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت

۲- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

۳- استادیار، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت

۴- دانشیار، موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، آمل

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۸)

چکیده

جهش‌زایی به‌عنوان یکی از منابع مهم ایجاد تنوع ژنتیکی بوده و موتانت‌های گیاهی می‌توانند منابع مهم زیستی برای اصلاح گیاهان و مطالعه عملکرد ژن‌ها محسوب شوند. روش‌های مرسوم اصلاحی برای ایجاد تنوع ژنتیکی از راندمان پایینی برخوردار هستند. ما نشان دادیم، تیمار بذور برنج رقم هاشمی با ۰/۸ درصد اتیل متان سولفونات (EMS) برای ۸ ساعت، سبب تغییرات فنوتیپی قابل مشاهده‌ای روی ژنوتیپ‌های موتانت برنج نسل M₂ از نظر تعداد روز تا گلدهی، ارتفاع بوته، تعداد پنجه بارور، طول خوشه، تعداد دانه‌های پر و خوشه‌چه‌های پوک در خوشه، طول دانه، عرض دانه، وزن صد دانه و عملکرد دانه می‌شود. ضرایب تنوع فنوتیپی بیشتر صفات بالاتر از ژنتیکی بود. تعداد دانه پر در خوشه بیشترین و طول دانه کم‌ترین وراثت‌پذیری عمومی را داشت. عملکرد دانه نیز از وراثت‌پذیری نسبتاً بالایی برخوردار بود. تجزیه همبستگی میان صفات مختلف در ژنوتیپ‌های موتانت نشان داد که عملکرد با تعداد پنجه بارور و تعداد دانه پر در خوشه همبستگی فنوتیپی مثبت معنی‌داری دارد. هم‌چنین عملکرد دانه با طول خوشه، تعداد پنجه و تعداد دانه پر در خوشه در سطح ژنوتیپی همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. در تجزیه رگرسیون چندگانه به روش گام به گام، صفات تعداد پنجه، تعداد دانه پر در خوشه، وزن صد دانه و عرض دانه به‌ترتیب وارد مدل شدند که ۹۶ درصد از تغییرات عملکرد دانه را توجیه کردند. تجزیه ضرایب مسیر عملکرد دانه و اجزای آن نشان داد که صفت تعداد پنجه بیشترین اثر مستقیم (۰/۷۷) را نسبت به سایر صفات روی عملکرد دانه داشت و می‌تواند به‌عنوان مهم‌ترین صفت جهت بهبود عملکرد دانه در برنج معرفی شود. هم‌چنین بر اساس نتایج این تحقیق و با استفاده از شاخص‌گزینی بهینه، ژنوتیپ‌های EM 18-17-5 و EM 15-14-1 به‌عنوان ژنوتیپ‌های موتانت برتر انتخاب شدند. انتظار می‌رود این جمعیت موتانت به‌عنوان یک منبع ژنتیکی برای درک ساختار صفات در برنج و استفاده در بهبود ژنتیکی صفات کمی با تنوع پایین استفاده شوند.

واژگان کلیدی: برنج، تنوع ژنتیکی، جهش‌زایی، شاخص، غلظت، EMS

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: r.shirzadian@guilan.ac.ir

مقدمه

برنج غذای اصلی نیمی از جمعیت جهان است که بیش از ۲۰ درصد کالری مصرفی این جمعیت روبه رشد را تأمین می‌کند. افزایش روزافزون جمعیت، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، محدود بودن امکان گسترش اراضی زیر کشت، به‌ویژه برای برنج و عواملی مانند تنش‌های محیطی، بیماری‌ها و کاهش حاصلخیزی خاک‌های موجود، ضرورت افزایش عملکرد محصولات کشاورزی را در واحد سطح ایجاد می‌کند (Jiang et al., 2012). از آنجائی که تنوع در سطح گونه‌های گیاهی به‌دلیل کارهای اصلاح به‌نژادی و به‌دنبال آن، فرسایش شدید منابع ژنتیکی، به سطح پایینی رسیده است؛ لذا ایجاد جهش می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مناسب برای افزایش تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی و هم‌چنین مطالعه عملکرد ژن‌ها مورد توجه و استفاده قرار گیرد (Kanra and Brunner, 1970). تکامل و اصلاح گیاهان به وجود تنوع ژنتیکی در صفات مطلوب وابسته است. جهش‌زایی می‌تواند باعث تغییرات ژنتیکی در مکان‌های کنترل‌کننده صفات مهم اقتصادی در لاین‌های اصلاحی شود. تلاش‌های فراوانی به‌وسیله محققان مختلف در جهت تعیین بهترین روش جهش‌زایی برای القای صفات مطلوب و تجاری در برنج صورت گرفته است (Jankowicz-Cieslak and Till, 2016). در میان عوامل جهش‌زا، مواد جهش‌زای شیمیایی، خصوصاً اتیل متان سولفونات (EMS) به‌دلیل کارایی بالا، عدم نیاز به تجهیزات خاص، فراوانی بالای جهش نقطه‌ای با حداقل شکست کروموزومی، آنیوپلوئیدی، نرعیمی و مرگ و قابل استفاده بودن در هر ژنوتیپی، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mohapatra et al., 2014). اتیل متان سولفونات یک ماده جهش‌زای شیمیایی مناسب است که به‌عنوان عامل آلکیلاسیون، قادر به ایجاد جهش‌های نقطه‌ای از طریق جایگزینی بازهای آلی گوانین (G) و تیمین (C) به‌وسیله بازهای آلی آدنین (A) و تیمین (T) می‌شود و این تبدیل در زمان ترجمه رمز ژنتیکی، ممکن است باعث تغییر اسیدآمینو و کارکرد پروتئین شود (Zhao et al., 2015; Kanra and

Brunner, 1970). این روش مقرون‌به‌صرفه بوده و زمان اصلاح یک رقم را بدون تغییر بقیه محتوای ژنتیکی کاهش می‌دهد (Micke, 1999). روش به‌نژادی بر پایه جهش، اخیراً به‌طور گسترده‌ای در اغلب گیاهان زراعی به‌منظور تولید و انتخاب ژنوتیپ برتر مورد استفاده قرار می‌گیرد، به‌طوری که تاکنون بیش از ۳۲۰۰ واریته در دنیا از طریق القای جهش تولید و معرفی شده است (Jankowicz-Cieslak and Till, 2016; MVD, 2016). طبق گزارش‌های مشترک سازمان خواربار کشاورزی (FAO) و آژانس بین‌المللی انرژی اتمی (IAEA)، ارقام متعددی از برنج با استفاده از روش جهش القایی ایجاد و به بازارهای جهانی عرضه شده است. تلاش‌های گسترده‌ای که در جهت القای جهش در برنج به‌عمل آمده توانسته به پاکوتاهی، زودرسی، تغییرات مورفولوژیک در ساختمان برگ، تغییر ارزش غذایی، ایجاد نرعیمی، افزایش تعداد پنجه‌های بارور، مقاومت به ورس و مقاومت به بیماری منجر شود که در نهایت باعث افزایش عملکرد برنج شده است (Domingo et al., 2007). احمدی‌خواه و همکاران (Ahmadikhah et al., 2014) با استفاده از ایجاد جهش‌زایی توسط اتیل متان سولفونات بر برنج رقم ندا نشان دادند که تفاوت بسیار معنی‌داری میان موتانت‌ها در تمام صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده وجود داشت. تعداد هفت لاین، عملکرد بالاتری نسبت به رقم مادری نشان دادند که در بیش‌تر آن‌ها تعداد کل دانه و تعداد دانه پر در خوشه به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش یافته بود. تنوع ژنتیکی برای صفات زراعی از اجزاء کلیدی برنامه‌های به‌نژادی برای توسعه مخزن ژنی برنج و دیگر محصولات زراعی است. ضریب تنوع ژنتیکی با وراثت‌پذیری درک بهتری از میزان پیشرفت مورد انتظار از انتخاب را به ما می‌دهد. علاوه‌بر این، دانش وراثت‌پذیری برای انتخاب بر اساس به‌نژادی ضروری است، زیرا میزان قابلیت‌پذیری یک صفت را به نسل‌های آینده نشان می‌دهد (Sabesan et al., 2009). ارزش اقتصادی یک رقم به صفات مختلف آن بستگی دارد، بنابراین چگونگی اعمال انتخاب برای چندین صفت به‌منظور حصول حداکثر ارزش اقتصادی همواره مورد نظر

به‌نژادگران بوده است. تجزیه ضرایب همبستگی صفات مختلف با عملکرد دانه به تصمیم‌گیری در مورد اهمیت نسبی این صفات و ارزش آن‌ها به‌عنوان معیارهای انتخاب کمک می‌کند (Ahmadpour et al., 2017; Akbarpour, 2017). هم‌چنین با کمک تجزیه رگرسیون گام به گام می‌توان اثر صفات غیر مؤثر یا کم تأثیر را در مدل رگرسیونی بر عملکرد حذف نموده و تنها صفاتی را که میزان قابل‌ملاحظه‌ای از تغییرات عملکرد را توجیه می‌کنند، مورد بررسی قرار داد. شاخص انتخاب، معادله یا رابطه‌ای خطی در قالب مدل رگرسیون چندمتغیره بر مبنای اطلاعات یا خصوصیات قابل اندازه‌گیری است که برای برآورد ارزش اصلاحی یک لاین یا رقم ارائه می‌شود، به‌طوری که همبستگی بین شاخص ارائه شده و ارزش اصلاحی به حداکثر رسیده و بیشترین بازدهی یا پیشرفت مورد انتظار از انتخاب به‌دست آید؛ بنابراین هدف شاخص انتخاب برآورد ارزش ژنتیکی واقعی یا ارزش ارثی با استفاده از یک ترکیب خطی از ارزش‌های فنوتیپی می‌باشد. شاخص انتخاب توانایی به‌نژادگر را در انتخاب لاین‌ها، هیبریدها یا واریته‌های برتر، بر مبنای بیش از یک صفت، به‌ویژه در مراحل اولیه برنامه‌های اصلاحی افزایش می‌دهد (Ahmadpour et al., 2017). ربیعی و همکاران (Rabiei et al., 2004) بیست شاخص گزینشی مختلف را برای اصلاح شکل دانه در یک جمعیت F₂ برنج مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که گزینش غیرمستقیم بر مبنای سه صفت طول دانه، عرض دانه و ارتفاع بوته با استفاده از ضرایب علیت آن‌ها به‌عنوان ارزش‌های اقتصادی در دو شاخص بهینه و پایه، برای اصلاح شکل دانه مؤثرتر از گزینش مستقیم خواهد بود و هم‌چنین شاخص‌های بهینه و پایه را مورد مقایسه قرار دادند و استفاده از شاخص پایه را به‌دلیل سادگی ساختار و سهولت محاسباتی توصیه نمودند.

واریته‌های محلی برنج، علی‌رغم داشتن کیفیت عالی، دارای عملکرد پایین، ارتفاع بلند، حساسیت به ورس و بیماری بلاست می‌باشند که لازم است این خصوصیات منفی توسط روش‌های اصلاحی رفع گردد. این تحقیق با هدف مطالعه تأثیر ماده جهش‌زای اتیل متان سولفونات بر

ویژگی‌های مورفولوژیک ژنوتیپ‌های موتانت نسل دوم برنج محلی هاشمی و بررسی روابط میان صفات، تعیین مهم‌ترین صفات اقتصادی مؤثر در عملکرد، بررسی تنوع در جمعیت موتانت برنج و معرفی مناسب‌ترین ژنوتیپ موتانت بر اساس شاخص انتخاب بهینه اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق رقم محلی برنج هاشمی بود که دارای ویژگی‌های مطلوبی مانند عطر، طعم و کیفیت پخت مناسب و در مقابل دارای صفات نامطلوبی شامل ارتفاع بلند (حساس به ورس)، عملکرد پایین و حساس به آفات و بیماری‌ها می‌باشد. مقدار ۵۰۰ گرم از بذر برنج رقم هاشمی دریافتی از کلکسیون موسسه تحقیقات برنج کشور برای این تحقیق در سال ۱۳۹۵ استفاده شد. ابتدا بذرها در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه گیلان به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در آب مقطر خیسانده شد و سپس آب ظرف تخلیه شده و به مدت شش ساعت در محلول اتیل متان سولفونات با غلظت هشت میلی‌مولار قرار داده شدند (Mohapatra et al., 2014). پس از آن بذرها سه مرتبه و هر بار پنج دقیقه با آب مقطر شستشو شدند. مجدداً سه مرتبه و هر بار ۲۰ دقیقه در آب مقطر شستشو و در نهایت برای مدت ۲ ساعت زیر شیر آب جاری شستشو شدند. سپس، تعداد ۱۰۰ بذر در شش تکرار به‌همراه رقم شاهد در پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد کشت و پس از سه روز تعداد بذره‌های جوانه‌زده شمارش و میانگین درصد جوانه‌زنی محاسبه شد. بذره‌های M₀ به‌دست آمده به‌طور جداگانه به‌همراه رقم شاهد (غیرجهش‌یافته) در همان سال در مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات برنج کشور در خزانه کشت شدند. پس از ۳۰ روز، نشاها به زمین اصلی منتقل و به‌صورت تک‌بوته و با فاصله ۲۰ × ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند. عملیات زراعی، شامل آماده کردن زمین اصلی، نشاکاری، آبیاری، مبارزه با علف‌های هرز و بیماری‌ها و مصرف کود طبق عرف منطقه انجام و بذره‌های هر بوته به‌طور جداگانه برداشت شد. در سال بعد بذور نسل M₂ به‌طور جداگانه خزانه‌گیری و به‌همراه رقم‌های شاهد

که در این روابط MSG: میانگین مربعات تیمارها؛ VG: واریانس ژنتیکی؛ R: تعداد تکرار؛ VP: واریانس فنوتیپی؛ CVG: ضریب تنوع ژنتیکی؛ CVP: ضریب تنوع فنوتیپی؛ H₂b: وراثت‌پذیری عمومی؛ GA: پیشرفت ژنتیکی (i= 2.06) و GAM: پیشرفت ژنتیکی درصدی از میانگین می‌باشد.

برای ماتریس واریانس-کواریانس فنوتیپی و ژنوتیپی و محاسبه همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی صفات از نرم‌افزار (Proc GLM) SAS ver 9.2 استفاده شد. شاخص انتخاب بر اساس صفات وارد شده در تجزیه علیت ژنتیکی و با در نظر گرفتن ارزش‌های فنوتیپی، ژنتیکی و اقتصادی آن‌ها با توجه به رابطه پایه زیر محاسبه شدند (Baker, 1986).

$$I = \sum b_i P_i \quad \text{رابطه (۸)}$$

که در آن b_i ها وزن‌هایی هستند که به هر صفت بر اساس ارزش آن صفت داده می‌شود و P_i ها ارزش‌های فنوتیپی مربوط به هر صفت می‌باشد. در شاخص بهینه، بردار b از رابطه زیر محاسبه شد (Smith, 1936).

$$b = P^{-1}Ga \quad \text{رابطه (۹)}$$

که در آن b بردار ضرایب شاخصی، P ماتریس واریانس-کواریانس فنوتیپی، G ماتریس واریانس-کواریانس ژنوتیپی صفات و a بردار ارزش‌های اقتصادی صفات می‌باشد. از نتایج رگرسیون گام به گام، تجزیه علیت، وراثت‌پذیری و همبستگی برای برآورد ضرایب اقتصادی در به‌دست آوردن شاخص انتخاب مناسب جهت انتخاب ژنوتیپ‌های برتر استفاده شد. درنهایت ژنوتیپ‌ها بر اساس شاخص رتبه‌بندی شدند. معیارهای مختلف که برای ارزیابی این شاخص‌ها مورد استفاده قرار گرفتند عبارت‌اند از: ضریب همبستگی شاخص و ارزش اصلاحی (R_{HI}) که برای شاخص بهینه به روش زیر محاسبه می‌گردد:

$$R_{HI} = \frac{\sigma_{HI}}{\sqrt{\sigma_I^2 \times \sigma_H^2}} = \sqrt{\frac{bGa}{aGa}} \quad \text{رابطه (۱۰)}$$

که در آن σ_{HI} ، σ_H^2 ، σ_I^2 به ترتیب واریانس شاخص، واریانس ارزش اصلاحی و کواریانس شاخص و ارزش اصلاحی می‌باشد.

$$\Delta H = Kr_{HI}\sigma_H \quad \text{رابطه (۱۱)}$$

هاشمی، گیلانه، خزر و لاین‌های امیدبخش موتانت MN12 و MN5 در مزرعه به‌صورت طرح آگمنت (شاهد‌ها در پنج تکرار) در خطوط چهار متری به فاصله ۲۰ سانتی‌متر به‌صورت تک‌بوته نشا شدند. بازدید مزرعه آزمایشی در زمان ۵۰ درصد گلدهی به‌طور منظم انجام و تاریخ گلدهی برای ژنوتیپ‌های موتانت مورد بررسی یادداشت شد. در زمان برداشت با انتخاب نمونه‌های تصادفی از هر تکرار، صفات ارتفاع بوته، تعداد پنجه، طول خوشه بوته‌ها، تعداد دانه‌های پر و پوک در خوشه‌ها و عملکرد دانه بر اساس ۱۴ درصد رطوبت اندازه‌گیری و پس از میانگین‌گیری یادداشت شدند. ۱۰۰ دانه از هر تیمار با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ وزن شده و هم‌چنین طول و عرض دانه‌های جدا شده با کولیس اندازه‌گیری و میانگین‌گیری و ثبت شد. برای درک روابط بین صفات و شناخت صفاتی که بیشترین نقش را در عملکرد دانه ایفا می‌نمایند، تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام با در نظر گرفتن عملکرد دانه به‌عنوان متغیر تابع (Y)، ۹ صفت دیگر اندازه‌گیری شده به‌عنوان متغیر علت (Xi) انجام شد. سپس متغیرهایی که بیشترین توجه از تغییرات متغیر تابع را داشتند، شناسایی شد و آثار مستقیم و غیرمستقیم صفات انتخابی مؤثر بر عملکرد محاسبه شد. به‌منظور انجام محاسبات آماری و تجزیه رگرسیون از نرم‌افزار SPSS-ver18 و جهت انجام تجزیه ضرایب مسیر با استفاده از نرم‌افزار Path 2 به روش دوی و لو (Dewey and Lu, 1959) استفاده شد. ضریب تنوع فنوتیپی، ضریب تنوع ژنتیکی، وراثت‌پذیری عمومی و پیشرفت ژنتیکی با روابط زیر محاسبه شد.

$$VG = \frac{MSG - MSE}{R} \quad \text{رابطه (۱)}$$

$$VP = VG + VE \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$CVG = \frac{\sqrt{VG}}{\mu} \times 100 \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$CVP = \frac{\sqrt{VP}}{\mu} \times 100 \quad \text{رابطه (۴)}$$

$$H2b = \frac{VG}{VP} \quad \text{رابطه (۵)}$$

$$GA = i. h. \sqrt{VP} \quad \text{رابطه (۶)}$$

$$GAM = \frac{GA}{MEAN} \times 100 \quad \text{رابطه (۷)}$$

میزان بهره مورد انتظار از شاخص (ΔH) برای مجموع صفات نیز از رابطه 5 به دست آمد که در آن، K دیفرانسیل گزینش در واحد استاندارد بود و در این تحقیق چون شدت انتخاب برابر ۱۰ درصد در نظر گرفته شد، مقدار K معادل $1/76$ قرار داده شد. σ_H انحراف معیار ارزش اصلاحی و r_{HI} ضریب همبستگی شاخص و ارزش اصلاحی می باشد. میزان پیشرفت ژنتیکی (Δ) برای هر صفت بر مبنای شاخص از رابطه زیر به دست آمد.

$$\Delta = \frac{Kgb}{\sqrt{bPb}} \quad \text{رابطه (۱۲)}$$

کارایی نسبی گزینش (RE) بر اساس شاخص، نسبت به گزینش مستقیم برای عملکرد که با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد؛ که در آن R_I و R_A به ترتیب پاسخ مورد انتظار بر اساس گزینش شاخصی و پاسخ مورد انتظار به گزینش از طرف خود صفت و $h(A)$ جذر وراثت پذیری صفت A (عملکرد) است.

$$RE = \frac{R_I}{R_A} \quad \text{رابطه (۱۳)}$$

با توجه به فرمول های ارائه شده، برنامه مورد نیاز برای به دست آوردن شاخص بهینه به زبان برنامه نویسی R v.3.6.0 نوشته شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش تیمار بذور رقم هاشمی با ماده جهش زای EMS نشان می دهد که بعد از ۳ روز از کاشتن بذر برنج رقم هاشمی، ۱۰۰ درصد جوانه زنی را در صفر درصد EMS نشان داد، در حالی که در غلظت ۰/۸ درصد EMS، میانگین درصد جوانه زنی بذر رقم هاشمی در تکرارهای مختلف به طور متوسط ۵۶/۲۸ درصد بوده است. نتایج القای جهش موهاپاترا و همکاران (Mohapatra et al., 2014) با استفاده از غلظت های مختلف (۰/۶، ۰/۸، ۱ و ۵/۱ درصد) EMS بر روی برنج Nagian 22 نشان داد که غلظت ۰/۸ درصد به عنوان بهترین غلظت مناسب و قابل استفاده برای تولید جمعیت موتانت انتخاب شود. درواقع نتایج نشان می دهد که درصد جوانه زنی بذر با افزایش غلظت EMS کاهش می یابد؛ بنابراین با توجه به

بررسی های انجام شده غلظت ۰/۸ درصد به عنوان دز مناسب برای ایجاد جهش در این رقم انتخاب گردید (Mohapatra et al., 2014; Serrat et al., 2014, Watto et al., 2012).

در این مطالعه، بیش از ۱۳۰۰ گیاهچه M_1 از تیمار جهش زایی با EMS جمع آوری شد که ۳۱۰ ژنوتیپ موتانت M_2 با صفات مختلف مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند. نتایج آمار توصیفی صفات در جمعیت موتانت مورد ارزیابی در جدول ۱ نشان داده شده است. دامنه تغییرات برای اکثر صفات از طیف وسیعی برخوردار بود که حاکی از تنوع بالا در جمعیت مورد مطالعه دارد و نشان از ایجاد تغییرات ژنتیکی در اثر ماده جهش زای EMS دارد. این ماده جهش زا باعث افزایش یا کاهش صفات اندازه گیری شده در جمعیت جهش یافته در مقایسه با والد غیر جهش یافته شد. میزان قابل توجه تغییرات ژنتیکی در جمعیت مورد بررسی می تواند به انتخاب لاین های جهش یافته مناسب برای به ثمرآوردی رقم محلی هاشمی کمک کند. میانگین فراوانی جهش های دارای فنوتیپ قابل مشاهده بر اساس تنوع مورفولوژیکی برآورد شد که میزان فراوانی جهش در جمعیت موتانت نسل M_2 ، ۲۴ درصد و فراوانی جهش برای صفات خاص از ۲۳ درصد تا ۵۸ درصد متفاوت بود.

نتایج ارزیابی داده های جدول ۱ نشان داد که ارتفاع بوته، بیشترین واکنش را نسبت به تیمار با اتیل متان سولفونات نشان داد، به طوری که میانگین ارتفاع بوته در جمعیت موتانت نسبت به والد ۱۰/۳ درصد کاهش نشان داد. میانگین تعداد دانه پر در خوشه جمعیت موتانت نسبت به والد (۱۸/۴ درصد) افزایش داشت، اما میانگین تعداد پنجه، طول دانه و عرض دانه در جمعیت موتانت نسبت به والد (۱ تا ۶ درصد) تغییرات مطلوبی نداشت، هر چند که بوته هایی با تعداد پنجه و عرض دانه بیشتر و طول دانه بلندتر از والد در جمعیت وجود داشتند. تغییرات ایجاد شده در بقیه صفات، شامل طول خوشه، تعداد دانه پوک در خوشه و وزن صد دانه در میانگین جمعیت نسبت به شاهد مطلوب نبود. لذا بیشترین تنوع و دامنه تغییرات در جمعیت جهش یافته در ارتفاع بوته و تعداد دانه پر در خوشه و تعداد پنجه مشاهده شد.

جدول ۱- مقادیر میانگین، دامنه و انحراف از معیار صفات مورد مطالعه در جمعیت موتانت برنج به همراه رقم والد غیر موتانت (شاهد)

صفات	Non-mutant parent cultivar	میانگین جمعیت شاهد + خطای استاندارد	دامنه ت	انحراف معیار	ضریب تنوع ژنتیکی	ضریب تنوع فنوتیپی	وراثت پذیری عمومی %	پیشرفت ژنتیکی بر حسب درصدی از میانگین
Traits	Non-mutant parent cultivar	Mean of mutant population + standard error	Variation range of varieties Max - Min	Standard deviation	Genotypic coefficient of variation	Phenotypic coefficient of variation	General heritability %	Genetic advance as percent of population mean
تاریخ گلدهی Flowering date	82	83.18 ± 0.15	EM 9-14-1 - EM 4-16-2	2.57	1.57	1.78	78.5	2.86
ارتفاع بوته (سانتی متر) Plant height (cm)	155	135.94 ± 0.51	EM 16-8-2 - EM 13-19-2	8.96	3.25	3.58	82.5	6.08
تعداد پنجه No. of tiller	12	12.69 ± 0.25	EM 4-7-1 - EM 5-15-1	4.36	15.3	16.5	87.1	29.5
طول خوشه (سانتی متر) Panicle length (cm)	28.25	27.44 ± 0.14	EM 9-9-4 - EM 14-11-3	2.53	4.82	5.46	77.8	8.76
تعداد دانه پر No. of filled grains	71	84.05 ± 1.16	EM 6-13-2 - EM 4-10-1	20.48	10.8	11.2	93	21.4
تعداد دانه پوک No. of unfilled grains	43	17.87 ± 0.6	EM 1-14-1 - EM 1-12-3	10.79	26.8	30.3	78	48.6
وزن صد دانه (گرم) 100 Grain weight (gr)	2.63	2.56 ± 0.012	EM 18-17-5 - EM 5-15-1	0.23	4.47	4.76	88.3	8.65
طول دانه (میلی متر) Grain length (mm)	9.93	10.02 ± 0.023	EM 4-11-3 - EM 1-1-4	0.41	1.61	2.76	34.2	1.94
عرض دانه (میلی متر) Grain width (mm)	2.43	2.52 ± 0.012	EM 14-10-2 - EM 3-6-5	0.21	3.61	3.85	88	6.95
عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) Grain yield (kg/ha)	3581	2755 ± 68.7	EM 16-4-5 - EM 5-15-1	1210.2	19.97	20.97	91	39.18

این نتایج با مطالعات متعددی که اثر ماده جهش‌زا را بر تنوع مورفولوژیکی ارقام برنج مورد بررسی قرار داده‌اند، مطابقت دارد (Luz et al., 2015; Mohapatra et al., 2013; Chen et al., 2014). مجیدی و همکاران (Majidi et al., 2013) نقش دو موتازن شیمیایی اتیل متان سولفونات (۱۴۰ میلی‌مولار) و سدیم آزید (۲ میلی‌مولار) در ایجاد تنوع در صفات زراعی برنج طارم محلی را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که ارتفاع بوته و تعداد دانه پر در خوشه بیشترین و مناسب‌ترین واکنش را نسبت به موتازن دارند، زیرا ارتفاع بوته در هر دو تیمار موتازنی نسبت به شاهد کاهش یافته و تعداد دانه پر در خوشه نیز در هر دو تیمار در بیشتر لاین‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. در مطالعات انجام شده توسط خادمیان و همکاران (Khademian et al., 2006) که از دو موتازن فیزیکی (اشعه) و شیمیایی اتیل متان سولفونات برای القای جهش در سه رقم برنج ایرانی به نام‌های طارم محلی، طارم دیلمانی و شفق استفاده کردند، ارتفاع بوته نسبت به شاهد‌ها کاهش زیادی نشان داد. در نسل دوم تعداد پنجه و تعداد دانه در خوشه، که از اجزای اصلی عملکرد می‌باشند، در بیشتر موارد افزایش داشتند. وراثت‌پذیری معیاری است که نوع روش اصلاحی و قدرت توارث هر صفت را برای گیاه مشخص می‌کند و درواقع بیان‌کننده سهم تغییرات ژنتیکی از کل تغییرات موجود است (Farshadfar, 1997). وراثت‌پذیری اغلب صفات مورد ارزیابی احتمالاً به‌علت یکنواختی محیط آزمایش، در حد بالایی بود و ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنتیکی نیز از روند تغییرات مشابهی برخوردار بودند (جدول ۱). گرچه مقادیر ضرایب تنوع فنوتیپی بزرگ‌تر از ژنتیکی بود که نشان‌دهنده دخالت اثر محیط می‌باشد. مطالعات دیگر نیز نتایج مشابهی در خصوص روند تغییرات این ضرایب گزارش کرده‌اند. عملکرد شلتوک به‌عنوان یک صفت کمی که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود نیز از توارث‌پذیری نسبتاً بالایی (۹۱ درصد) برخوردار بود. برآورد وراثت‌پذیری از ۳۴/۲ درصد تا ۹۳ درصد متغیر بود (جدول ۱) که بیشترین وراثت‌پذیری

(۹۳ درصد) برای تعداد دانه در خوشه و کمترین وراثت‌پذیری (۳۴/۲ درصد) برای طول دانه مشاهده شد. به‌طور مشابه، وراثت‌پذیری برای صفات عملکرد دانه، وزن صد دانه و عرض دانه به‌ترتیب ۹۱ درصد، ۸۸/۳ درصد و ۸۷/۶ درصد مشاهده شد. پیشرفت ژنتیکی برحسب درصد میانگین نشان داد که بیشترین مقدار GAM از ۴۸/۶ در تعداد دانه پوک در خوشه و کمترین مقدار ۱/۹۴ برای طول دانه بود. هم‌چنین صفت وزن صد دانه و عرض دانه با این‌که وراثت‌پذیری بالایی (۸۸/۳ و ۸۸ درصد) دارند اما پیشرفت ژنتیکی (۸/۶۵ و ۶/۹۵ درصد) مناسبی نداشتند. هم‌چنین صفت تعداد دانه پوک در خوشه با اینکه پیشرفت ژنتیکی بالایی (۴۸/۶) داشت اما وراثت‌پذیری (۷۸ درصد) مناسبی نداشت. بالا بودن میزان وراثت‌پذیری در صفات (تعداد دانه پر در خوشه و عملکرد دانه) نشان‌دهنده این است که این صفات به میزان زیادی تحت تأثیر عوامل ژنتیکی بوده و انتخاب آن‌ها از طریق فنوتیپ امکان‌پذیر خواهد بود، زیرا بخش عمده ریخته ارثی این صفات قابل انتقال به نسل‌های بعدی می‌باشد و در این صفات به‌علت بالا بودن وراثت‌پذیری عمومی می‌توان از روش‌های گزینش همراه با دورگ‌گیری نیز استفاده کرد. از طرف دیگر مقدار کم وراثت‌پذیری در برخی صفات بیانگر نقش کمتر تنوع ژنتیکی افزایشی و یا انعطاف‌پذیری فنوتیپی آن صفت می‌باشد. هم‌چنین بالا بودن پیشرفت ژنتیکی در صفات بیانگر بهبود این صفات نسبت به شاهد و تأثیر مفید EMS می‌باشد.

ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی بین ۳۰۹ جمعیت موتانت مورد مطالعه و شاهد‌ها مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود عملکرد با تعداد خوشه ($r_g=0.761$ $r_p=0.83$) و تعداد دانه پر در خوشه ($r_g=0.442$ $r_p=0.551$) دارای همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری است. مطالعات انجام شده پیشین به‌منظور ارزیابی همبستگی بین صفات زراعی در برنج نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند (Azizi et al., 2015; Danesh Gilevaei et al., 2015; Nandan et al., 2010).

جدول ۲- ضرایب همبستگی فنوتیپی (بالا) و ژنوتیپی (پایین) میان صفات مورفولوژیک در جمعیت جهش‌یافته انتخابی برنج به‌همراه شاهد

Table 2. Phenotypic (up of diameter) and genotypic (down of diameter) correlation coefficients of morphological traits mong selected mutated rice population/plants and control

صفات Traits	تاریخ گلدهی Flowering date	ارتفاع بوته Plant height	تعداد پنجه No. of tiller	طول خوشه Panicle length	تعداد دانه پر No. of filled grains	تعداد دانه پوک No. of unfilled grains	وزن صد دانه 100 Grain weight	طول دانه Grain length	عرض دانه Grain width	عملکرد دانه Grain yield
تاریخ گلدهی Flowering date	1.00	0.02	0.06	0.02	0.08	-0.02	-0.03	-0.01	-0.03	0.09
ارتفاع بوته Plant height	0.65	1.00	0.01	0.127*	0.151**	0.177**	0.08	-0.06	0.11	0.09
تعداد پنجه of Number tillers	0.67	-0.13	1.00	0.112*	0.08	-0.03	0.09	0.06	0.06	0.83**
طول خوشه Panicle length	0.03	0.26	-0.05	1.00	0.445**	0.08	0.03	0.145*	-0.07	0.315**
تعداد دانه پر No. of filled grains	0.02	-0.16	-0.08	0.21	1.00	-0.159**	-0.119*	-0.151**	-0.04	0.551**
تعداد دانه پوک No. of unfilled grains	0.10	-0.13	*-0.564	0.207*	0.226*	1.00	-0.06	-0.115*	-0.01	-0.116*
وزن صد دانه 100 Grain weight	-0.02	-0.01	0.03	-0.17	-0.03	0.21	1.00	0.128*	0.433**	0.19**
طول دانه Grain length	-0.14	-0.16	0.425*	0.06	0.02	0.35	-0.93	1.00	0.04	0.00
عرض دانه Grain width	-0.11	-0.13	0.24	-0.21	-0.02	0.08	-0.11	-0.57	1.00	0.128*
عملکرد دانه Grain yield	-0.16	-0.17	0.761*	0.548*	0.442*	0.12	0.18	0.094*	0.121*	1.00

و : همبستگی معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵

** and *: Significant correlation at 0.01 and 0.05 level of probability

معنی‌دار و با تعداد دانه در خوشه و وزن صد دانه غیرمعنی‌دار به‌دست آورد که تقریباً مشابه نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق می‌باشد.

بررسی ضرایب همبستگی بین صفات مختلف باعث می‌شود تا بتوان ضمن تعیین نوع رابطه بین صفات و شناسایی صفات با ارتباط معنی‌دار با یکدیگر، در مورد شاخص‌های غیرمستقیم انتخاب و حذف صفات غیرمؤثر به‌طور دقیق تصمیم‌گیری نمود (Golparvar et al., 2002). با توجه به ارتباط پیچیده‌ای که بین صفات مرتبط با عملکرد وجود دارد و با در نظر گرفتن این مطلب که وجود رابطه‌ی منفی میان این صفات امکان‌پذیر می‌باشد، نمی‌توان فقط بر مبنای ضرایب ساده همبستگی تصمیم‌گیری کرد و استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره، جهت درک عمیق‌تر روابط بین صفات ضروری به‌نظر می‌رسد.

با انجام رگرسیون گام‌به‌گام، به‌ترتیب صفات تعداد پنجه، تعداد دانه پر در خوشه، وزن صد دانه و عرض دانه وارد مدل رگرسیونی شدند. مدل رگرسیونی در سطح ۱ درصد با ضریب تبیین ۰/۹۶ معنی‌دار بود که نشان می‌دهد ۹۶ درصد از تغییرات عملکرد دانه از راه صفات مذکور قابل توجیه است. این نتایج با نتایج تجزیه همبستگی مطابقت دارد، به‌طوری‌که تعداد پنجه و تعداد دانه پر در خوشه بالاترین همبستگی ژنوتیپی و فنوتیپی را با عملکرد دانه داشتند. برای تفسیر بهتر نتایج به‌دست‌آمده از همبستگی‌های ساده و رگرسیون گام به گام، تجزیه ضرایب مسیر برای عملکرد دانه با استفاده از متغیرهای وارد شده در مدل رگرسیون انجام شد. خلاصه نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام به گام به گام با در نظر گرفتن عملکرد دانه به‌عنوان متغیر وابسته و سایر صفات به‌عنوان متغیرهای مستقل در جدول ۳ ارائه شده است.

نتایج نشان داد که صفات تعداد پنجه، تعداد دانه پر در خوشه، وزن صد دانه و عرض دانه به‌ترتیب با ضرایب مسیر ۰/۷۷۲، ۰/۵۱، ۰/۱۷۳ و ۰/۲۵ بیشترین اثرات مستقیم و مثبت را روی عملکرد دانه داشتند.

خوشه با تعداد دانه پر در خوشه، وزن صد دانه و عرض دانه به‌ترتیب دارای همبستگی فنوتیپی مثبت و معنی‌دار ($r_p = 0.455, 0.433$) بود. ارتباط مثبت و معنی‌دار طول خوشه با تعداد دانه پر در خوشه نشان‌دهنده ارتباط آن‌ها با عملکرد دانه است؛ بنابراین عامل جهش‌زای مورد مطالعه، افزایش معنی‌دار در طول خوشه برخی از ژنوتیپ‌های موتانت این جمعیت ایجاد می‌کند که می‌تواند با افزایش عملکرد دانه ارتباط داشته باشند. نتایج نشان داد که ضریب همبستگی ژنوتیپی بین عملکرد دانه با طول خوشه مثبت و معنی‌دار بود ($r_g = 0.548$) که با نتایج مطالعات قبلی در برنج مطابقت دارد (Dorusty et al, 2004; Sabouri, 2002; Rahimsorouh et al., 2004). نتایج این بررسی نشان داد در بیشتر موارد ضرایب همبستگی ژنوتیپی از ضرایب همبستگی فنوتیپی بزرگ‌تر بودند که اهمیت اثرات محیطی را در برآورد این پارامترها به‌خوبی نشان می‌دهد. به‌طور مثال در همبستگی بین عملکرد با طول خوشه، همبستگی ژنوتیپی بزرگ‌تر است ($r_p = 0.548$) از طرف دیگر تعداد پنجه همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح ژنوتیپی با طول دانه ($r_g = 0.425$) داشت که در جدول ۲ نشان داده شده است. با این حال تعداد پنجه همبستگی ژنوتیپی منفی و معنی‌داری با تعداد دانه پوک ($r_g = 0.564$) دارد؛ بنابراین همبستگی مثبت و معنی‌دار این صفات نشان می‌دهد که انتخاب یک صفت مستقیماً بر بیان صفت دیگر تأثیرگذار و باعث تسهیل انتخاب و پیشبرد برنامه به‌نژادی می‌شود. اله‌قلی‌پور و محمدصالحی (Allah Gholipour and Mohammad Salehi, 2003) با بررسی ۲۰ صفت مورفولوژی شامل عملکرد و اجزای آن در ۱۰۰ رقم از ارقام بومی و اصلاح شده ایرانی گزارش نمودند که بین عملکرد دانه با صفاتی مثل تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد خوشه و تعداد دانه پر همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. ضرایب همبستگی بین صفات نشان داد که صفات تعداد پنجه، تعداد دانه پر در خوشه و طول خوشه بیشترین نقش مثبت را در بهبود عملکرد دانه داشتند. درستی (Dorusti, 2000) همبستگی فنوتیپی و ژنتیکی عملکرد را با تعداد خوشه در بوته

جدول ۳- تجزیه رگرسیون گام به گام در جمعیت جهش یافته انتخابی به همراه رقم والد غیرموتانت برنج

Table 3. Stepwise regression analysis in the selected mutated rice population with non-mutant parent cultivar (control)

متغیر مستقل Independent variable	ضرایب استاندارد نشده		ضرایب استاندارد شده Standardized coefficients	F	سطح احتمال معنی دار Significant level
	Unstandardized coefficients				
	b	خطای استاندارد Standard error			
تعداد پنجه No. of tillers	214.46	3.21	0.773	66.88	0
تعداد دانه پر No. of filled grains	30.19	0.685	0.511	44.06	0
وزن صد دانه 100 Grain weight	923.01	68.25	0.174	13.52	0
عرض دانه Grain width	148.6	75.05	0.025	1.98	0.049

متغیر وابسته: عملکرد

Dependent variable: yield

$$Y=214.465Ti+30.19Fg+923.01Tw+148.6Gw+1814.578 \quad R^2=0.96$$

Ti: تعداد پنجه؛ Fg: تعداد دانه پر؛ Tw: وزن صد دانه؛ Gw: عرض دانه

Ti: No. of tillers; Fg: No. of filled grains; Tw: 100 Grain weight; Gw: Grain width

جدول ۴- میزان اثرات مستقیم و غیرمستقیم اجزای عملکرد روی عملکرد دانه جمعیت برنج جهش یافته انتخابی بر اساس

ضرایب همبستگی ژنوتیپی

Table 4. Amounts of direct and indirect effects of yield components on grain yield in the selected mutant rice population based on genotypic correlation coefficients

صفات Traits	تعداد پنجه No. of tillers	تعداد دانه پر No. of filled grains	وزن صد دانه 100 Grain weight	عرض دانه Grain width	عملکرد Yield
تعداد پنجه No. of tillers	<u>0.77</u>	0.04	0.014	0.001	$r_g = 0.761$
تعداد دانه پر No. of filled grains	0.061	<u>0.51</u>	-0.021	-0.002	$r_g = 0.442$
وزن صد دانه 100 Grain weight	0.066	-0.061	<u>0.173</u>	0.011	$r_g = 0.178$
عرض دانه Grain width	0.048	-0.022	0.074	<u>0.025</u>	$r_g = 0.121$

اثرات باقی مانده: ۰/۲۰۲

Residual effects: 0.202

اعدادی که زیر آن‌ها خط کشیده شده، نشان دهنده اثر مستقیم می باشد

Numbers marked with underline indicate the direct effect.

از ضرایب رگرسیون می‌توان نتیجه گرفت که وزن صد دانه، تعداد دانه پر در خوشه و تعداد پنجه بارور در بوته با داشتن آثار مستقیم با ضرایب مثبت از اهمیت بیشتری برخوردارند و اگر به‌عنوان معیار گزینش برای اصلاح و بهبود عملکرد دانه در نظر گرفته شوند، افزایش این سه صفت باعث افزایش عملکرد دانه می‌شود. صفاتی که همبستگی زیادی با عملکرد دارند می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی برای بهبود عملکرد دانه به‌عنوان مبنایی برای انتخاب قابل توصیه باشند. اثرات باقی‌مانده (۰/۲۰۲) حاکی از آن است که علاوه بر متغیرهای فوق، فاکتورهای دیگری نیز در توجیه تغییرات عملکرد دانه وجود دارند. نتایج نشان داد که تعداد پنجه بیشترین اثر مستقیم مثبت را بر عملکرد (۰/۷۷۲) داشت که با همبستگی مثبت و معنی‌دار عملکرد با تعداد پنجه بارور (۰/۸۳) و تعداد دانه پر در خوشه (۰/۵۵۱) مطابقت دارد. با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌دار این صفت با عملکرد توجه به آن مهم و ضروری می‌باشد.

نتایج حاصل از تجزیه علیت توسط شوشی دزفولی (Shoshi Dezfoli, 1999) نشان داد که افزایش عملکرد در درجه اول ناشی از زمان ظهور خوشه‌ها و رسیدن کامل دانه برنج و در درجه دوم متأثر از تعداد دانه در خوشه و طول خوشه بود. همچنین، تعداد پنجه بارور مهم‌ترین عامل مؤثر بر عملکرد تشخیص داده شد. گزارش‌های سایر محققین در مورد تجزیه علیت و تعیین مهم‌ترین معیار انتخاب برای اصلاح عملکرد دانه متفاوت می‌باشد، ولی عمدتاً مهم‌ترین معیار را اجزای اصلی عملکرد، شامل تعداد خوشه در بوته، تعداد دانه سالم در خوشه و وزن هزار دانه مطرح نموده‌اند (Danesh Gilevaei et al., 2015; Jahani et al., 2015). وجود تفاوت در نتایج را می‌توان به متفاوت بودن مواد گیاهی و شرایط محیطی در هر یک از مطالعات نسبت داد. اله قلی‌پور (Allah Gholipour, 1998) با بررسی همبستگی بین صفات مهم زراعی و عملکرد از طریق تجزیه علیت در برنج گزارش کرد که صفات طول و عرض برگ پرچم، تعداد دانه در خوشه،

تعداد خوشه در بوته‌های فرعی و طول آخرین میانگره به‌ترتیب بیشترین همبستگی فنوتیپی و ژنتیکی را با عملکرد دانه دارا بودند و تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام نیز، وقتی تعداد خوشه در بوته به‌عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد، نشان داد که طول برگ پرچم بیشترین اثر مستقیم را دارد و زمانی که تعداد دانه در خوشه به‌عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد، صفت تعداد خوشه در بوته‌های فرعی به‌تنهایی ۴۸ درصد از تغییرات مدل رگرسیونی را توجیه کرد. تجزیه علیت نشان داد که افزایش عملکرد عمدتاً در اثر افزایش تعداد دانه در خوشه بود که متأثر از افزایش تعداد خوشه در بوته‌های فرعی و عرض برگ پرچم می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه مسیر نشان داد هرچند که عرض دانه جزئی از عملکرد محسوب می‌شود، لیکن کمترین اثر مستقیم بر عملکرد را نسبت به سایر صفات دارد. محدثی و همکاران (Mohadesi et al., 2017) تنوع زراعی و مورفولوژیک ۱۶ لاین امیدبخش برنج را بررسی و گزارش کردند که وزن خوشه، مساحت برگ پرچم و ارتفاع بوته مهم‌ترین صفات تعیین‌کننده تغییرات عملکرد بودند. مطالعات انجام شده توسط مومنی (Momeni, 1996)، مهم‌ترین معیار انتخاب برای اصلاح عملکرد دانه در برنج را تعداد دانه پر در خوشه، تعداد پنجه بارور و وزن صد دانه پیشنهاد نمود. راویندرا و همکاران (Ravindra et al., 2012) و کیوندو و کیوندآگرامی (Kundu and Kundagrami, 2015) نیز اثر مستقیم و مثبت تعداد پنجه روی عملکرد دانه را گزارش نمودند.

هنگامی که تعداد زیادی صفت یک خصوصیت را تحت تأثیر قرار می‌دهند، تفکیک همبستگی کل به اثرات مستقیم و غیرمستقیم درک بیشتری از ارتباط بین صفت وابسته مانند عملکرد و صفت غیروابسته مانند اجزای عملکرد را می‌دهد (Ndou et al., 2015). با توجه به نتایج تجزیه همبستگی، رگرسیون و تجزیه علیت می‌توان گفت که تعداد پنجه اثر مستقیم زیادی بر روی عملکرد دانه برنج داشته و تعداد دانه پر، وزن صد دانه و عرض دانه در تعیین عملکرد در درجه دوم اهمیت قرار دارد. با توجه به نتایج

حاصل از ضرایب همبستگی و تجزیه علیت توصیه می‌شود به‌منظور دستیابی به لاین‌های با عملکرد بالا در بین جهش‌یافته‌های مورد مطالعه از صفات تعداد خوشه در بوته و تعداد دانه پر در خوشه استفاده شود.

برای به‌دست آوردن بهترین شاخص‌های گزینشی، بردارهای مختلفی از ارزش‌های اقتصادی صفات از جمله اثرات مستقیم ژنتیکی هر یک از صفات مورد مطالعه در تجزیه علیت عملکرد دانه، ضرایب همبستگی فنوتیپی، ضرایب همبستگی ژنوتیپی و وراثت‌پذیری صفات در ترکیب‌های مختلف در حالت حضور و عدم حضور عملکرد در نظر گرفته شدند. محاسبه شاخص اول بر اساس صفاتی نوشته شد که در ردیف اول تجزیه علیت عملکرد دانه قرار داشتند. این صفات دارای اثرات مستقیم و یا غیرمستقیم بالا بر عملکرد دانه بودند و لذا به‌عنوان صفات تأثیرگذار بر بهبود عملکرد در نظر گرفته شدند. همبستگی شاخص و ارزش اصلاحی (R_{HI}) و پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار برای صفات (ΔH) و سودمندی نسبی شاخص در مقایسه با شاخص‌های دیگر در حد متوسط بود. مقدار پیشرفت ژنتیکی برای صفات تعداد پنجه، وزن صد دانه و عرض دانه ناچیز بود، ولی برای تعداد دانه پر در خوشه بر پیشرفت بسیار زیادی در جهت افزایش این صفت به‌دست آمد (جدول ۶). شاخص دوم هم برای صفات ارزیابی شد، ولی ضرایب اقتصادی همان ضرایب همبستگی فنوتیپی صفات وارد شده در مدل بود (جدول ۵). مقدار پیشرفت ژنتیکی برای صفت تعداد دانه پر در خوشه مطلوب بود. در این شاخص همبستگی شاخص و ارزش اصلاحی (R_{HI}) و پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار برای صفات (ΔH) و سودمندی نسبی در حد مطلوبی بود (جدول ۶). شاخص سوم هم همبستگی ژنوتیپی صفات با عملکرد به‌عنوان ضریب اقتصادی صفات وارد شده در مدل رگرسیونی در نظر گرفته شد (Fazlalipour et al., 2007a,b; Rahimi and Rabiei, 2011). با جایگذاری ارزش‌های ژنوتیپی هر یک از ژنوتیپ‌های موتانت در معادله شاخص‌ها، مقدار شاخص برای هر یک از آن‌ها محاسبه شد. پیشرفت ژنتیکی مجتمع برای صفات کمتر از شاخص‌های دیگر به‌دست آمد. در این شاخص نیز همبستگی ارزش

اصلاحی و شاخص و سودمندی نسبی در حد پایین بود، بنابراین این شاخص دارای ارزش کمتری است (جدول ۶). از آنجا که وراثت‌پذیری از خصوصیات مهم اصلاحی می‌باشد، در نظر گرفتن وراثت‌پذیری صفات به‌عنوان یک ارزش در نوشتن ارزش‌های اقتصادی می‌تواند حائز اهمیت باشد و شاخص به‌دست آمده بر مبنای آن از دیدگاه اصلاحی ارزش بسیاری داشته و مؤثر خواهد بود؛ بنابراین شاخص چهارم بر اساس ضرایب وراثت‌پذیری بر اساس صفاتی مورد مطالعه در تجزیه علیت عملکرد دانه استفاده شد. همبستگی شاخص و ارزش اصلاحی (R_{HI}) و پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار برای صفات (ΔH) بسیار مطلوب بود، سودمندی نسبی آن در مقایسه با شاخص‌های دیگر بالا بود. مقدار پیشرفت ژنتیکی برای صفات تعداد پنجه، وزن صد دانه و عرض دانه ناچیز بود، اما بالاترین پیشرفت ژنتیکی برای صفت تعداد دانه پر در خوشه در این شاخص وجود داشت (جدول ۶). استفاده از این شاخص با داشتن حداقل صفات با ارزش در معادله شاخصی به‌عنوان ارزش اقتصادی و معیار انتخاب مؤثر جهت اصلاح و افزایش عملکرد دانه، پیشنهاد می‌شود. ژنوتیپ‌های موتانت بر اساس ضرایب رگرسیون، ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی و وراثت‌پذیری برای شاخص رتبه‌بندی و انتخاب شدند؛ بنابراین بر اساس نتایج ارزیابی مورفولوژیک و شاخص مورد مطالعه، گیاهان موتانت EM 15-14-1 و EM 18-17-5 به‌عنوان موتانت‌های برتر در مقایسه با والد هاشمی معرفی شدند. در مقایسه با والد غیرموتانت، میانگین صفات ارتفاع بوته (۱۲/۹ درصد کاهش)، تعداد پنجه (۵۸ درصد)، تعداد دانه پر در خوشه (۲۴ درصد)، وزن صد دانه (۲۷ درصد)، عرض دانه (۱۱/۱ درصد) و عملکرد (۴۹ درصد) ژنوتیپ‌های موتانت انتخابی نسل M_2 به‌ترتیب افزایش داشتند.

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی گسترده‌ای بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد بررسی وجود دارد که حاکی از ارزشمند بودن این ذخایر و لزوم توجه بیشتر در حفظ، نگهداری و ارزیابی آن‌ها است که بهره‌گیری از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی آتی مفید می‌باشد.

جدول ۵- ارزش‌های اقتصادی نسبی صفات برای محاسبه‌ی شاخص‌های گزینشی

Table 5. Relative economic values of traits for computing selection indices

صفات Traits	1	2	3	4
تعداد پنجه No. of tillers	0.773	0.773	0.761	0.87
تعداد دانه پر No. of filled grains	0.551	0.511	0.442	0.93
وزن صد دانه 100 Grain weight	0.174	0.174	0.178	0.88
عرض دانه Grain width	0.025	0.025	0.121	0.88
عملکرد Yield	1	1	1	0.91

جدول ۶- برآورد شاخص‌ها و پیشرفت ژنتیکی برای هر صفت با شدت انتخاب ۱۰ درصد (۱/۷۶) بر اساس شاخص بهینه

Table 6. Estimated indices and genetic advance in each trait with 10% selection intensity (1.76) based on optimum index

شاخص Index a	پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار برای هر صفت در هر شاخص Δg				سودمندی نسبی		
	تعداد پنجه No. of tillers	تعداد دانه پر No. of filled grains	وزن صد دانه 100 Grain weight	عرض دانه Grain width	ضریب همبستگی شاخص و ارزش اصلاحی RHI	پیشرفت ژنتیکی ΔH	نسبی RE
1	0.979	16.62	0.006	0.035	0.954	9.25	0.557
2	0.979	16.62	0.007	0.031	0.954	9.97	0.608
3	1.12	16.39	0.009	0.035	0.952	8.1	0.495
4	0.61	17.08	0.006	0.009	0.956	16.4	0.961

a: شاخص‌های فوق بر مبنای ضرایب اقتصادی موجود در جدول ۵ محاسبه شده‌اند.

a: The above indicators are calculated based on the economic coefficients in Table 5.

را فراهم می‌کند؛ بنابراین القای مصنوعی تنوع ژنتیکی با مواد جهش‌زا می‌تواند به‌طور مؤثر برای القا موتاسیون و انتخاب لاین‌های موتانت با ویژگی‌های مطلوب و اصلاح نقایص مورفولوژیکی توارثی به‌کار رود.

سپاسگزاری

جمعیت موتانت استفاده شده در این مطالعه، در قالب طرح شماره ۷۱۴ تحت عنوان "استفاده از موتازن EMS به‌منظور ایجاد جمعیت گیاهان موتانت در یکی از ارقام برنج ایرانی" و تولید جمعیت M_1 با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه گیلان تهیه شد. از همکاری آقای مهندس عبدالهی محقق گرامی پژوهشکده بیوتکنولوژی شمال کشور که در تهیه جمعیت موتانت مساعدت نمودند و همچنین از همکاری موسسه تحقیقات برنج کشور برای در اختیار گذاشتن مزرعه برنج و آزمایشگاه‌ها قدردانی و تشکر می‌شود.

برای گزینش لاین‌های با عملکرد دانه بالا در برنج می‌توان گزینش‌های هم‌زمانی را برای صفاتی نظیر تعداد خوشه در بوته، تعداد دانه پر در خوشه و طول دانه انجام داد؛ بنابراین با توجه تنوع مشاهده شده در این تحقیق، علاوه بر ژنوتیپ‌های انتخابی تعداد دیگری از ژنوتیپ‌های موتانت دارای خصوصیات مورفولوژیکی و زراعی مطلوب از جمله پاکوتاهی، زودرسی، دانه‌های بلند، خوشه بلند و ... انتخاب شده و بذور آن‌ها به‌صورت جداگانه برداشت شدند تا در نسل‌های بعدی به‌عنوان پایه‌ای برای یافتن ژن‌های مفید، آلل‌ها، کشف ژنومیک کارکردی و مطالعات بیشتر در این مدل محصولات زراعی به کار رود. این نتایج نشان‌دهنده پتانسیل و کارایی جهش با ماده جهش‌زای اتیل متان سولفونات در ایجاد تنوع ژنتیکی، مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی می‌باشد و زمینه مناسبی برای انتخاب لاین‌های جهش‌یافته با صفات فنوتیپی مطلوب

References

- Ahmadikhah, A., Shojaeian, H., Pahlevani, M.H. and Nayyepasand, L. (2014). Study on ethyl methane sulfonate (EMS)-induced variability in morphological traits of rice and identification of mutant lines with high yield potential. *Plant Products Research Journal*, **21(2)**: 47-65 (In Persian).
- Ahmadpour, S., Darvishzadeh, R. and Sofalian, O. (2017). Selection indices for yield improvement of sunflower under normal and salt stress conditions. *Journal of Crop Breeding*, **10(25)**: 91-100 (In Persian).
- Akbarpour, O. (2017). Application of variance components estimators in plant breeding. *Plant Genetic Researches*, **4**: 1-24 (In Persian).
- Allah Gholipour, M. (1998). Correlation between agronomic traits in rice yield through path analysis. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran (In Persian).
- Allah Gholipour, M. and Mohammad Salehi, M. (2003). Factor and path analysis in different rice genotypes. *Seed and Plant Improvement Journal*, **19(1)**: 76-86 (In Persian).
- Azizi, H., Aalami, A., Esfahani, M. and Ebadi, A.A. (2015). 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).
- Baker, R.J. (1986). *Selection Indices in Plant Breeding*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA.
- Chen, Y.L., Liang, H.L., Ma, X.L., Lou, S.L., Xie, Y.Y., Lu, Z.L., Chen, L.T. and Liu, Y.G. (2013). An efficient rice mutagenesis system based on suspension-cultured cells. *Journal of Integrative Plant Biology*, **55(2)**: 122-130.
- Danesh Gilevaei, M., Samizadeh Lahiji, H. and Rabiei, B. (2015). Relationship between grain yield and its components and grouping of rice (*Oryza sativa* L.) recombinant inbred lines. *Journal of Crop Breeding*, **9(21)**: 257-272 (In Persian).
- Dewey, K.D. and Lu, K.H. (1959). A correlation and path coefficient analysis of components of crested wheatgrass seed production. *Journal of Agronomy*, **51**: 515-520.
- Domingo, C., Andres, F. and Talon, M. (2007). Rice cv. Bahia mutagenized population: a new resource for rice breeding in the Mediterranean basin. *Spanish Journal of Agriculture Research*, **5(3)**: 341-347.
- Dorusti, H. (2000). Genetic diversity based on agronomic traits of rice promising lines. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University of Karaj, Karaj, Iran (In Persian).
- Dorusti, H., Motahar, Y. and Ghanadha, M.R. (2004). Genetic diversity based on agronomic traits of advanced lines and rice varieties. *Seed and Plant Production Journal*, **20(2)**: 137-147 (In Persian).
- Farshadfar, A. (1997). *Application of Quantitative Genetics in Plant Breeding, Volume II*. Bostan Publications, Kermanshah, IR (In Persian).
- Fazlalipour, M., Rabiei, B., Samizadeh Lahijih, H.A. and Rahim Souroush, H. (2007a). Use of coefficient path analysis for base and optimum selection indices in rice. *Journal of Agricultural Science*, **17(4)**: 97-112 (In Persian).
- Fazlalipour, M., Rabiei, B., Samizadeh Lahijih, H.A. and Rahim Souroush, H. (2007b). Index selection in an F3 rice population. Iranian Journal of Agricultural Sciences. *Journal of Agriculture*, **38-1(2)**: 385-397 (In Persian).
- Golparvar, A.R., Ghannadha, M.R., Zali, A.A. and Ahmadi, A. (2002). Evaluation of some morphologic traits as selection criteria for improvement of bread wheat. *Journal of Crop Science*, **4**: 202-207 (In Persian).
- Jahani, M., Nematzadeh, G.H. and Mohammadi Nejad, G.H. (2015). Evaluation of agronomic traits associated with grain yield in rice (*Oryza sativa*) using regression and path analysis. *Journal of Crop Breeding*, **7(16)**: 115-122 (In Persian).
- Jankowicz-Cieslak, J. and Till, B.J. (2016). Chemical mutagenesis of seed and vegetatively propagated plants using EMS. *Current Protocols in Plant Biology*, **1**: 617-635.
- Jiang, Y., Cai, Z., Xie, W., Long, T., Yu, H. and Zhang, Q. (2012). Rice functional genomics research: Progress and implications for crop genetic improvement. *Biotechnology Advances*, **30**: 1059-1070.
- Kanra, O.P. and Brunner, H. (1970). Chemical mutagens. mode of action. in: manual in mutation breeding. FAO/IAEA. *Technical Report Series*, **119**: 62-64.
- Khademian, R. and Babaeian Jelodar, N.A. (2006). Mutagenic effects of gamma rays and ethyl methane sulfonate (EMS) on agronomic characteristics of some Iranian rice cultivars. Proceeding of 9th National Iranian Crop Science Congress, 27-29 August. Seed and Plant Improvement Campus, Karaj, Iran (In Persian).

- Kundu, S. and Kundagrami, S.** (2015). Estimation of path coefficient analysis to identify the yield contributing traits in rice (*Oryza sativa* L.) under saline and non-saline coastal regions of West Bengal. *Journal Advances in Biology*, **8(1)**: 1433-1438.
- Luz, V.K., Silveira Silveira, S.F., Fonseca, G.M., Goli, E.L., Figueiredo, R.G., Baretta, D., Marini Kopp, M., Magalhes Junior, A.M., Maya, L.C. and Oliveira, A.C.** (2015). Identification of variability for genomically important traits in rice mutant families. *Plant Breeding*, **75 (1)**: 41-50.
- Micke, A.** (1999). *Mutation and In vitro Mutation Breeding*. Kalani Publishers, Ludhiana, IND.
- Mohapatra, T., Robin, S., Sarla, N., Shehashayee, M., Singh, A.K., Singh, K., Singh, N.K., Amitha Mithra, S.V. and Sharma, R.P.** (2014). EMS induced mutants of upland rice variety nagina22: generation and characterization. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, **80**: 163-172.
- MVD.** (2016). FAO/IAEA mutant variety database. Available online at: <http://www-naweb.iaea.org/nafa/pbg/index.html/>
- Majidi, Z., Babaeian-Jelodar, N.A., Ranjbar, G.A. and Bagheri, N.A.** (2013). Study of induced variation by ethyl methane sulphonate and sodium azide on tarrom mahali rice cultivar. *Journal of Crop Breeding*, **5(12)**: 49-62 (In Persian).
- Mohadesi, A., Bakhshipour, S., Yekta, M. and Poshtiban, M.** (2017). Promising rice lines clustering based on morphological and agronomic traits. *Agroecology Journal*, **13(2)**: 73-83 (In Persian).
- Momeni, A.** (1996). Correlation and path analysis of some agronomic traits related to yield rice varieties and hybrids. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Tehran University, Tehran, Iran (In Persian).
- Nandan, R., Sweta, D. and Singh, S.K.** (2010). Character association and path analysis in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *World Journal of Agricultural Sciences*, **6(2)**: 201-206.
- Ndou, N., Shimelis, H., Odindo, A. and Modi, A.** (2015). Agro-morphological variation among two selected wheat varieties after ethyl methane-sulfonate mutagenesis. *Research on Crops*, **16(1)**: 27-36.
- Rabiei, B., Valizadeh, M., Gharayazie, B. and Moghaddam, M.** (2004). Evaluation of selection indices for improving rice grain shape. *Field Crops Research*, **89(2)**: 359-367 (In Persian).
- Rahimi, M. and Rabiei, B.** (2011). The application of selection indices on improvement of grain yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, **90**: 39-46 (In Persian).
- Rahimsorosh, C., Mesbah, M., Hosseinzadeh, A. and Bozorgipour, R.** (2004). Genetic variation and phenotypic cluster analysis for quantitative and qualitative traits in rice. *Seed and Plant Production Journal*, **20(2)**: 167-182 (In Persian).
- Ravindra, V., Shreya, K., Singh Dangi, K., Usharani, G. and Siva Shankar, A.** (2012). Correlation and path analysis studies in popular rice hybrids of India. *International Journal of Scientific Research*, **2(3)**: 1-5.
- Sabouri, H.** (2002). Path analysis of rice grain filling in different planting patterns. M.Sc. Thesis, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran (In Persian).
- Sabesan, T., Suresh, R. and Saravanan, K.** (2009). Genetic variability and correlation for yield and grain quality characters of rice grown in coastal saline low land of Tamilnadu. *Electronic Journal of Plant Breeding*, **1**: 56-59.
- Serrat, X., Esteban, R., Guibourt, N., Moysset, L., Nogués, S. and Lalanne, E.** (2014). EMS mutagenesis in mature seed-derived rice calli as a new method for rapidly obtaining TILLING mutant populations. *Plant Methods*, **10**: 5-18.
- Shoshi Dezfoli, A.A.** (1999). The estimated effect of genes correlated qualitative and quantitative traits in rice. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, University of Guilan, Rasht, Iran (In Persian).
- Smith, H.F.** (1936). A discriminant function for plant selection. *Annals of Human Genetics*, **7**: 240-250.
- Tanveer, U.H., Javaid, A., Shafaqat, N. and Ahmad, A.** (2009). Morpho-Physiological response of rice (*Oryza sativa* L.) varieties to salinity stress. *Journal of Botany*, **41(6)**: 2943-2956.
- Watto, K., Aslam, S., Shab, G. and Shabir, M.** (2012). Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutagenic attempts to create genetic variability in Basmati rice. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, **4(7)**: 101-105
- Zhao, X., Zhou, L. Ponce, K. and Ye, G.** (2015). The usefulness of known genes/QTLs for grain quality traits in an Indica population of diverse breeding lines tested using association analysis. *Rice*, **8**: 29-39.

Study of Genetical Correlation and Diversity of Morphological Traits Induced in Rice (*Oryza sativa* L.) Mutant Population of Hashemi Cultivar

Leila Khazaie¹, Reza Shirzadian Khoramabad^{2,*}, Ali-Akbar Ebadi³ and Ali Moumeni⁴

- 1- Ph.D. Student, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University Campus 2, University of Guilan, Rasht, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
- 3- Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
- 4- Associate Professor, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Amol, Iran

(Received: October 7, 2019 – Accepted: February 27, 2020)

Abstract

Mutagenesis has been one of the important sources of genetic diversity and Plant mutants can be important bio-resources for crop breeding and functional genomics studies. Breeding conventional methods for generating of genetic variability are of low efficiency. We showed that treatment of seeds of rice (Hashemi cultivar) with 0.8% EMS for 8 h caused visible phenotypic variations on M2 rice mutant genotypes including flowering date, plant height, number of fertile tiller, panicle length, number of filled and unfilled grains per panicle, grain width and length, 100 grain weight and grain yield. The phenotypic variation coefficients of most traits found to be more than the genetic variation coefficients. The number of filled grains per panicle and seed length had the highest and lowest general heritability, respectively. The seed yield had also high heritability. Analysis of correlation between different characteristics in the mutant genotypes showed that the number of fertile tillers and the number of unfilled grains per panicle had positive correlation with yield. Also, grain yield exhibited positive and significant correlation with panicle length, number of tillers and number of filled grains at genotypic level. In multiple regression analysis by stepwise method, number of tillers, number of filled grains per panicle, 100-grain weight, and grain width entered into the model, respectively, that explained 96 percent of grain yield variations. Results of grain yield and its components path coefficient analysis showed that the number of tiller had the highest direct effect (0.77) through than other traits on grain yield and, therefore it can be considered as major trait in grain yield improvement in rice. Also, based on results of this research and by using optimal selection index, mutant genotypes EM 18-17-5 and EM 15-14-1 were selected as superior mutant genotypes. This mutant population is expected to be serves as a genetical resource for understanding rice biology as well as for use in genetic improvement of quantitative traits.

Keywords: Rice, Genetics variability, Mutation, Index, Concentration, EMS

* Corresponding Author, E-mail: r.shirzadian@guilan.ac.ir