



دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

تحقیقات غلات

سال چهارم / شماره چهارم / ۱۳۹۳ (۳۰۹-۳۱۸)

بررسی تنوع مورفولوژیک القاء شده در ارقام برنج با استفاده از جهش‌زای شیمیایی اتیل متان سولفونات (EMS)

محمد سیه‌چهره^۱، غفار کیانی^{۲*} و سید کمال کاظمی تبار^۳

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۲۴)

چکیده

موتاسیون به عنوان ابزار مفیدی در برنامه‌های اصلاحی گیاهان، قادر است تنوع قابل توارثی برای گزینش فراهم کند. در این تحقیق، از موتازن شیمیایی اتیل متان سولفونات (EMS) در سه غلظت ۰/۱۷، ۰/۳۵ و ۰/۵۱ درصد جهت ایجاد تنوع روی صفات مورفولوژیک ارقام طارم محلی، سنگ طارم و طارم هاشمی استفاده شد و نسل M_1 حاصل به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته، تعداد پنجه، طول خوشه، تعداد دانه‌های پر و پوک در خوشه، تعداد کل دانه در خوشه، قطر و طول دانه و وزن ۱۰۰ دانه بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم \times غلظت EMS برای صفات تعداد کل دانه در خوشه، تعداد دانه‌های پوک در خوشه و طول دانه در سطح احتمال ۵٪ و برای صفات تعداد دانه‌های پر در خوشه و وزن ۱۰۰ دانه در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. اثر رقم از نظر صفات ارتفاع بوته و وزن ۱۰۰ دانه در سطح احتمال ۱٪ و برای صفت طول خوشه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود، در حالی که اثر غلظت EMS از نظر صفات تعداد پنجه، تعداد کل دانه، تعداد دانه‌های پر و پوک در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نیز نشان داد که اتیل متان سولفونات (EMS) باعث افزایش صفاتی نظیر طول دانه، تعداد دانه در خوشه و وزن ۱۰۰ دانه و کاهش ارتفاع بوته در ارقام مختلف برنج شد. به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که EMS اثر قابل توجه و معنی‌داری روی صفات وزن ۱۰۰ دانه و ارتفاع بوته ارقام برنج در نسل M_1 داشت و به این ترتیب از این ماده جهش‌زا می‌توان جهت افزایش تنوع و در نتیجه افزایش بازده ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اتیل متان سولفونات (EMS)، برنج (*Oryza sativa* L.)، موتاسیون، نسل M_1

مقدمه

(T) می‌شود و این تبدیل در زمان ترجمه رمز ژنتیکی، ممکن است باعث تغییر نوع پروتئین شود (Watto *et al.*, 2012). برخی از تحقیقاتی که با استفاده از اتیل متان سولفونات (EMS) روی برنج انجام شده است، شامل تولید لاین‌های جهش یافته با خاصیت پاکوتاهی (Padma and Raddy, 1977)، افزایش عملکرد در موتانت‌های حاصل (Khattri *et al.*, 2005)، افزایش مقاومت به بیماری‌ها (Jia *et al.*, 2006) و ایجاد مقاومت به شوری (Theerawitaya *et al.*, 2011) است. شهابا و همکاران (Shehata *et al.*, 2009) در تحقیقات خود نسل M_1 برنج‌های جهش‌یافته را تحت تنش شوری قرار دادند. هریس و کوسوف (Haris and Kusoff, 2013) ارتفاع بوته را در نسل M_1 مورد بررسی قرار دادند. ال-دگوای (El-Degwy, 2013) صفاتی نظیر عملکرد بوته، وزن ۱۰۰۰ دانه و تعداد پنجه را در نسل M_1 مورد مطالعه قرار داد.

در این تحقیق، تأثیر دزهای مختلف اتیل متان سولفونات (EMS) بر ویژگی‌های مورفولوژیک نسل M_1 سه رقم برنج بومی ایرانی شامل طارم محلی، سنگ طارم و طارم هاشمی مورد مطالعه قرار گرفت. هدف از این تحقیق، علاوه بر ایجاد جهش مصنوعی و افزایش تنوع ژنتیکی صفات مورفولوژیک و زراعی مرتبط با عملکرد دانه، اصلاح برخی صفات نامطلوب نظیر خوابیدگی بوته ناشی از ارتفاع بوته زیاد این ارقام، افزایش تعداد پنجه و تعداد دانه در خوشه بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار سال ۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. ارقام برنج مورد استفاده شامل طارم محلی، سنگ طارم و طارم هاشمی بودند. بذر این ارقام به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق و در آب مقطر خیس داده شدند. سپس آب مقطر موجود در ظروف تخلیه شده و بذره‌های خیس خورده به مدت ۱۸ ساعت تحت تیمار غلظت‌های مختلف (۰/۱۷، ۰/۳۵ و ۰/۵۱ درصد) موتاژن EMS قرار گرفتند. اتیل متان سولفونات (EMS) دارای فرمول شیمیایی $CH_3SO_3C_2H_5$ است و باعث جهش‌های تصادفی از نوع جایگزینی بازهای G و C با بازهای A و T می‌شود. پس از

برنج منبع غذایی بیش از نیمی از مردم جهان است و بنابراین لازم است در اصلاح صفات کیفی و کمی آن تلاش شود. بیش از ۸۰ درصد کالری و ۷۵ درصد پروتئین مصرفی مردم آسیا از برنج تأمین می‌شود. برنج غذای اصلی و مهم مردم ایران بوده و مصرف سرانه آن به ۳۸ کیلوگرم در سال می‌رسد (Nematzadeh *et al.*, 2003). افزایش روزافزون جمعیت به ویژه در کشورهای در حال توسعه، محدود بودن امکان گسترش اراضی زیر کشت به ویژه برای برنج و عواملی مانند تنش‌های محیطی، بیماری‌ها و کاهش حاصل‌خیزی خاک‌های موجود، افزایش عملکرد محصولات کشاورزی را در واحد سطح ایجاب می‌کند (Majd *et al.*, 2002). از آنجایی که تنوع در سطح گونه‌های گیاهی به دلیل شدت کارهای اصلاحی و به دنبال آن، فرسایش شدید منابع ژنتیکی به سطح پایینی رسیده است، از این‌رو موتاسیون می‌تواند به عنوان یک روش کمکی جهت افزایش تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی در گیاهان مورد استفاده قرار گیرد (Yilmaz and Boydak, 2006).

موتاسیون به عنوان یکی از منابع ایجاد تنوع می‌تواند قابلیت‌های بالقوه ژنتیکی که به طور طبیعی امکان بروز نمی‌یابند را ایجاد نماید و در واقع این روش، موجب تقویت کارایی روش‌های اصلاح کلاسیک شده و عملیات اصلاحی می‌تواند در زمان کوتاه‌تر و با کیفیت مطلوب‌تر و نتایج بهتر انجام می‌گیرد (Bagheri *et al.*, 2008). القای موتاسیون در برنج، به دلیل اینکه به طور طبیعی یک گیاه دیپلوئید است و حداکثر تنوع را در نسل M_2 ایجاد می‌کند، اهمیت ویژه‌ای در اصلاح موتاسیونی دارد (Bughio *et al.*, 2007). دو شرط اصلی و اساسی برای انجام یک برنامه اصلاحی با استفاده از موتاسیون، ایجاد تنوع ژنتیکی زیاد از طریق موتاسیون و در اختیار داشتن یک جمعیت بزرگ برای مطالعه است (Bhan, 1972). اهداف اولیه در اصلاح موتاسیونی شامل افزایش فراوانی و طیف موتاسیون‌ها، افزایش درصد موتاسیون‌های زنده و تا حدی کنترل و بررسی فرآیندهای موتاسیونی است (Stoskof *et al.*, 1997).

اتیل متان سولفونات (EMS) به عنوان یک ماده شیمیایی جهش‌زا، باعث جایگزینی بازهای آلی گوانین (G) و سیتوزین (C) به وسیله بازهای آدنین (A) و تیمین

$$CVP = \frac{\sqrt{V_P}}{\bar{X}} \times 100 \quad (5)$$

$$h_b^2 = \frac{V_G}{V_P} \quad (6)$$

$$GA = i \times h \times \sqrt{V_P} \quad (7)$$

در این روابط، V_P ، V_G و V_E به ترتیب واریانس فنوتیپی، ژنوتیپی و محیطی، CVG و CVP به ترتیب ضریب تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی، h_b^2 وراثت‌پذیری عمومی، GA پیشرفت ژنتیکی (با شدت گزینش استاندارد MS_G و MS_E ، $i=2.06$ به ترتیب میانگین مربعات ژنوتیپ (واریته) و خطای آزمایش (که از جدول تجزیه واریانس به دست می‌آیند) و r تعداد تکرار آزمایش ($r=3$) هستند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در مورد اثر دز موتاژن شیمیایی EMS بر صفات اندازه‌گیری شده در سه رقم برنج مورد مطالعه (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل رقم \times دز موتاژن بر صفات تعداد کل دانه در خوشه، تعداد دانه‌های پوک در خوشه، تعداد دانه‌های پر در خوشه، طول دانه و وزن ۱۰۰ دانه معنی‌دار بود، در حالی که اثر رقم فقط بر صفات ارتفاع بوته، طول خوشه و وزن ۱۰۰ دانه معنی‌دار شد و این در حالی بود که اثر دز EMS فقط بر صفت تعداد دانه پوک در خوشه معنی‌دار شد. در تحقیقی که مجیدی و همکاران (Majidi et al., 2011) به منظور بررسی اثر EMS روی صفات زراعی رقم طارم محلی انجام دادند، اثر آن را بر تعداد دانه‌های پوک در خوشه و تعداد کل دانه در خوشه معنی‌دار گزارش کردند. بابایی و همکاران (Babaei et al., 2011) نیز ارقام سنگ طارم، طارم هاشمی و نعمت را تحت تاثیر دزهای مختلف اشعه گاما قرار دادند. آنها بیان کردند که ارقام جهش یافته در صفات ارتفاع بوته، نسبت دانه پوک در خوشه، عملکرد تک بوته و تعداد پنجه، نسبت به ارقام شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند، ولی تفاوت معنی‌داری بین ارقام شاهد و جهش-یافته از نظر صفات طول خوشه و تعداد دانه پر در خوشه مشاهده نکردند.

این مدت، بذره‌های مربوطه سه بار و هر بار ۵ دقیقه با آب مقطر شستشو شدند و پس از آن مجدداً سه بار و هر بار ۲۰ دقیقه در آب مقطر قرار گرفتند تا بذرها کاملاً شسته شوند. در نهایت، کلیه بذره‌های تیمار شده با EMS به مدت ۲ ساعت زیر شیر آب جاری شستشو شدند تا باقیمانده احتمالی ماده EMS از سطح بذرها کاملاً از بین برود (Till et al., 2007).

بذره‌های M_0 به دست آمده به طور جداگانه در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در خزانه کشت شدند. ارقام والدینی (بدون اعمال تیمار موتاژن) نیز در کنار ارقام تیمار شده کشت شدند. پس از ۳۰ روز، نشاها به زمین اصلی منتقل و در آنجا بذره‌های نسل M_1 هر یک از ارقام مورد مطالعه به صورت تک بوته و با فاصله 20×20 سانتی‌متر کشت شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عملیات زراعی لازم نظیر آبیاری، تغذیه گیاهان با کودهای شیمیایی، وجین علف‌های هرز و مبارزه با آفات و بیماری‌ها طبق عرف منطقه تا مرحله برداشت انجام گرفت. مهم‌ترین صفات زراعی و مرفولوژیک اندازه‌گیری شده در بوته‌های M_1 شامل ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، تعداد پنجه، طول خوشه (سانتی‌متر)، تعداد کل دانه در خوشه، تعداد دانه‌های پوک و پر در خوشه، عرض دانه (میلی‌متر)، طول دانه (میلی‌متر) و وزن ۱۰۰ دانه (گرم) بود که با انتخاب نمونه‌های تصادفی ده بوته‌ای از هر تکرار اندازه‌گیری و سپس میانگین هر تکرار ثبت شد. تجزیه آماری داده‌ها شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد و سپس واریانس محیطی، ژنوتیپی و فنوتیپی، ضرایب تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی، وراثت‌پذیری عمومی و پیشرفت ژنتیکی هر یک از صفات مورد مطالعه با استفاده از روابط ۱ تا ۷ محاسبه شدند:

$$V_E = \sigma_E^2 = MS_E \quad (1)$$

$$V_G = \sigma_G^2 = \frac{MS_G - MS_E}{r} \quad (2)$$

$$V_P = V_G + V_E \quad (3)$$

$$CVG = \frac{\sqrt{\sigma_G^2}}{\bar{X}} \times 100 \quad (4)$$

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر دزهای مختلف EMS بر صفات مورفولوژیک ارقام برنج مورد مطالعه

Table 1. Analysis of variance for the effect of different EMS doses on morphological characteristics of the studied rice cultivars

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square								
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد پنجه Tiller number	طول خوشه Panicle length	تعداد کل دانه Total grain	تعداد دانه پوک No. of unfilled grain/panicle	تعداد دانه پر No. of filled grain/panicle	عرض دانه Grain width	طول دانه Grain length	وزن ۱۰۰ دانه 100-grain weight
بلوک Block	2	112.86 ^{ns}	6.88 ^{ns}	1.11 ^{ns}	119.11 ^{ns}	187.02 ^{ns}	247.31 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.159 ^{ns}	0.003 ^{ns}
رقم Variety	2	264.64 ^{**}	17.29 ^{ns}	15.99 [*]	191.93 ^{ns}	172.23 ^{ns}	275.6 ^{ns}	0.00002 ^{ns}	0.169 ^{ns}	0.126 ^{**}
دز موتاژن EMS dose	3	52.08 ^{ns}	23.36 ^{ns}	2.93 ^{ns}	486.53 ^{ns}	204.33 [*]	281.26 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.171 ^{ns}	0.002 ^{ns}
رقم×دز موتاژن Variety× EMS	6	39.24 ^{ns}	25.93 ^{ns}	6.28 ^{ns}	542.82 [*]	254.31 [*]	944.97 ^{**}	0.002 ^{ns}	0.391 [*]	0.026 ^{**}
خطای آزمایش Error	22	32.81	10.45	2.73	166.104	60.29	107.13	0.003	0.117	0.003

^{ns}, ^{*}, ^{**}: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

^{ns}, ^{*}, ^{**}: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively.

اندونزی انجام دادند و افزایش تعداد پنجه را مشاهده کردند، مغایرت داشت. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات بالوچ و همکاران (Baloch *et al.*, 1999) روی رقم جاجای ۷۷ و بوقیو و همکاران (Bugchio *et al.*, 2007) روی رقم باسماتی-۳۷۰ که با استفاده از دزهای مختلف اشعه گاما انجام دادند، نیز مطابقت داشت.

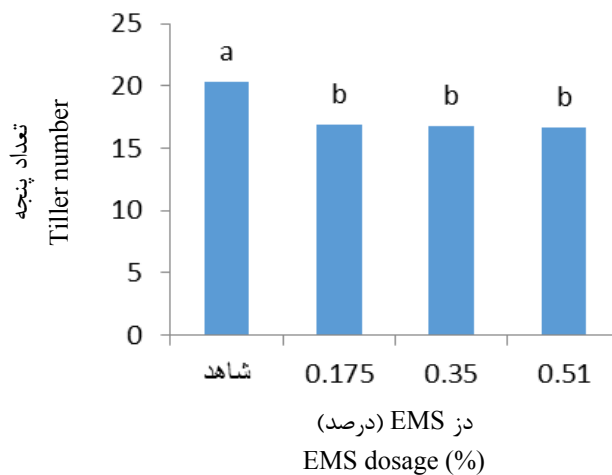
مقایسه میانگین بین دزهای مختلف موتاژن از نظر صفت تعداد کل دانه در خوشه در شکل ۲ ارائه شده است. چنانکه ملاحظه می شود، اعمال دزهای بالاتر و به ویژه اعمال دز ۰/۳۵ درصد، موجب افزایش تعداد دانه در خوشه در ارقام مورد مطالعه شده است. مجیدی و همکاران (Majidi *et al.*, 2011) نیز در بررسی اثر EMS روی برنج رقم طارم محلی نتیجه مشابهی با این تحقیق به دست آوردند و افزایش صفت تعداد دانه در خوشه را در اثر استفاده از تیمار EMS گزارش کردند.

نتایج مقایسه میانگین دزهای مختلف موتاژن بر صفت تعداد دانه های پر در خوشه (شکل ۳) نیز نشان داد که اعمال دز بالاتر (به ویژه دز ۰/۳۵ درصد) باعث افزایش تعداد دانه های پر نسبت به دز ۰/۱۷ درصد شد. همان طور که در شکل ۳ نیز مشاهده می شود، میانگین تعداد دانه پر

اگرچه نتایج تجزیه واریانس داده ها در این تحقیق نشان داد که اثر دز موتاژن فقط بر صفت تعداد دانه پوک معنی دار بود و اثر آن بر سایر صفات مطالعه شده از نظر آماری معنی دار نبود، اما با توجه به اینکه میانگین مربعات دز موتاژن در مورد برخی از صفات مانند صفات تعداد پنجه، تعداد کل دانه در خوشه، تعداد دانه های پر در خوشه و تعداد دانه های پوک در خوشه بسیار بزرگ تر از میانگین مربعات خطای آزمایش و اختلاف بین آنها نزدیک به معنی دار شدن بود، از این رو مقایسه میانگین بین دزهای مختلف موتاژن شیمیایی EMS برای این صفات انجام و ملاحظه شد که تفاوت بین دزهای موتاژن از نظر صفات تعداد پنجه، تعداد کل دانه، تعداد دانه های پر و تعداد دانه های پوک در خوشه معنی دار است. مقایسه میانگین بین دزهای مختلف موتاژن از نظر صفت تعداد پنجه (شکل ۱)، نشان داد که با اعمال موتاژن شیمیایی EMS روی بذره های برنج، تعداد پنجه نسبت به ارقام شاهد کاهش می یابد. این نتیجه با نتایج مطالعه مجیدی و همکاران (Majidi *et al.*, 2011) مطابقت داشت، در حالی که با نتایج هریس و جوسوف (Haris and Jusoff, 2013) که با استفاده از اشعه گاما روی دو رقم برنج محلی

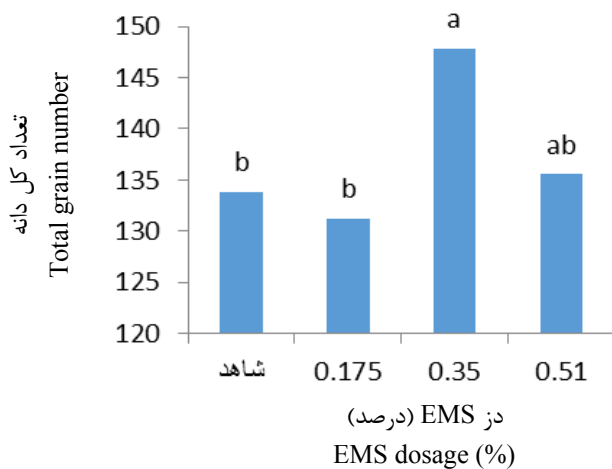
نتایج مقایسه میانگین بین دزهای مختلف برای صفت تعداد دانه‌های پوک در خوشه (شکل ۴) بیانگر آن بود که ابتدا با افزایش دز (تا ۰/۳۵ درصد)، تعداد دانه‌های پوک افزایش یافت، اما از آن به بعد (یعنی در دز ۰/۵۱ درصد) تعداد دانه‌های پوک کاهش یافت. در مورد این صفت، مجیدی و همکاران (Majidi *et al.*, 2011) و هریس و جوسوف (Haris and Jusoff, 2013) هیچ گونه کاهش معنی‌داری را مشاهده نکردند، ولی نتایج تحقیقات شهاتا و همکاران (Shehata *et al.*, 2009) نشان داد که استفاده از اشعه گاما برای ایجاد جهش باعث کاهش تعداد دانه‌های پوک در خوشه می‌شود.

در خوشه در ارقام شاهد بیشتر از دز ۰/۱۷ درصد بود که دلیل آن وجود اثر متقابل بسیار معنی‌دار رقم×دز موتازن (جدول ۱) بود، به طوری که وجود این اثر متقابل موجب شد که در برخی از ارقام مانند طارم محلی، تعداد دانه‌های پر در تیمار شاهد بسیار بیشتر از همه دزهای موتازن باشد، در حالی که این وضعیت برای رقم سنگ طارم کاملاً برعکس بوده و تعداد دانه پر در تیمار شاهد سنگ طارم کمتر از همه دزهای مورد استفاده بود. در مطالعه‌ای که هریس و جوسوف (Haris and Jusoff, 2013) انجام دادند، کاهش تعداد دانه‌های پر را با افزایش دز اشعه گاما مشاهده کردند. ال-دگوای (El-Degwy, 2013) نیز کاهش دانه‌های پر را با افزایش دز موتازن مشاهده کرد.



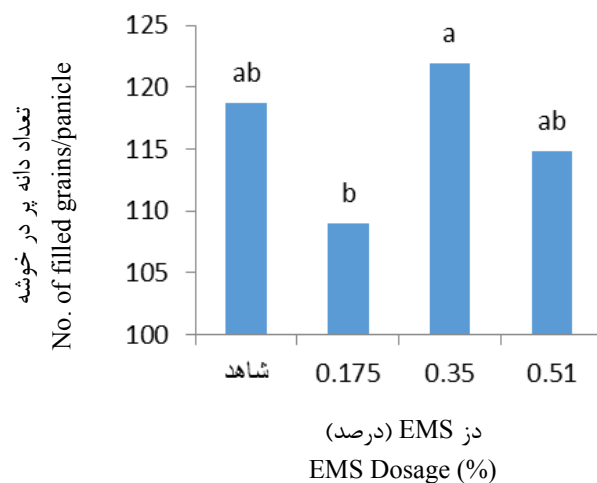
شکل ۱- مقایسه میانگین دزهای مختلف موتازن شیمیایی EMS بر صفت تعداد پنجه

Figure 1. Mean comparison of different doses of the chemical mutagen EMS on tiller number

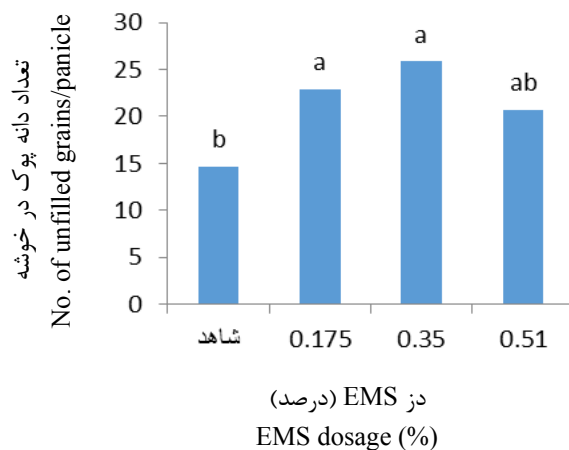


شکل ۲- مقایسه میانگین دزهای مختلف موتازن شیمیایی EMS بر صفت تعداد کل دانه در خوشه

Figure 2. Mean comparison of different doses of the chemical mutagen EMS on the total number of grains per panicle



شکل ۳- مقایسه میانگین دزهای مختلف موتاژن شیمیایی EMS بر صفت تعداد دانه‌های پر در خوشه
Figure 3. Comparison of different doses of the chemical mutagen EMS on filled grains per panicle



شکل ۴- مقایسه میانگین دزهای مختلف موتاژن شیمیایی EMS بر صفت تعداد دانه‌های پوک در خوشه
Figure 4. Comparison of different doses of the chemical mutagen EMS on unfilled grains per panicle

اتیل متان سولفونات (EMS) روی رقم طارم محلی باعث شده است که این رقم بیشترین ارتفاع بوته (۱۷۲ سانتی‌متر)، کمترین تعداد پنجه (۱۳)، کمترین تعداد دانه پر (۹۳) و کمترین طول خوشه (۲۶ سانتی‌متر) را در بین ارقام دیگر به خود اختصاص دهد. مجیدی و همکاران (Majidi *et al.*, 2011) در تحقیقی که با استفاده EMS روی رقم طارم محلی انجام دادند، تغییر در ارتفاع بوته و تعداد دانه‌های پر و پوک را گزارش کردند، ولی تغییری در تعداد پنجه مشاهده نکردند. گزارش مشابهی توسط شهاتا و همکاران (Shehata *et al.*, 2009) که روی چهار رقم از ارقام محلی مصر با استفاده از دزهای مختلف اشعه گاما انجام دادند، نیز ارایه شده است. آنها گزارش دادند که

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم×دز موتاژن در جدول ۲ ارایه شده است. این نتایج نشان می‌دهند که رقم سنگ طارم با اعمال دزهای مختلف اتیل متان سولفونات (EMS) دارای بالاترین میانگین طول خوشه (۳۰ سانتی‌متر)، بیشترین و کمترین دانه‌های پوک (به ترتیب ۳۶ و ۹)، بالاترین طول دانه (۱۰/۵۱ میلی‌متر) و بیشترین میانگین وزن ۱۰۰ دانه (۲/۵۷ گرم) در بین ارقام دیگر بوده است. کمترین طول خوشه (۲۴ سانتی‌متر)، بیشترین تعداد دانه در خوشه (۱۶۳ عدد)، کمترین طول دانه (۹/۴۳ میلی‌متر)، کمترین وزن ۱۰۰ دانه (۲/۱۸ گرم)، نتیجه اعمال دزهای مختلف اتیل متان سولفونات (EMS) روی رقم طارم هاشمی بوده است. اعمال دزهای مختلف

گزینش بتوان این صفت را به طور موفقیت‌آمیز اصلاح کرد. اما این مقادیر برای صفت طول خوشه به ترتیب ۶۱/۸۱ و ۱۴/۶۱ درصد و برای صفت وزن ۱۰۰ دانه به ترتیب ۹۳/۱۸ و ۰/۱۱ درصد بود. به عبارت دیگر، اگرچه این دو صفت دارای مقادیر وراثت‌پذیری بالایی بودند، اما مقدار پیشرفت ژنتیکی آنها تحت اثر جهش‌زای EMS در جمعیت مورد مطالعه پایین بود و از این‌رو، اصلاح این صفات با روش گزینش موفقیت‌آمیز نیست و برای اصلاح این صفات بهتر است از روش دورگ‌گیری بین ژنوتیپ‌های مطلوب استفاده کرد (Kiani, 2013).

سپاسگزاری

بدینوسیله نگارندگان مقاله از حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و دبیرخانه طرح کلان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

ژنوتیپ‌هایی که تحت تأثیر اشعه گاما قرار گرفتند، نسبت به گیاهان شاهد، ارتفاع بوته کمتر، تعداد دانه در خوشه بیشتر، عملکرد دانه بالاتر و تعداد پنجه بیشتری داشتند. به طور کلی، اعمال موتاژن شیمیایی اتیل متان سولفونات (EMS) باعث ایجاد تنوع ژنتیکی در جهت افزایش صفاتی مانند طول دانه، تعداد دانه در خوشه و وزن ۱۰۰ دانه و نیز باعث کاهش ارتفاع بوته در ارقام مختلف برنج شد.

ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی، وراثت‌پذیری عمومی و پیشرفت ژنتیکی صفات اندازه‌گیری شده در جمعیت مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است. وراثت‌پذیری صفات از ۴/۹۲ درصد برای تعداد کل دانه در خوشه تا ۹۳/۱۸ درصد برای وزن ۱۰۰ دانه متغیر بود. بیشترین کمترین پیشرفت ژنتیکی برای تعداد دانه پر در خوشه (۲۴۸/۹۷ درصد) و عرض دانه (صفر درصد) مشاهده شد (جدول ۳). برای صفت ارتفاع بوته نیز مقادیر وراثت‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی بالایی مشاهده شد (به ترتیب ۷۰/۱۹ و ۲۳۹/۸ درصد) و بنابراین، انتظار می‌رود با انجام عمل

جدول ۲- مقایسه میانگین برهمکنش اثر دزهای مختلف EMS ارقام برنج بر صفات مورد مطالعه در
Table 2. Mean interaction effect of different doses of EMS on traits in rice

رقم برنج Rice variety	دزهای مختلف EMS doses	صفات مورد مطالعه The studied traits								
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد پنجه Tiller number	طول خوشه Panicle length	تعداد کل دانه Total grain/ panicle	تعداد دانه پوک No. of unfilled grain/ panicle	تعداد دانه پر No. of filled grain/ panicle	عرض دانه Grain width	طول دانه Grain length	وزن ۱۰۰ دانه 100-grain weight
طارم محلی	شاهد	169.67 ^{ab}	22 ^a	28.25 ^{ab}	153 ^{ab}	12 ^c	140 ^a	2.03 ^a	10.18 ^{ab}	2.42 ^{bc}
	0.17	162.33 ^{abc}	14 ^{cd}	27.73 ^{abc}	125 ^c	31 ^{ab}	94 ^e	1.98 ^a	9.89 ^{abc}	2.41 ^c
	0.35	172.33 ^a	20 ^{abc}	28.00 ^{ab}	140 ^{abc}	22 ^{abc}	118 ^{bcd}	1.98 ^a	9.75 ^{bc}	2.36 ^c
	0.51	167.83 ^{abc}	13 ^d	26.93 ^{bc}	127 ^c	34 ^a	93 ^e	1.97 ^a	9.87 ^{abc}	2.26 ^{de}
سنگ طارم	شاهد	161.33 ^{abc}	17 ^{abcd}	30.56 ^a	117 ^c	18 ^{bc}	99 ^{de}	2.02 ^a	10.32 ^{ab}	2.54 ^a
	0.17	158.60 ^{bc}	16 ^{abcd}	27.90 ^{ab}	139 ^{bc}	17 ^{bc}	123 ^{abc}	2.03 ^a	9.76 ^{bc}	2.42 ^{bc}
	0.35	155.00 ^c	15 ^{bcd}	30.73 ^a	138 ^{bc}	18 ^{bc}	120 ^{bc}	1.93 ^a	9.69 ^{bc}	2.51 ^{ab}
	0.51	161.43 ^{abc}	17 ^{abcd}	27.96 ^{ab}	137 ^{bc}	17 ^{bc}	119 ^{bc}	1.97 ^a	10.51 ^a	2.57 ^a
طارم هاشمی	شاهد	172.00 ^a	21 ^{ab}	24.73 ^c	131 ^{bc}	13 ^c	116 ^{bcd}	1.97 ^a	9.43 ^c	2.18 ^e
	0.17	164.97 ^{abc}	19 ^{abcd}	27.66 ^{abc}	128 ^{bc}	20 ^{bc}	108 ^{ede}	1.99 ^a	9.71 ^{bc}	2.40 ^c
	0.35	163.37 ^{abc}	15 ^{bcd}	27.80 ^{abc}	163 ^a	36 ^a	127 ^{abc}	1.98 ^a	10.23 ^{ab}	2.35 ^{cd}
	0.51	163.77 ^{abc}	19 ^{abc}	27.93 ^{ab}	141 ^{abc}	9 ^c	131 ^{ab}	2.00 ^a	9.96 ^{abc}	2.32 ^{cd}

جدول ۳- ضریب تنوع فنوتیپی (CVP)، ضریب تنوع ژنوتیپی (CVG)، وراثت‌پذیری عمومی (h_b^2) و پیشرفت ژنتیکی (GA) صفات مورد

مطالعه در ژنوتیپ‌های برنج تحت تاثیر EMS

Table 3. Phenotypic coefficient of variation (CVP), genotypic coefficient of variation (CVG), broad-sense heritability (h_b^2) and genetic advance (GA) in rice genotypes affected by EMS

پارامتر Parameter	ارتفاع بوته Height	تعداد پنجه Tiller number	طول خوشه Panicle length	تعداد کل دانه Total grain/ panicle	تعداد دانه پوک No. of unfilled grain/ panicle	تعداد دانه پر No. of filled grain/ panicle	عرض دانه Grain width	طول دانه Grain length	وزن ۱۰۰ دانه 100-grain weight
CVP (%)	6.38	20.19	9.54	9.63	47.00	11.00	2.25	3.68	8.74
CVG (%)	5.34	8.54	7.50	2.13	29.05	6.45	0	1.32	8.44
h_b^2 (%)	70.19	17.91	61.81	4.92	38.22	34.39	49.5	12.90	93.18
GA (%)	239.80	14.00	14.61	100.83	156.90	248.97	0	0.12	0.11

References

- Babaei, A., Nematzadeh, Gh. and Hashemi, H. 2011.** An evaluation of genetic differentiation in rice mutants using semi-random markers and morphological characteristics. **Australian Journal of Crop Science** 5 (13): 1715-1722.
- Bagheri, N., Babaeian Jelodar, N. and Hasan Nataj, E. 2008.** Genetic diversity of Iranian rice germplasm based on morphological traits. **Iranian Journal of Field Crops Research** 6 (2): 235-243. (In Persian).
- Baloch, A. W., Soomro, A. M., Mustafa, G., Bughio, M. S. and Bughio, H. R. 1999.** Mutagenesis for reduced plant height and high grain yield in Jajai77, an aromatic rice (*Oryza sativa* L.) variety. **Pakistan Journal of Botany** 31 (2): 469-474.
- Bhan, A. K. 1972.** Toward a more efficient mutation breeding program. **Barley Genetics Newsletter** 3: 11-12.
- Bibi, S., Ahmed Khan, I., Bughio, R., Odhano, I., Asad, M. and Khatri, A. 2009.** Genetic differentiation of rice mutants based on morphological traits and molecular marker (RAPD). **Pakistan Journal of Botany** 41 (2): 737-743.
- Bughio, H. R., Asad, M. A., Odhano, I. A., Bughio, M. S., Khan, M. A. and Mastoi, N. N. 2007.** Improvement of grain yield in rice variety Basmati-370 (*Oryza sativa* L.), through mutagenesis. **Pakistan Journal of Botany** 39 (7): 2463-2466.
- El-Degwy, I. S. 2013.** Mutation induced genetic variability in rice (*Oryza sativa* L.). **International Journal of Agriculture and Crop Sciences (IJACS)** 5 (23): 2789-2794.
- Haris, A. and Jusoff, K. 2013.** Gamma ray radiation mutant rice on local aged dwarf. **Middle-East Journal of Scientific Research** 15 (8): 1160-1164.
- Jia, Y., Xie, J. and Rutger, J. N. 2006.** Development and characterization of Katy deletion mutant populations for functional genomics of host-parasite interactions and rice improvement. **Plant Mutation Report** 1 (1): 43-44.
- Khatri, A., Ahmedkhan, I., Siddiqui, M. A., Raza, S. and Nizamani, G. S. 2005.** Evaluation of high yielding mutants of *Brassica Junea* cv. S-9 developed through gamma rays and EMS. **Pakistan Journal of Botany** 37 (2): 279-284.
- Kiani, G. 2013.** Heritability and diversity analysis of quantitative traits in rice. **Agriculturae Conspectus Scientificus** 78 (2): 113-117.
- Majd, F., Rahimi, M. and Rezazadeh, M. 2002.** Evolving of mutant lines resistant to lodging, and high yield in rice by induce mutation using Gamma ray (physical mutagen). **Journal of Nuclear Science and Technology** 26: 37-43. (In Persian).
- Majidi, Z., Babaeian Jelodar, N. A., Ranjbar, G. A. and Bagheri, N. A. 2011.** Effect of different chemical mutagens on Tarrom Mahali rice cultivar. **Journal of Crop Breeding** 4 (9): 14-26. (In Persian).

- Nematzadeh, Gh. A., Talebie, R., Khodarahmpour, Z. and Kiani, Gh. 2003.** Study of genetic and geographical variation in rice (*Oryza sativa* L.) using physiological and agronomical traits. **Iranian Journal of Crop Sciences** 5 (3): 225-234. (In Persian).
- Padma, A. and Raddy, G. M. 1977.** Genetic behavior of five induced dwarf mutation in an Indica rice cultivar. **Crop Science** 17: 860-863.
- Shehata, S. M., Abd-Allah A. A. and Zayed, B.A. 2009.** Development of salt tolerant rice lines through mutation breeding. **Journal of Agriculture Kafrelsheikh University** 35 (4): 954-963.
- Stoskof, C. N., Tomes, T. and Christie, B. R. 1997.** Plant breeding theory and practice. West View Prees. Boulder, SAN Francisco, Oxford. pp: 373-393.
- Theerawitaya, C., Triwitayakorn, K., Kirdmanee, C., Smith, D. R. and Supaibulwatana, K. 2011.** Genetic variations associated with salt tolerance detected in mutants of KDML105 (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) rice. **Australian Journal of Crop Science** 5 (11): 1475-1480.
- Till, B. J., Cooper, J., Tai, T. H., Colowit, P., Greene, E. A., Henikoff, S. and Comai, L. 2007.** Discovery of chemically induced mutations in rice by TILLING. **BMC Plant Biology** 7: 19.
- Wattoo, 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.
- Yilmaz, A. and Boydak, E. 2006.** The effect of cobalt-60 application on yield and yield components of cotton (*Gossypium barbadense* L.). **Pakistan Journal of Biological Sciences** 9 (15): 2761-2769.

Evaluation of morphological variation in rice varieties induced by chemical mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS)

Mohammad Siyah Chehreh¹, Ghaffar Kiani^{2*} and Seyyed Kamal Kazemitabar³

1, 2 and 3. M. Sc. Student, Assist. Prof. and Assoc. Prof., respectively, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Sari University of Agricultural Science and Natural Resources, Iran

(Received: March 19, 2014- Accepted: December 15, 2014)

Abstract

Mutation has been accepted as a useful tool in plant breeding programs to provide inheritable variability for selection. In this research, the effect of chemical mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS) at three levels, 0.17%, 0.35% and 0.51% was studied to create the variation on morphological characteristics of Tarom Mahali, Sange Tarom and Tarom Hashemi varieties. The M₁ generation was examined using a factorial experiment based on randomized complete block design with three replications and the agronomic traits including plant height, number of tiller, panicle length, number of filled and unfilled grains per panicle, number of total grains per panicle, grain width and length and 100 grain weight were measured. Analysis of variance showed that the interaction effect of cultivar×EMS concentration was significant for total number of grains per panicle, number of unfilled grains per panicle and grain length at 5% probability level and for filled grains per panicle and 100 grain weight at 1% probability level. The effect of variety was significant for plant height and 100 grain weight at 1% and for panicle length at 5% probability level, while the EMS concentration was significant for the number of tiller, total number of grains and number of filled and unfilled grains per panicle at 5% probability level. Results of the comparison of means indicated that the application of EMS lead to increase in grain length, number of grains per panicle and 100 grain weight and decrease in plant height in rice varieties. Generally, results of current research showed that the EMS had considerable and significant effect on the 100 grains weight and plant height of rice varieties in M₁ generation. Thus, EMS as the mutagens can be utilized for increasing of the variation and genetic improvement in breeding programs.

Keywords: Ethyl-Methane-Sulfonate (EMS), M₁ generation, Mutation, Rice (*Oryza sativa* L.)

*Corresponding author: ghkiani@gmail.com