دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

تحقیقات غلات

دوره هشتم/ شماره اول/ بهار ۱۳۹۷ (۱۲۶-۱۱۱)

بررسی کارایی صفات کمی مرفولوژیک و فنولوژیک ذرت (*Zea mays* L.) در تهیه دستورالعمل ملی آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری (DUS)

محمدرضا جزایری نوش‌آبادی[۱و۵]، جعفر اصغری[۲*]، حبیب‌الله سمیع‌زاده لاهیجی[۳] و آیدین حمیدی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۲۸

چکیده

انتخاب صفات کمی، دسته‌بندی دامنه تظاهر آن‌ها و تعیین ارقام شاهد برای مقایسه، از اصلی‌ترین نکات تهیه دستورالعمل‌های تمایز، یکنواختی و پایداری (DUS) است، به‌نحوی که بر اساس این صفات بتوان سه شرط تمایز، یکنواختی و پایداری یک رقم جدید را بررسی کرد. به‌منظور تهیه دستورالعمل ملی آزمون‌های DUS ارقام ذرت، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و ۲۸ رقم و لاین در موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج طی دو سال زراعی ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ اجرا شد. ۴۹ صفت کمی و کیفی مرفولوژیک و فنولوژیک پیشنهادی اتحادیه بین‌المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی (UPOV)، دفتر ارقام گیاهی اتحادیه اروپا (CPVO)، کشورهای هند (PPV & FRA) و فیلیپین (PVPO) انتخاب و ارزیابی شد. سپس ده صفت کمی بر اساس محاسبه یکنواختی درون رقم با استفاده از مقادیر ضریب تغییرات، همبستگی بین صفات، وراثت‌پذیری، پایداری صفات طی دو سال و تجزیه به مولفه‌های اصلی، به‌عنوان صفات کمی دستورالعمل ملی انتخاب شدند. دامنه تظاهر ده صفت منتخب، بر اساس آمار توصیفی و توزیع فراوانی ارقام، به حالت‌های مختلف تقسیم شد. صفت ارتفاع بوته با داشتن دو نقطه بیشینه در نمودار توزیع فراوانی ارقام، به‌عنوان صفت گروه‌بندی‌کننده دسته‌بندی شد، در حالی‌که نه صفت کمی دیگر فقط یک نقطه بیشینه داشتند و به‌عنوان صفات استاندارد انتخاب شدند. در نهایت با استفاده از نمودار جعبه‌ای، هیبرید سینگل‌کراس ۷۰۴ و دو لاین مادری فجر و مبین، به‌عنوان ارقام شاهد برای صفت ارتفاع بوته تعیین شدند. استفاده از این روش به‌عنوان یک روش مفید به‌منظور تهیه دستورالعمل DUS برای جنس‌های گیاهی دیگر نیز پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع بوته، تجزیه به مولفه‌های اصلی، دیسکریپتور، ضریب تغییرات، هیبرید سینگل‌کراس ۷۰۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳- استاد، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۴- دانشیار پژوهش، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۵- مربی پژوهش، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
* نویسنده مسئول: jafasghr@guilan.ac.ir

مقدمه

حق به‌نژادگر گیاهی (PBR) یا حمایت از رقم گیاهی (PVP) به‌عنوان یکی از شاخه‌های حق مالکیت معنوی، در سراسر جهان توجه خاصی را به خود جلب کرده است (Jördens, 2005; Le Buanec, 2006; Tripp *et al.*, 2007). حق به‌نژادگر تنها زمانی به فرد اعطا می‌شود که رقم جدید گیاهی سه شرط فنی تمایز، یکنواختی و پایداری (DUS) را دارا باشد (Higgins and Evans, 1984; Borys *et al.*, 2000, Fleck and Baldock, 2003). طبق تعریف اتحادیه بین‌المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی (UPOV)، رقم به "گروهی از گیاهان که در پایین‌ترین رده شناخته‌شده گیاه‌شناسی قرار دارند" گفته می‌شود. این گروه از گیاهان با تظاهر صفاتی که در یک ژنوتیپ معین بروز می‌کند، مشخص می‌شوند و باید حداقل در تظاهر یکی از صفات از دیگر گروه‌های گیاهی، قابل تمایز باشند و این صفات در فرایند تکثیر رقم تغییر نکند (UPOV, 1991).

دستورالعمل آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری، یک راهنمای فنی استاندارد برای انجام آزمون‌های DUS در گونه‌های مختلف گیاهی است (Borys *et al.*, 2000, Liang *et al.*, 2008). با استفاده از صفات موجود در دستورالعمل باید بتوان سه الزام فنی تمایز، یکنواختی و پایداری را در مجموعه ارقام ارزیابی نمود (UPOV, 2002). با استفاده از این صفات برای هر رقم یک دیسکریپتور (descriptor) تهیه می‌شود. دیسکریپتور توصیف کننده ویژه‌گیهای رقم از جمله فرم، ساختار یا رفتار و تعیین‌کننده ویژگی‌های متمایز کننده رقم بوده و برای حمایت از آن استفاده می‌شود (Begum and Kumar, 2011).

محتوای اصلی دستورالعمل آزمون‌های DUS در گونه‌های مختلف، شامل سه گروه صفات کیفی، شبه کیفی و کمی است. صفات کمی صفاتی هستند که تظاهر آن‌ها را می‌توان به‌صورت خطی پیوسته یا گسسته اندازه‌گیری کرد. دامنه تظاهر هر صفت کمی را می‌توان به‌صورت عدد یا حالت تقسیم کرد. از آنجا که صفات کمی اغلب توارث چندژنی دارند و تظاهر این صفات با درجات مختلف نتیجه اثر متقابل ژنوتیپ و محیط است، بنابراین برای ارزیابی و تعیین حالت تظاهر بسیاری از صفات کمی، نیاز به ارقام شاهد یا مثال می‌باشد (Furones-Pérez and Fernández-López, 2009). بهترین راه برای تعیین مطابقت دستورالعمل با الزامات ذکر شده، بررسی صفات مورد نظر در آزمایش‌های مزرعه‌ای با ارقام مختلف و تحت شرایط رشدی یکسان و تجزیه و تحلیل متغیرها می‌باشد تا اجزای متغیرهای ژنتیکی و محیطی برآورد و اعتبار آن‌ها به‌عنوان دیسکریپتور برای مجموعه ارقام مورد مطالعه مشخص شود. ارزش یک دیسکریپتور در تمایز یک مجموعه ارقام از میزان وراثت‌پذیری صفات آن برآورد می‌شود (DeWitt and Scheiner, 2004). صفات مورد استفاده در دستورالعمل آزمون‌های DUS به دو دسته "صفات گروه‌بندی کننده" و "صفات استاندارد" طبقه‌بندی می‌شوند. با استفاده از صفات گروه‌بندی می‌توان تمام ارقام مورد بررسی را به گروه‌هایی جداگانه تقسیم کرد. صفات گروه‌بندی کننده عموماً شامل صفات کیفی هستند و صفات کمی به‌ندرت در این گروه قرار می‌گیرند، زیرا تظاهر آن‌ها به‌صورت پیوسته است و عموماً هیچ مرز مشخصی برای گروه‌بندی ارقام ندارند (UPOV, 2002; UPOV, 2004).

مشکل اصلی در تهیه دستورالعمل آزمون‌های DUS انتخاب نامناسب صفات، دسته‌بندی دامنه تظاهر صفات و نیز انتخاب ارقام شاهد است. این اصول برای صفات کمی که درجات تظاهر بسیار مختلفی دارند از اهمیت بیشتری برخوردار است. با توجه به ویژگی‌های صفات کمی، پژوهش باید با ارقام مناسب، تعداد نمونه کافی و روش‌های آماری مبتنی بر تجزیه و تحلیل صفات کمی انجام شود. با این حال، تحقیقات کمی در مورد چگونگی استفاده از روش‌های خاص برای انتخاب صفات کمی و یا ارقام شاهد و نیز طبقه‌بندی صفات انجام شده است و عمدتاً به اصول اولیه پرداخته‌اند (Liang *et al.*, 2008). به‌همین دلیل صفات مورد ارزیابی در دستورالعمل آزمون‌های DUS کشورهای مختلف دارای تفاوت‌هایی هستند. برای مثال، دستورالعمل آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری ذرت اتحادیه بین‌المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی (UPOV, 2009) شامل ۴۱ صفت، دستورالعمل آزمون‌های DUS دفتر ارقام گیاهی اتحادیه اروپا (CPVO, 2010) شامل ۳۹ صفت، دستورالعمل مرجع حمایت از ارقام گیاهی و حقوق کشاورزان هند (PPV and FRA , 2007) شامل ۳۱ صفت و دستورالعمل دفتر حمایت از ارقام گیاهی فیلیپین (PVPO, 2014) شامل ۴۱ صفت است و در انتخاب صفات مورد ارزیابی متفاوت هستند. با توجه به این دلایل، اتحادیه بین‌المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی، دستورالعمل‌های موجود خود را هر چند سال بازنگری و ویرایش می‌کند.

بای شان و همکاران (Bai-shan *et al.*, 2010.)، جهت بررسی تنوع فنوتیپی ۱۵ اینبرد لاین ذرت معمولی و ۱۳ اینبرد لاین ذرت مومی از ۴۷ صفت آزمون DUS استفاده کردند. نتایج نشان داد که اینبردهای معمولی تنوع فنوتیپی بیش‌تری نسبت به اینبردهای مومی داشتند. آن‌ها اظهار کردند که صفات مورد ارزیابی در آزمون DUS به‌دلیل اینکه شامل اطلاعات گسترده‌ای هستند و کم‌تر تحت تاثیر محیط قرار می‌گیرند، در ارزیابی تنوع فنوتیپی بسیار مفید هستند. یاداف و سینگ (Yadav and Singh, 2010) ۴۱ اینبرد لاین ذرت را با استفاده از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک آزمون‌های DUS و نیز نشانگرهای مولکولی مورد ارزیابی قرار دادند. کم‌ترین و بیش‌ترین فاصله ژنتیکی بین اینبرد لاین‌ها بر اساس صفات مورفولوژیک به‌ترتیب ۱/۶ و ۱۰/۸ و بر اساس صفات فیزیولوژیک به‌ترتیب ۰/۳۵ تا ۱/۹۲ بود. در مطالعه دیگری گونجاکا و همکاران (Gunjaca *et al.*, 2010) با استفاده از ۳۲ صفت مورد ارزیابی در آزمون DUS و نیز ۲۸ نشانگر ریزماهواره، ضمن مقایسه کارایی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره، ۴۱ اینبرد لاین ذرت را از هم متمایز کردند. بابیک و همکاران (Babic *et al.*, 2010) نیز با هدف تشخیص گروه‌های هموژن توسط ارتباطات خویشاوندی و تطابق نتایج به‌دست آمده با شجره اینبردها، ۱۴ رقم ذرت شیرین را با استفاده از ۵۶ صفت فنوتیپی بر اساس دسکریپتور UPOV مورد مطالعه قرار دادند. فاصله فنوتیپی به‌دست آمده بین ارقام دامنه‌ای از ۵۳ تا ۳۵۴ داشت و گروه‌بندی به‌دست آمده تطابق زیادی با شجره ارقام نشان داد. آن‌ها اظهار داشتند که فاصله فنوتیپی به‌دست آمده بر اساس صفات مورد ارزیابی در آزمون‌های DUS، شاخص قابل توجه هتروزیس است. واربورتون و همکاران (Warburton *et al.*, 2010) برای شناسایی جمعیت‌های آزاد گرده‌افشان ذرت کشت‌شده در آفریقا از ۳۵ صفت مورد ارزیابی در آزمون‌های DUS استفاده کردند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که ارقام مطالعه شده در صفات زمان ظهور کاکل (۵۰ درصد بوته‌ها)، حالت قرار گرفتن شاخه‌های جانبی در سومین شاخه پایینی گل تاجی، زمان گرده‌افشانی و ارتفاع بوته تا برگ پرچم متفاوت بود.

طبق قانون ثبت ارقام گیاهی ایران، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال به‌عنوان تنها مرجع ملی ثبت و حمایت از ارقام جدید گیاهی است و موظف است برای گونه‌های مختلف گیاهی دستورالعمل ملی آزمون‌های DUS را تهیه و منتشر کند (SPCRI, 2009) . ذرت (*Zea mays* L.) نیز به‌عنوان یکی از گونه‌های گیاهی مهم و استراتژیک در کشور نیاز به تهیه دستورالعمل ملی آزمون‌های DUS دارد. هدف از این تحقیق نیز انتخاب صفات کمی مناسب، تقسیم‌بندی دامنه تظاهر صفات، طبقه‌بندی این صفات به‌عنوان صفات گروه‌بندی کننده یا استاندارد و تعیین ارقام شاهد در دستورالعمل ملی آزمون‌های DUS ارقام ذرت بود که با کمک تجزیه و تحلیل‌های آماری بر اساس اصول کلی اتحادیه بین‌المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی (UPOV, 2002; UPOV, 2004) به‌منظور ارایه راهکارهای عملی برای تهیه و یا بهبود دستورالعمل آزمون‌های DUS در گیاهان دیگر انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۱۲ رقم هیبرید و ۱۶ لاین والدینی ذرت در اول خرداد سال ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کرج با مختصات جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی و ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی با میانگین ارتفاع ۱۳۲۱ متر از سطح دریا مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱). پس از تهیه بستر بذر، از کودهای فسفات آمونیوم و سولفات پتاسیم و اوره بر مبنای آزمون خاک و توصیه موسسه تحقیقات آب و خاک کشور استفاده شد. کل کود فسفاته و نیمی از کود اوره در زمان کاشت و نیمی دیگر از اوره در زمان هفت برگی شدن ذرت به‌صورت سرک مصرف شد. سپس خطوط کاشت به فاصله ۷۵ سانتی‌متر ایجاد و کاشت بذر به‌صورت دستی طبق نقشه آزمایش در قالب بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. هر کرت شامل چهار ردیف شش متری بود و فاصله بین بوته‌ها ۱۸ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

ارقام مورد مطالعه از گروه رسیدگی ۲۰۰ تا ۸۰۰ انتخاب شدند تا دامنه وسیعی از تظاهر صفات مختلف کمی را پوشش دهند (جدول ۱). در این پژوهش ۴۹ صفت شامل ۲۹ صفت کیفی و شبه کیفی و ۲۰ صفت کمی که توسط اتحادیه بین المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی (UPOV, 2009)، دفتر ارقام گیاهی اتحادیه اروپا (CPVO, 2010)، مرجع حمایت از ارقام گیاهی و حقوق کشاورزان هند (PPV and FRA , 2007) و دفتر حمایت از ارقام گیاهی فیلیپین (PVPO, 2014) به‌عنوان دو کشور غیر عضو UPOV پیشنهاد شده است، مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت. نام صفات کمی به‌همراه جزییات و مرحله ارزیابی در

جدول ۲ ارایه شده است. به‌منظور ارزیابی صفات مرفولوژیک پنج بوته از دو ردیف وسط در هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب و صفات کمی روی بوته یا بلال اندازه‌گیری شدند. در پایان هر سال آزمایش، ابتدا تجزیه واریـانس ساده برای ۲۰ صفت کمی انجـام شد و سپس تجزیـه واریانس مرکب داده‌هـا با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS, 2009) باتوجه به آزمون بارتلت و اطمینان از یکنواختی واریانس‌های خطا صورت گرفت. آزمون F با استفاده از امید ریاضی میانگین مربعات (جدول ۳) و با فرض ثابت بودن اثر ژنوتیپ و تصادفی بودن اثر سال انجام شد. به‌منظور تمایز ارقامی که با استفاده از صفات کیفی از یکدیگر تفکیک نشدند، از صفات کمی و با انجام تجزیه واریانس و مقایسه میانگین بین صفات کمی با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و با استفاده از برنامه‌های ANAL9 و DUST9 نرم‌افزار آماری DUST که خاص آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری است، انجام شد (Watson *et al.*, 1998).

تجزیه به مولفه‌های اصلی نیز بر مبنای ۲۰ صفت کمی منتخب با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16.2.0 انجام شد و مولفه‌های اصلی با مقادیر ویژه بالاتر از یک جهت تحلیل انتخاب شدند. با رسم نمودار بای‌پلات بر اساس دو مولفه اول، ارتباط بین صفات و سهم هر صفت در هر مولفه مورد بررسی قرار گرفت. میزان وراثت‌پذیری عمومی صفات نیز با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد (Falconer, 1989):

$$H^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \frac{\sigma_{ge}^2}{n} + \frac{\sigma_e^2}{ne}} \qquad (۱)$$

در این رابطه، H^2 میزان وراثت‌پذیری عمومی، σ_g^2 تخمین واریانس ژتیکی، σ_{ge}^2 واریانس ژنتیکی ناشی از اثر متقابل ژنوتیپ و محیط (سال)، σ_e^2 واریانس خطای آزمایش، n تعداد سال و r تعداد تکرار در هر سال است.

نتایج و بحث

انتخاب صفات کمی با کارایی بالا در تمایز ارقام

در یک گیاه کاملا توسعه یافته ذرت، صفات کمی زیادی جهت ارزیابی و اندازه‌گیری وجود دارد. ولی نکته بسیار مهم در انتخاب صفات مورد استفاده در دستورالعمل DUS، این است که تظاهر این صفات در یک محیط خاص، باید با ثبات و قابل تکرار باشد (UPOV, 2002; UPOV, 2004). بنابراین، برای انتخاب صفات کمی، یکنواختی و پایداری تظاهر هر صفت باید در نظر گرفته شود. گروه‌بندی ژرم پلاسم‌های ذرت بر اساس صفات مورفولوژیک توسط محققان مختلف دنیا انجام گرفته است. در این مطالعات ژرم پلاسم‌های موجود بر اساس صفات عمومی مثل شکل ظاهری بلال، تیپ و رنگ دانه، شکل ظاهری بوته و غیره بر اساس یک یا دو روش چندمتغیره به گروه‌های مختلفی تقسیم شده‌اند (Crossa *et al.*, 1995; Goodman and Bird, 1997). در این مطالعه داده‌های حاصل از ۲۰ صفت کمی منتخب اندازه‌گیری شده در سال ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ تجزیه و تحلیل شدند.

جدول ۱- نام ارقام و لاین‌های مورد استفاده

Table 1. Name of used varieties and lines

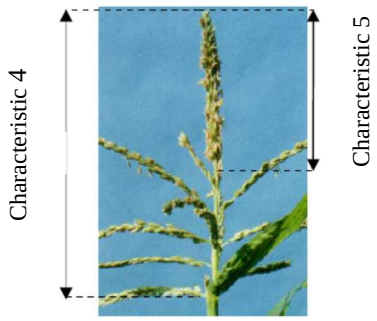
No. of variety	Name of hybrid or variety	Pedigree	FAO group
1	KSC 260	K1264/5-1×K615/1	200
2	KSC 400	KE 72012× KE 1263/1	400
3	KSC 703	K47/2-2-1-3-3-1-1-1× MO17	700
4	KSC 704	B73 × MO17	700
5	KSC 705	K364 × MO17	700
6	KSC 706	K3547 × MO17	700
7	Karoon 701	SLD45/1/2-1/1× MO17	700
8	Mobin	SLD45/1/2-1× SLH/2/29/14/2-4	600
9	Brekat3	BTS-41×BL-25	600
10	Safal X-1	SFX 161 × SFX 163	500
11	Etenia	-	800
12	Dominate	-	600

جدول ۲- مقیاس و مرحله اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه در این تحقیق

Table 2. Measurement stage and unit of the characteristics studied in this research

Character number	Character	Unit	Measurement stage *	Refrence
1	Tassel: Time of anthesis	Day	Anthers have emerged on 50% of plants in the middle third of the main branch	UPOV, 2009 CPVO, 2010
2	Tassel: Number of primary lateral branches	Number	From mid-pollination to mid-milking	UPOV, 2009 CPVO, 2010
3	Ear: Time of silk emergence	Day	Silks have emerged on 50% of plants	UPOV, 2009 CPVO, 2010
4	Tassel: Length of main axis above the lowest lateral branch	cm	From watery ripe caryopsis to mid-milking (Figure 1)	UPOV, 2009 CPVO, 2010
5	Tassel: Length of main axis above the highest lateral branch	cm	From watery ripe caryopsis to mid-milking (Figure 1)	UPOV, 2009 CPVO, 2010
6	Tassel: Length of second lateral branch	cm	From watery ripe caryopsis to mid-milking	UPOV, 2009 CPVO, 2010
7	Plant: Height	cm	From mid-milking to soft dough	UPOV, 2009 CPVO, 2010
8	Plant: Upper ear height to plant height ratio	-	From mid-milking to soft dough	UPOV, 2009 CPVO, 2010
9	Leaf: Blade width (upper ear)	cm	From mid-milking to soft dough	UPOV, 2009 CPVO, 2010
10	Peduncle: Length (upper ear)	cm	From mid-milking to soft dough	UPOV, 2009 CPVO, 2010
11	Ear: Length (without pods)	cm	Ripening	UPOV, 2009 CPVO, 2010
12	Ear: Diameter (in middle)	mm	Ripening	UPOV, 2009 CPVO, 2010
13	Ear: Number of kernel rows	Number	Ripening	UPOV, 2009 CPVO, 2010
14	Ear: Number of kernel per row	Number	Ripening	PPV & FRA, 2007
15	Tassel: Length of lowest lateral branch	cm	From watery ripe caryopsis to mid-milking	PVPO, 2014
16	Ear: Number of husk leaves	cm	Ripening	PVPO, 2014
17	Ear: Length of husk leaf	cm	Ripening	PVPO, 2014
18	Ear: Width of husk leaf	cm	Ripening	PVPO, 2014
19	Ear: Length of unfilled tip	mm	Ripening	PVPO, 2014
20	Kernel: 1000 kernel weight	g	Ripening	PPV & FRA, 2007

*: Zadoks *et al.*, 1974



شکل ۱- نحوه اندازه‌گیری صفات ۴ و ۵ ارایه شده در جدول ۲

Figure 1. Method of measuring the characteristics number 4 and 5 in the Table 2

نتایج تجزیه واریانس مرکب تمامی صفات مورد مطالعه در جدول ۳ ارایه شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، بین سال‌های مورد آزمایش از نظر صفات شماره ۱۲ و ۱۹ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد و در صفات شماره ۲، ۳، ۱۴، ۱۸ و ۲۰ اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. معنی‌دار نشدن اثر سال در سایر صفات بیانگر این است که ژنوتیپ‌ها در سال‌های مختلف از لحاظ آن صفات تفاوتی ندارند و معیاری از پایداری آن صفات محسوب می‌شود. اثر رقم برای کلیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود که نشان‌دهنده تنوع قابل توجه ارقام و لاین‌های انتخابی است. چوگان و همکاران (Choqan *et al.*, 2006) در مطالعه‌ای به‌منظور گروه‌بندی ۵۲ لاین ذرت از نظر ۲۶ صفت مورفولوژیک اعلام کردند که اختلاف بین ارقام از نظر صفات تعداد گره بالاتر و پایین‌تر از بلال اصلی، ضخامت دانه، سطح برگ بلال، نسبت ضخامت به عرض دانه، نسبت طول به عرض برگ بلال و برگ پرچم معنی‌دار نبود. برهمکنش رقم و سال فقط برای صفت شماره ۲ (تعداد شاخه‌های جانبی اولیه گل‌تاجی)، ۵ (طول محور اصلی از بالای بالاترین شاخه جانبی گل‌تاجی) و ۶ (طول دومین شاخه جانبی گل‌تاجی از پایین) معنی‌دار نبود و برای بقیه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد که نشانه واکنش متفاوت ارقام در سال‌های مختلف است، به‌عبارت دیگر ارقام و لاین‌ها از منابع مختلف ژنتیکی منشاء گرفتند و نسبت به تغییر محیط رفتار یکسانی ندارند.

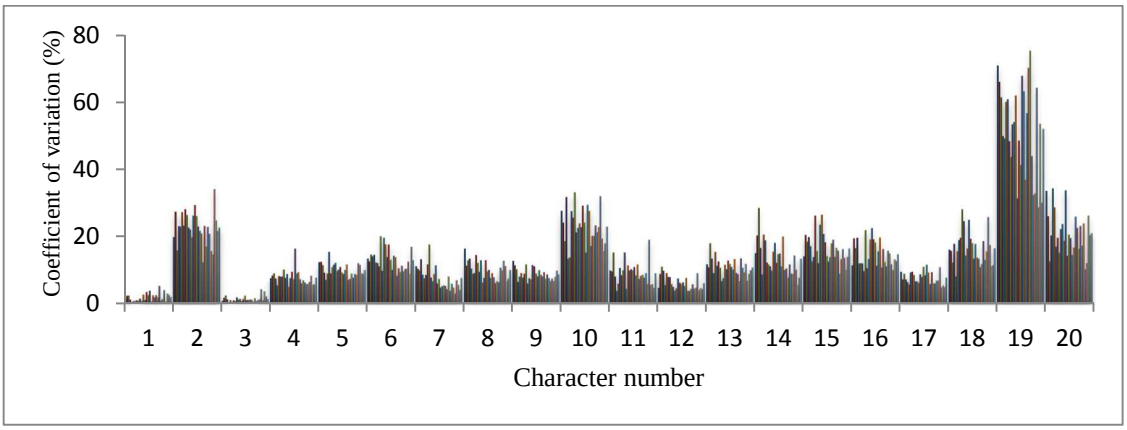
به منظور ارزیابی یکنواختی تظاهر کلیه صفات، ضریب تغییرات (CV) هر صفت درون هر رقم در دو سال محاسبه و تجزیه و تحلیل شد. شکل ۲ نشان می‌دهد که طول قسمت پر نشده نوک بلال بیشترین تنوع معنی‌دار را، با CV متوسط ۵۲ درصد داراست. این بدان معناست که این صفت در طول دو دوره رشد در داخل یک رقم با تنوع زیادی که نشان داد یکنواخت نیست و نمی‌تواند معیار یکنواختی رقم قرار بگیرد. بارناباس و همکاران (Barnabás *et al.*, 2008) و تامیسون (Thomison, 2007) دلیل عدم پرشدن نوک بلال را علاوه بر اثرات ژنتیک، تحت تاثیر تنش‌های محیطی از جمله تنش خشکی، دمای بالا، مصرف علف‌کش‌ها و کمبود فسفر و نیز تغذیه حشرات می‌دانند. به‌همین دلیل این صفت از مجموعه ۲۰ صفت پیشنهادی کنار گذاشته شد. در مقابل صفات فنولوژیک زمان گرده افشانی و خروج کاکل از بلال به ترتیب با ضریب تغییرات ۲ و ۱/۴۷ درصد کمترین تنوع را دارا بودند (شکل ۲ و جدول ۴) که نشان دهنده یکنواختی صفت مورد ارزیابی در داخل یک رقم یا لاین است.

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب ۲۰ صفت مورد ارزیابی طی دو سال (۹۴-۱۳۹۳)

Table 3. Combined analysis of variance for 20 studied characteristics in two years (2014-15)

Source of variations	df	Mean squares									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Year	1	74.66	12.30*	25.90*	0.01	0.19	1.30	8379	0.001	2.34	6.38
Block (year)	4	7.18**	1.67	2.64*	1.96	5.45*	2.44	400.6**	0.001	0.20	6.25
Variety	27	126**	73.30**	160**	165**	109**	81.20**	11121**	0.02**	3.07**	42.40**
Variety × year	27	4.82**	2.28	3.50**	4.70**	2.60	2.70	374.70*	0.001*	0.56**	8.60**
Error	108	1.49	2.17	0.80	1.99	1.69	2.19	83.26	0.0007	0.19	3.17
CV (%)	-	1.20	1.47	0.89	1.41	1.30	1.48	9.12	0.03	0.44	1.78
Source of variations	df	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Year	1	0.23	146.2**	14.1	152.2*	24.3	1.95	1.49	38.9*	12.80**	16245*
Block (year)	4	0.15	3.80	0.77	8.80	4.30	0.90	1.85	2.75	0.51	65.70
Variety	27	48.10**	98.5**	33.6**	253**	77.6**	15.2**	31.80**	38.3**	3.40**	6641**
Variety × year	27	3.60**	11.60**	3.40**	18.40**	7.70**	1.70**	8.90**	4.60*	0.74**	2399**
Error	108	1.21	3.96	0.93	8.90	2.43	0.76	2.34	2.44	1.14	470
CV (%)	-	1.10	1.99	0.96	2.98	1.56	0.87	1.53	1.56	0.52	21.70

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively. The number of traits are presented in Table 2.



شکل ۲- ضریب تغییرات ۲۰ صفت کمی در ارقام ذرت مورد مطالعه. شماره صفات در جدول ۲ ارایه شده است.

Figure 2. Coefficient of variation of the 20 quantitative characteristics in the studied maize cultivars. The number of traits are presented in Table 2.

نتایج نشان داد که تفاوت قطر قسمت میانی بلال، تعداد دانه در ردیف بلال، عرض برگ غلاف بلال، طول قسمت پرنشده نوک بلال و وزن هزار دانه در دو سال مورد مطالعه به‌ترتیب در سطح احتمال ۰/۰۰۱، ۰/۰۰۷، ۰/۰۰۷، ۰/۰۰۰۱ و ۰/۰۰۷ بسیار معنی‌دار بود. تفاوت تعداد شاخه‌های جانبی گل‌تاجی و عرض پهنک برگ بالای بلال نیز در دو سال زراعی در سطح احتمال ۰/۰۴ معنی‌دار بود. همان‌طور که قبلاً نیز ذکر شد، اثر سال این صفات در تجزیه مرکب نیز معنی‌دار بود. تفاوت معنی‌دار این هفت صفت در دو سال مورد مطالعه نشان می‌دهد که این صفات پایداری لازم را در دو دوره رشد مجزا ندارند و نمی‌توانند به‌عنوان صفات شاخص پایداری یک رقم در دستورالعمل آزمون‌های DUS قرار گیرند و بنابراین از مجموعه ۲۰ صفت انتخابی حذف شدند.

در آزمون تمایز بین دو رقم، نوع صفت مورد بررسی (کیفی، شبه‌کیفی و کمی) اهمیت دارد. اگر یک یا چند صفت کیفی در دو رقم حالات تظاهر مختلف نشان دهند، تفاوت بین دو رقم واضح و آشکار در نظر گرفته می‌شود و این دو رقم از یک‌دیگر متمایز می‌شوند، ولی تمایز دو رقم بر اساس یک صفت کمی در صورتی احراز می‌شود که این صفت با دیگر صفات کمی همبسته نباشد (Patterson and Weatherup, 1984; UPOV, 2010). بنابراین، برای تمایز دو رقم بر اساس صفات کمی، حداقل یک صفت غیرهمبسته با حالات تظاهر مختلف مورد نیاز است. بر این اساس، محاسبه همبستگی بین صفات کمی مهم است. همچنین ارزش یک صفت در تمایز یک مجموعه از ارقام از میزان وراثت‌پذیری آن برآورد می‌شود. صفات مورد استفاده برای تعیین مشخصات ارقام باید وراثت‌پذیری بالایی نشان دهند، به‌طوری که بیان آن‌ها نباید زیاد تحت تاثیر شرایط محیطی قرار گیرد و به‌راحتی قابل مشاهده باشند (Furones-Pérez and Fernández-López, 2009). به‌منظور جلوگیری از بروز خطا در تمایز دو رقم بر اساس صفات همبسته، همبستگی صفات کمی مورد مطالعه با استفاده از تجزیه و تحلیل همبستگی و تجزیه به مولفه‌های اصلی (شکل ۳) مورد بررسی قرار گرفت تا یک صفت همبسته بر اساس اندازه‌گیری و ارزیابی راحت‌تر و میزان وراثت‌پذیری بالاتر انتخاب و صفت همبسته دوم حذف شود. نتایج نشان داد که کلیه صفات وراثت‌پذیری عمومی بالا (۰/۶۴) تا بسیار بالایی (۰/۹۸) داشتند (جدول ۴). صفات مورفولوژیک دارای وراثت‌پذیری عمومی بالاتر از ۰/۵ برای گروه‌بندی مناسب هستند (Galarreta and Alvarez, 2001). محاسبه ضرایب همبستگی بین صفات نشان داد که زمان گرده‌افشانی با زمان خروج کاکل همبستگی مثبت و بسیار بالایی (r=۰/۹۶۹**) داشت.

با توجه به اینکه مشاهده زمان گرده‌افشانی گل‌تاجی بسیار ساده‌تر از زمان خروج کاکل در کرت‌های آزمایشی است و دو صفت همبستگی بسیار بالایی با یکدیگر دارند، صفت زمان خروج کاکل از مجموعه صفات خارج شد و نیازی به ارزیابی در ارقام نربارور نیست، ولی در ارقام نرعقیم ژنتیکی یا سیتوپلاسمی با توجه به عدم مشاده بساک‌ها می‌توان از صفت زمان خروج کاکل استفاده کرد. بین طول محور اصلی از بالای پایین‌ترین شاخه جانبی گل‌تاجی با

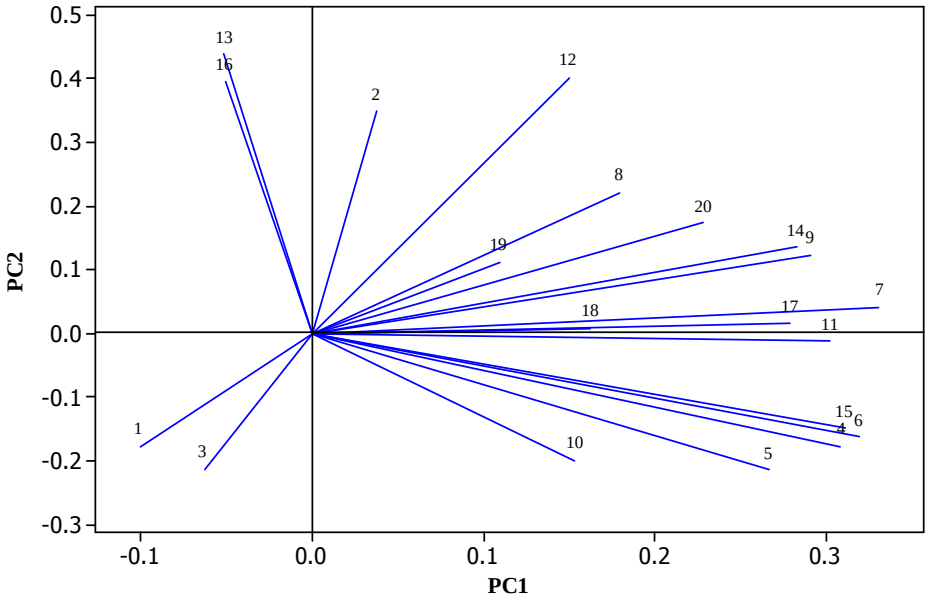
طول محور اصلی از بالای بالاترین شاخه جانبی (شکل ۱) نیز رابطه مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (r=۰/۹۴۱**). همبستگی بسیار بالایی (r=۰/۹۶۷**) بین طول دومین شاخه جانبی گل‌تاجی از پایین با طول پایین‌ترین شاخه جانبی گل‌تاجی نیز وجود داشت. پیدا کردن اولین انشعاب فرعی از پایین در گل‌تاجی به‌دو دلیل مشکل است: اول اینکه در برخی موارد از گره اول محور اصلی چند شاخه با طول‌های مختلف منشعب می‌شود که انتخاب یکی از آن‌ها به‌عنوان پایین‌ترین انشعاب کار مشکلی است، دوم اینکه انشعاب فرعی اول معمولاً در اثر خروج از غلاف آسیب می‌بیند و یا به‌دلیل اینکه به‌عنوان آخرین انشعاب از غلاف خارج می‌شود، رشد ناقص دارد (Fonseca *et al.*, 2003). با توجه به این دلایل و با توجه همبستگی طول محور اصلی گل‌تاجی از بالای بالاترین انشعاب جانبی (صفت شماره ۵) با طول محور اصلی گل‌تاجی از بالای پایین‌ترین انشعاب جانبی (صفت شماره ۴)، صفت شماره ۵ به‌عنوان صفت اصلی در دستورالعمل انتخاب شد (شکل ۱). به‌همین ترتیب و به‌دلیل میزان وراثت‌پذیری بالاتر طول دومین شاخه جانبی گل‌تاجی (صفت شماره ۶) نسبت به طول اولین شاخه جانبی گل‌تاجی از پایین (صفت شماره ۱۵)، صفت ۶ برای درج در دستورالعمل انتخاب و صفت ۱۵ حذف شد.

جدول ۴- آزمون t مشاهدات جفت‌شده، ضریب تغییرات و میزان وراثت‌پذیری ۲۰ صفت کمی ارزیابی‌شده طی دو سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳

Table 3. Paired-samples t-test, coefficient of variation and heritability of the 20 measured quantitative characters in two years, 2014-15

Character number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
P-value	0.394	0.04*	0.47	0.982	0.764	0.482	0.189	0.721	0.041*	0.395
CV (%)	2	22.6	1.47	7.77	10.1	12.97	7.64	10.04	8.77	22.93
Heritability	0.96	0.97	0.98	0.97	0.98	0.97	0.97	0.94	0.82	0.80
Character number	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
P-value	0.829	0.001**	0.078	0.007**	0.083	0.678	0.652	0.007**	0.0001**	0.009**
CV (%)	9.13	6.14	10.85	13.41	16.41	14.75	7.71	16.59	52.1	21.07
heritability	0.92	0.88	0.90	0.93	0.90	0.89	0.72	0.88	0.78	0.64

* and **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively. The number of traits are presented in Table 2.



شکل ۳- بای‌پلات مولفه‌های اصلی اول و دوم جهت گروه‌بندی ۲۰ صفت کمی مورد مطالعه. شماره صفات در جدول ۲ ارایه شده است.

Figure 3. Bi-plot of the first and second principal components for grouping 20 studied quantitative characteristics. The number of traits are presented in Table 2.

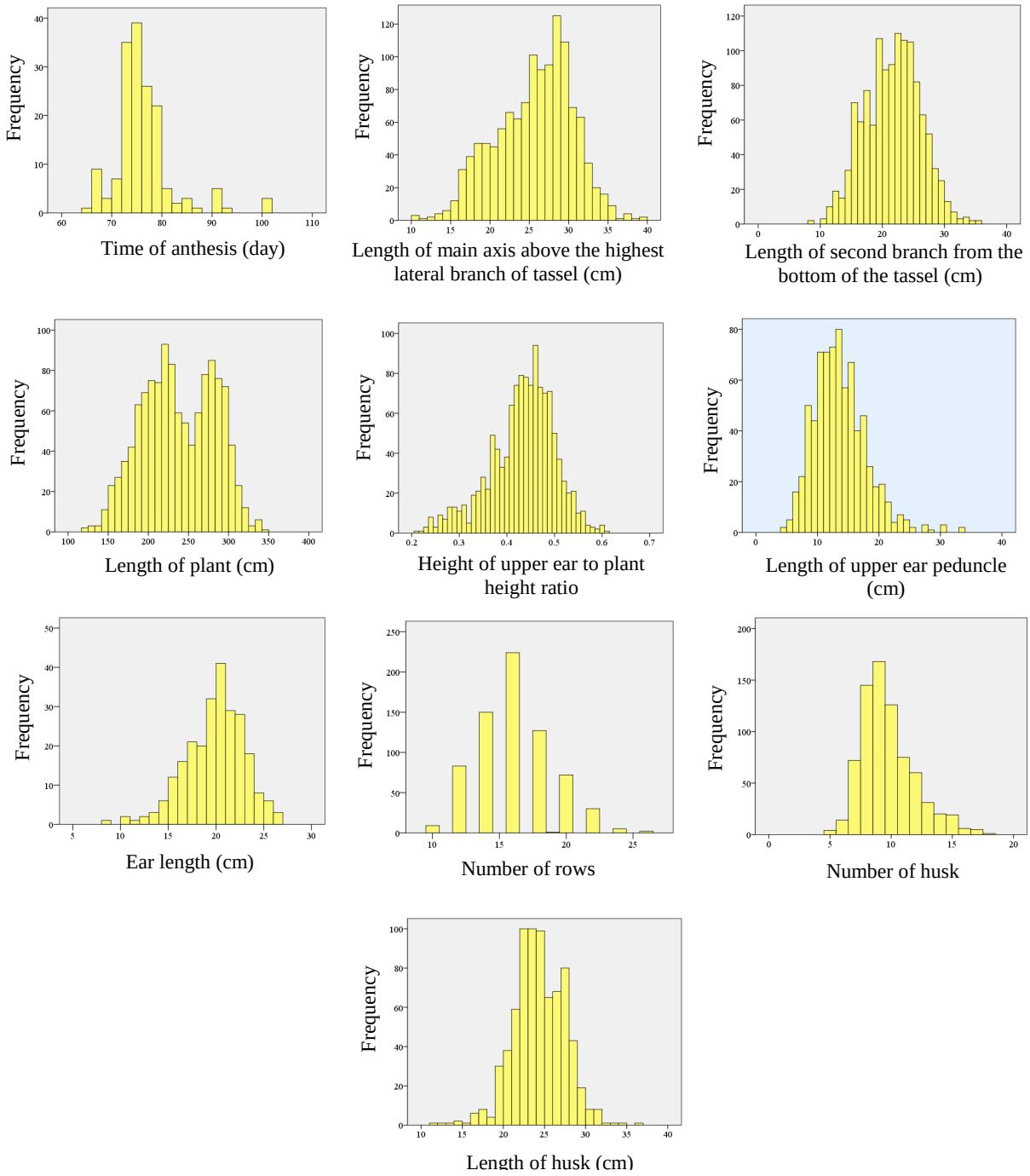
در تجزیه به مولفه‌های اصلی با داده‌های استانداردشده، پنج مولفه دارای مقادیر ویژه بالاتر از یک بودند و در مجموع ۸۰/۷ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. اولین مولفه که ۳۸/۶ درصد از تغییرات را توجیه کرد، دارای رابطه مثبت با صفات طول محور اصلی از بالای پایین‌ترین شاخه جانبی گل‌تاجی، طول اولین و دومین شاخه جانبی گل‌تاجی از پایین، ارتفاع بوته، طول بلال و غلاف بلال و دانه در ردیف بلال بود. این امر نشان می‌دهد که این مولفه ارقام بلند با گل‌های تاجی گسترده را از ارقام کوتاه با گل‌های تاجی فشرده تفکیک می‌کند. بلال‌های طویل با غلاف بلند و تعداد دانه در ردیف زیاد از دیگر مشخصات این مولفه بود. اهمیت تعداد دانه در ردیف بلال در مطالعه لاورادو و گونزالس (Llaurado and Gonzales, 1993) نیز اشاره شده است. مولفه دوم که ۱۸/۳ از تغییرات را توجیه کرد، رابطه مثبتی با تعداد شاخه‌های جانبی گل‌تاجی، قطر بلال، تعداد ردیف‌های دانه و تعداد برگ غلاف بلال داشت، در حالی‌که دارای رابطه منفی با زمان ظهور کاکل بلال، طول محور اصلی از بالای بالاترین شاخه جانبی، نسبت ارتفاع محل قرار گرفتن بالاترین بلال به ارتفاع بوته و طول دم‌گل بالاترین بلال بود. بنابراین، این مولفه ارقامی که سریع‌تر به فاز رویشی می‌روند را از ارقام دیرگل‌ده جدا می‌کند. این مولفه گل‌تاجی با محور اصلی کوتاه و بلال‌های با دم‌گل کوتاه که در نیمه پایینی بوته قرار گرفته‌اند را نیز نشان می‌دهد.

گوسنارد و همکاران (Gouesnard *et al.*, 1997) تعداد انشعابات گل‌تاجی را دارای اهمیت اول در گروه‌بندی مواد مورد مطالعه خود گزارش کردند، در حالی‌که لاورادو و گونزالس (Llaurado and Gonzales, 1993) اهمیت درجه سوم برای این صفت گزارش کردند. این تجزیه اهمیت ارتفاع بوته، اندازه و شکل گل‌تاجی را در تمایز نشان می‌دهد، در حالی‌که اندازه بلال، زمان گلدهی و جایگاه اتصال بلال به بوته در اهمیت بعدی قرار دارد. از طرفی شکل ۳ و پراکنش صفات در بای‌پلات مولفه اول در برابر مولفه دوم همبستگی و ارتباط بین صفات مورد ارزیابی را به وضوح نشان می‌دهد که تاییدی بر حذف صفات همبسته (۱با ۳، ۴ با ۵ و ۶ با ۱۵) است که در قسمت قبل اشاره شد. در نهایت، ده صفت کمی باقی‌مانده برای استفاده در دستورالعمل آزمون‌های DUS ارقام ذرت انتخاب شدند. از این ده صفت کمی، سه صفت مربوط به گل‌تاجی، پنج صفت مربوط به بلال و دو صفت مربوط به بوته است. این صفات کمی منتخب اجازه ارزیابی از هر دو اندام رویشی و زایشی گیاه را در طول فصل رشد می‌دهند. یاداف و سینگ (Yadav and Singh, 2010) به‌منظور بررسی تمایز ۳۰ لاین ذرت از ۱۱ صفت مرفولوژیک کمی و ۱۶ صفت کیفی استفاده کردند. نتایج جفت مقایسات بر اساس کلیه صفات کمی نشان داد که انشعاب گل‌تاجی، ارتفاع بوته، تعداد ردیف دانه، ارتفاع بلال و طول بلال به‌ترتیب بیش‌ترین تاثیر را در تمایز لاین‌ها داشتند.

تقسیم دامنه تظاهر صفات کمی

به‌منظور بررسی کارایی صفات انتخابی در تمایز، یکنواختی و پایداری ارقام، ده صفت کمی انتخاب شده برای آزمون‌های DUS در ۲۸ رقم و لاین ذرت مورد بررسی قرار گرفت. قبل از انجام آزمون‌های DUS در ارقام و تهیه دیسکریپتور بر اساس ده صفت منتخب، ابتدا دامنه تظاهر این صفات به حالات مختلف تقسیم و هر حالت با یک عدد مشخص شد. عموماً، برای صفات کمی مقیاس استاندارد یک تا نه استفاده می‌شود، اما دامنه عددی یک تا پنج نیز قابل قبول است (UPOV, 2002, 2004,). آمار توصیفی این ده صفت کمی در ۲۸ رقم ذرت در جدول ۵ و توزیع فراوانی آن‌ها در حالات تظاهر مختلف در شکل ۴ ارایه شده است.

بر اساس مقادیر بیشینه، کمینه و دامنه (جدول ۵) و توزیع فراوانی (شکل ۴) ، دامنه تظاهر هر صفت کمی به حالات مختلف تقسیم‌بندی شد (جدول ۶). در حالی‌که برای چهار صفت نسبت ارتفاع محل قرار گرفتن بالاترین بلال به ارتفاع بوته، طول بلال بدون غلاف، تعداد ردیف‌های دانه در بلال و تعداد برگ غلاف بلال به‌دلیل دامنه تظاهر کوچک‌تر، مقیاس فشرده شده ۵-۱ مورد استفاده قرار گرفت، برای بقیه صفات مقیاس ۹-۱ استفاده شد. سان و همکاران (Sun *et al.*, 2008) برای تقسیم دامنه صفات کمی ژنوتیپ‌های زردآلو از چهار مقدار (X-۱/۲۸۱۸ S)، (X-۰/۵۲۴۶ S)، (X+۱/۲۸۱۸ S) و (X+۰/۵۲۴۶ S) استفاده کردند که در آن‌ها X میانگین و S انحراف معیار صفت کمی است. روش آن‌ها پراکندگی داده‌ها را نشان می‌دهد، ولی داده‌های کمی را با مقیاس ۵-۱ تقسیم‌بندی می‌کند و قادر نیست داده‌ها را با مقیاس ۹-۱ دسته‌بندی کند. ولی در پژوهش حاضر تا آنجا که امکان‌پذیر و عملی بود، تقسیم‌بندی طوری انجام شد که سرتاسر مقیاس را پوشش دهد (UPOV, 2004).



شکل ۴- هیستوگرام توزیع فراوانی ده صفت کمی مورد مطالعه در ۲۸ رقم و لاین ذرت. شماره صفات در جدول ۲ ارایه شده است.

Figure 4. Frequency distribution of the 10 quantitative characteristics studied in 28 maize varieties and lines. The number of traits are presented in Table 2.

جدول ۵- آمار توصیفی ده صفت کمی انتخاب شده

Table 4. Descriptive statistics of the ten selected quantitative characteristics

Character number*	Rage	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation
1	35	65	100	75.85	5.83
5	29.5	10	39.5	25.34	4.88
6	27.5	8	35.5	21.35	4.46
7	232.2	118.8	350	237.72	44.93
8	0.4	0.21	0.61	0.43	0.067
10	29	4	33	13.28	3.67
11	18.7	8	26.7	13.29	4.28
13	16	10	26	16.14	2.8
16	13	5	18	9.72	2.19
17	24.5	11.5	36	23.97	3.1

*: The number of traits are presented in Table 2.

ارزیابی کارایی صفات کمی منتخب در آزمون DUS

در مرحله بعد، ۱۰ صفت کمی انتخاب شده برای آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری ۲۸ رقم و لاین بر اساس اطلاعات به‌دست آمده در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ مورد بررسی قرار گرفت و نتایج با ۲۰ صفت کمی از پیش انتخاب شده مقایسه شد. داده‌های اندازه‌گیری شده برای کلیه ارقام و هر صفت بر اساس جدول ۶ به کد تظاهر صفت تبدیل شدند. نتایج نشان داد کد تظاهر اختصاص داده شده به طول قسمت پر نشده نوک بلال در داخل هر رقم یکسان نبود و نشان‌دهنده غیریکنواختی این صفت در داخل ارقام است. همچنین بیش از نیمی از ارقام، کد تظاهر متفاوتی برای قطر قسمت میانی بلال، تعداد دانه در ردیف بلال، عرض برگ غلاف بلال، طول قسمت پرنشده نوک بلال، وزن هزار دانه، تعداد شاخه‌های جانبی اولیه گل‌تاجی و عرض پهنک برگ بالای بلال در دو سال مختلف داشتند و نشان داد که این صفات در دو دوره رشد پیاپی پایدار نبودند و این نتایج تاییدی بر تقسیم‌بندی صحیح این صفات بر اساس دامنه تظاهر آن‌ها بود. در مقابل، نتایج حاصل از ده صفت کمی انتخاب شده خروجی بسیار بهتری داشتند. نخست اینکه کد تظاهر هر صفت در داخل هر رقم یکنواخت و در دو سال مختلف پایدار بود. دوم اینکه، نتایج جفت مقایسات دو به دوی موجود بین ۲۸ رقم (۳۷۸ حالت) برای ده صفت کمی (صفات شماره ۱، ۵، ۶، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۶و ۱۷، جدول ۵) نشان داد که به‌وضوح می‌توان ۳۷۵ جفت رقم را از یکدیگر متمایز کرد، به‌طوری‌که حداقل یک صفت کمی بین دو رقم دارای حالات تظاهر مختلف باشند (جدول ۷) و فقط در سه جفت مقایسه (لاین B73 با لاین K364 و لاین پدری دهقان با لاین پدری فجر و Etenia) متمایز نشدند.

جدول ۶- تقسیم‌بندی ده صفت کمی مورد مطالعه بر اساس دامنه تظاهر

Table 5. Grouping the studied ten quantitative characteristics based on their expression ranges

Character number*	Characteristic code								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	≤ 67	68-71	72-75	76-79	80-83	84-87	88-91	92-95	≥ 96
5	≤ 11.9	12-14.9	15-17.9	18-20.9	21-23.9	24-26.9	27-29.9	30-32.8	≥ 33
6	≤9.9	10-12.9	13-15.9	16-18.9	19-20.9	21-22.9	23-25.9	26-28.9	≥29
7	≤ 134.9	135-164.9	165-194.9	195-224.9	225-254.9	255-284.9	285-314.9	315-344.9	≥ 345
8	≤ 0.24	0.25-0.34	0.35-0.44	0.45-0.54	≥ 0.55				
10	≤5.9	6-8.9	9-11.9	12-14.9	15-17.9	18-20.9	21-23.9	24-26.9	≥ 27
11	≤9.9	10-14.9	15-19.9	20-24.9	≥ 25				
13	≤10	12-14	16-18	20-22	≥ 24				
16	≤ 7	8-10	11-13	14-16	≥ 17				
17	≤ 12.9	13-15.9	16-18.9	19-21.9	22-24.9	25-27.9	28-30.9	31-33.9	≥ 34

*: The number of traits are presented in Table 2.

جدول ۷- تعداد جفت ارقام متمایز شده در سطح احتمال ۵ درصد

Table 6. Number of pair cultivars separated at 5% probability level

Characteristic	Number of separated pair cultivars by individual quantitative characters	Number of separated pair cultivars by all quantitative characters	Cumulative number of separated pair cultivars
Length of main axis above the highest lateral branch (5)	278	278	278
Time of anthesis (1)	237	66	344
Length of second branch from the bottom of the tassel (6)	272	18	362
Ratio of height of upper ear to plant length (8)	208	8	370
Length of upper ear peduncle (10)	147	3	373
Number of husk (16)	165	2	375
Plant height (7)	266	-	-
Length of ear (11)	216	-	-
Number of rows of grain (13)	242	-	-
Length of husk (17)	105	-	-

طبیعی است که با استفاده از یک روش نتوان تمامی ارقام را متمایز کرد. برای تمایز چند رقم و لاین باقی‌مانده، صفات کیفی یا شبه کیفی اضافی مورد نیاز است. در این تحقیق، صفات کیفی مختلفی شامل رنگیزه آنتوسیانین موجود در غلاف، ریشه‌های هوایی، بساک، پوشه و پایه پوشه گل‌تاجی، رنگیزه آنتوسیانین و شدت آن در کاکل بلال و چوب بلال، تراکم سنبلچه‌ها، طرز قرار گرفتن شاخه‌های جانبی گل‌تاجی، طرز قرار گرفتن برگ بالای بلال نسبت به ساقه اصلی، غلاف برگ و تیپ دانه و صفات شبه کیفی شامل شکل نوک اولین برگ، شکل بلال، رنگ قسمت شکمی و بالای دانه نیز بررسی و کلیه ارقام و لاین‌ها از یکدیگر متمایز شدند.

طبقه‌بندی کاربردی ده صفت کمی منتخب

نکته قابل توجه در شکل ۳ هیستوگرام صفت ارتفاع بوته بود که دو بیشینه (Peak) در نقاط ۲۲۵ و ۲۸۳ سانتی‌متر داشت. این الگو کاملاً متفاوت از هیستوگرام صفات دیگر بود و نه صفت دیگر فقط یک نقطه بیشینه در هیستوگرام داشتند. به‌طور کلی، بر اساس حجم نمونه، هر بیشینه نشان‌دهنده یک گروه از ارقام است که در کنار هم قرار گرفته‌اند. دو مقدار بیشینه در ارتفاع بوته نشان‌دهنده دو گروه مختلف از ارقام است، زیرا ارتفاع بوته لاین‌های والدینی به‌طور معمول کوتاه‌تر از ارقام هیبرید است. از این‌رو ارتفاع بوته می‌تواند به‌عنوان صفت گروه‌بندی کننده در نظر گرفته شود. این صفت با تقسیم ارقام به گروه‌های مجزا، ارزیابی تمایز را تسهیل می‌کند. نمودار نه صفت دیگر فقط یک نقطه بیشینه داشتند و بنابراین از این صفات می‌توان به‌عنوان صفات استاندارد در دستورالعمل استفاده کرد.

تعیین ارقام شاهد برای صفت ارتفاع بوته

صفات کمی همواره باید با ارقام شاهد مرجع مقایسه و آزمون شوند، زیرا تظاهر آن‌ها ممکن است تحت تاثیر محیط قرار گیرد. در صورتی‌که ارزیابی و مقایسه ارقام در دو مکان متفاوت، فقط با اندازه‌گیری مطلق انجام شود و آثار محیط توسط ارقام شاهد تصحیح نشود، ممکن است باعث گمراهی شود (UPOV, 2002). طبق راهنمای اتحادیه بین‌المللی حمایت از ارقام جدید گیاهی، شرایط زیر برای ارزیابی لازم است: (۱) رقم شاهد باید به‌صورت کاملاً واضح حالت تظاهر صفت را نشان دهد. هر گونه نوسان در حالت تظاهر یک صفت، توصیف رقم را دچار مشکل می‌کند، (۲) برای صفات مورد ارزیابی، مجموعه ارقام شاهد باید دامنه تظاهر را پوشش دهند، به این معنی که برای حالت تظاهر با مقیاس ۹-۱ ارقام شاهد باید حداقل سه حالت از نه حالت تظاهر و برای مقیاس ۵-۱ سه حالت از پنج حالت تظاهر را بیان کنند (UPOV, 2004).

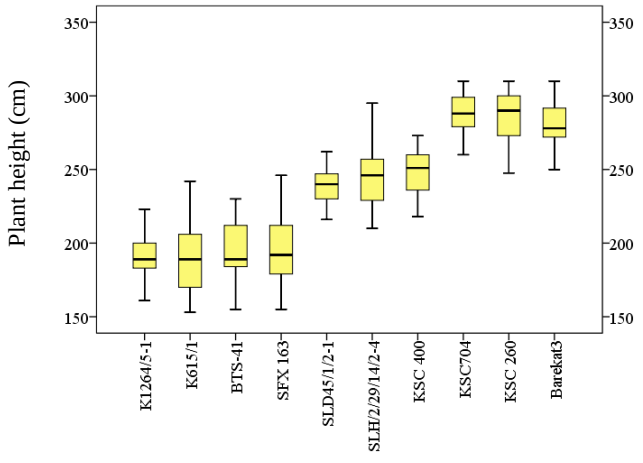
به‌منظور ارزیابی این شرایط در مجموعه ارقام مورد ارزیابی در این پژوهش از نمودار جعبه‌ای برای انتخاب ارقام شاهد در صفت ارتفاع بوته استفاده شد. نمودار جعبه‌ای تصویر کلی بسیار خوبی از ارقام نشان داد. برای ارتفاع بوته با مقیاس ۹-۱، سه حالت تظاهر مورد نیاز است. در اینجا، حالات تظاهر ۳، ۵ و ۷ انتخاب شدند. بر این اساس، سه رقم شاهد مورد نیاز بود. در میان ۲۸ رقم و لاین مورد بررسی، چهار رقم حالت تظاهر ۳ (۱۹۴/۹-۱۶۵ سانتی‌متر)، سه رقم حالت تظاهر ۵ (۲۵۴/۹-۲۲۵ سانتی‌متر) و سه رقم حالت تظاهر ۷ (۳۱۴/۹-۲۸۵ سانتی‌متر) را داشتند (شکل ۵). مستطیل رسم شده در شکل ۵، دامنه ارتفاع بوته هر رقم را نشان می‌دهد، خط افقی که عرض مستطیل را قطع می‌کند، میانه صفت و دو خط عمودی در بالا و پایین هر مستطیل نشان‌دهنده دامنه اندازه‌گیری‌های قابل قبول است. در گروه ارقام با ارتفاع ۱۹۴/۹-۱۶۵ سانتی‌متر، لاین پدری فجر (K615/1) نسبت به سه هم‌گروه خود دارای بیش‌ترین تنوع بود. در مقابل، لاین مادری فجر (K1264/5-1) دارای کم‌ترین تنوع در ارتفاع بوته بود و دو لاین مادری برکت ۳ (BTS-41) و پدری سافال‌اکس (SFX 163) نسبت به لاین مادری فجر دارای چولگی بیش‌تری بودند (میانه‌ها تقریباً از وسط دور هستند). بنابراین لاین مادری فجر به‌عنوان شاهد برای حالت تظاهر ۳ (۱۹۴/۹-۱۶۵ سانتی‌متر) تعیین شد. به‌همین ترتیب، لاین مادری مبین (SLD45/1/2-1) و هیبرید سینگل‌کراس ۷۰۴ نیز به‌عنوان ارقام شاهد به‌ترتیب برای بیان حالت تظاهر ۵ (۲۵۴/۹-۲۲۵سانتی‌متر) و ۷ (۳۱۴/۹-۲۸۵ سانتی‌متر) تعیین شدند.

نتیجه‌گیری کلی

تحقیقاتی که تا به امروز برای تدوین و بهبود دستورالعمل‌های آزمون‌های DUS انجام شده، به اصول کلی ابتدایی محدود شده است. بنابراین، روش‌های کاربردی و عملی که منجر به تدوین دستورالعمل‌های دقیق‌تر شود، مهم و ضروری است. در این تحقیق، با استفاده از روش‌های آماری مبتنی بر انتخاب صفات کمی، از ۲۰ صفت از پیش انتخاب شده، ده صفت که کارایی بالاتری در تمایز ارقام ذرت داشتند، انتخاب و ارقام شاهد برای هر صفت کمی تعیین شدند و جهت تدوین دستورالعمل ملی آزمون DUS ذرت مورد استفاده قرار گرفتند. روش‌های به‌کار رفته در این پژوهش برای انتخاب صفات کمی، تقسیم دامنه تظاهر و انتخاب ارقام به‌عنوان شاهد برای آزمون‌های DUS ذرت، بسیار کارا و موثر بود و بنابراین پیشنهاد می‌شود از این روش‌ها به‌منظور تهیه دستورالعمل‌های DUS برای گونه‌های گیاهی دیگر نیز استفاده شود.

سپاسگزاری

از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال برای تامین اعتبار مالی این تحقیق و از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر برای در اختیار قراردادن مواد گیاهی آزمایش سپاسگزاری می‌شود.



شکل ۵- نمودار جعبه‌ای ارتفاع بوته ده رقم ذرت مطالعه شده در این تحقیق

Figure 5. Box-plot for plant height of the ten maize varieties studied in this research

References

Barnabás, B., Jäger, K. and Fehér, A. 2008. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. **Plant, Cell and Environment** 31 (1): 11-38.

Begum, T. and Kumar, D. 2011. Usefulness of morphological characteristics for DUS testing of jute (*Corchorus olitorius* L. *and C. capsularis* L.)**. Spanish Journal of Agricultural Research** 9 (2): 473-483.

Borys, J., Kowalczyk, B. and Waszak, J. 2000. Distinctness, uniformity and stability testing of tomato varieties in Poland. **Acta Physiologiae Plantarum** 22: 225-229.

Choqan, R., Hosseinzadeh, A., Ghanadha, M. R., Talei, A. and Mohammadi, S. A. 2006. classification of maize inbred linesbased on morphological traits. **Seed and Plant** 21 (1): 139-157. (In Persian with English Abstract).

CPVO. 2010. Protocol for distinctness, uniformity and stability tests, maize (*Zea mays* L.). Document TP/002/3, Community Plant Variety Office, Angers, France.

Crossa, J., Basford, K., Taba, S., DeLacy, I. and Silva, E. 1995. Three-mode analyses of maize using morphological and agronomic attributes measured in multilocational trials. **Crop Science** 35 (5): 1483-1491.

DeWitt, T. J. and Scheiner, S. M. 2004. Phenotypic variation from single genotypes: A primer. Oxford University Press, New York.

Falconer, D. S. 1989. Introduction to quantitative genetics. Longman, London, New York.

Fleck, B. and Baldock, C. 2003. Intellectual property protection for plant related inventions in Europe. **Nature Biotechnology** 4: 834-838.

Fonseca, A. E., Westgate, M. E., Grass, L. and Dornbos, D. L. 2003. Tassel morphology as an indicator of potential pollen production in maize. **Crop Management** 2 (1): 1-13.

Furones-Pérez, P. and Fernández-López, J. 2009. Usefulness of 13 morphological and phenological characteristics of sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) for use in the DUS test. **Euphytica** 167: 1-21.

Galarreta, J. R. and Alvarez, A. 2001. Morphological classification of maize landraces from northern Spain. **Genetic Resources and Crop Evolution** 48 (4): 391-400.

Goodman, M. M. and Bird, R. M. 1977. The races of maize IV: Tentative grouping of 219 Latin American races. **Economic Botany** 31 (2): 204-221.

Gouesnard, B., Dallard, J., Panouille, A. and Boyat, A. 1997. Classification French maize populations based on morphological traits. **Agronomy** 17 (9-10): 491-498.

Higgins, J. and Evans, J. L. 1984. Standards employed in distinctness, uniformity and stability tests of faba bean cultivars. In: Chapman, G. P. and Taravali, S. A. (Eds.). Systems for cytogenetic analysis in *Vicia faba* L. Springer, The Netherlands. pp: 118-125.

Jördens, R. 2005. Progress of plant variety protection based on the international convention for the protection of new varieties of plants (UPOV convention). **World Patent Information** 27: 232-243.

Le Buanec, B. 2006. Protection of plant-related innovations: Evolution and current discussion. **World Patent Information** 28: 50-62.

Liang, C., Yu, F. L., Yao, M .Z., Bo, L. U., Kun, Y. and Du, Y. Y. 2008. Preparation of the UPOV guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability: Tea plant [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. **Agricultural Sciences in China** 7: 224-231.

Llaurado, M. and Moreno Gonzales, J. 1993. Classification of northern Spanish population of maize by methods of numerical taxonomy. 1: Morphological traits. **Maydica** 38: 15-21.

Patterson, H. D. and Weatherup, S. T. C. 1984. Statistical criteria for distinctness between varieties of herbage crops. **The Journal of Agricultural Science** 102 (01): 59-68.

PPV and FRA. 2007. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability on maize (*Zea mays* L.). Document SG/03/2007. Protection of Plant Varieties and Farmers' Rights Authority, Government of India.

PVPO. 2014. National guidelines for the conduct of test for distinctness, uniformity and stability in corn (*Zea mays* L.). Philippine Plant Variety Protection Office, Retrieved July 20, 2016, from http://www.pvpo.bpinsicpvpo.com.ph/guidelines.php

SAS. 2009. SAS user's guide: Statistics. Version 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC.

SPCRI. 2009. Act of plant varieties registration, control and certification of seed and plant material. Seed and Plant Certification and Registration institute. 80 p. (In Persian).

Sun, H. Y., Yang, L., Zhang, J. H. and Wang, Y. Z. 2008. Classification criteria of some quantitative characteristics of apricot germplasm resources. **Chinese Agricultural Science Bulletin** 24: 147-151.

Thomison, P. 2007. Drought and heat stress affecting corn yield potential. C. O. R. N. Newsletter, 2007-21. Retrieved July 24, 2016, from http://agcrops.osu.edu/newsletters/2007/21#9.

Tripp, R., Louwaars, N. and Eaton, D. 2007. Plant variety protection in developing countries. A report from the field. **Food Policy** 32: 354-371.

UPOV. 1991. International convention for the protection of new varieties of plants. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Publication No. 221 (E), March 19, Geneva, Switzerland.

UPOV. 2002. General introduction to the examination of distinctness, uniformity and stability and the development of harmonized descriptions of new varieties of plants. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Document TG/1/3, Geneva, UPOV Secretariat.

UPOV. 2004. Development of test guidelines. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Document TG/7/1, Geneva, Switzerland.

UPOV. 2009. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability in maize (*Zea mays* L.). International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Document TG/2/7, Geneva, Switzerland.

UPOV. 2010. Trial design and techniques used in the examination of distinctness, uniformity and stability. International Union for the Protection of New Varieties of Plants Document TG/8/1, Geneva, Switzerland.

Watson, S., Ward, J. and Weatherup, S. T. C. 1998. DUST: Distinctness, uniformity and stability analysis system, version 9.1.0. Department of Agriculture for Northern Ireland.

Yadav, V. K. and Singh, I. S. 2010. Comparative evaluation of maize inbred lines (*Zea mays* L.) according to DUS testing using morphological, physiological and molecular markers. **Agricultural Sciences** 1 (03): 131-142.

Zadoks J. C., Chang, T. T. and Konzak, C. F. 1974. Decimal code for the growth states of cereals. **EUCARPIA Bulletin** 7: 42-52.

University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research
Vol. 8, No. 1, Spring 2018 (111-126)

Usefulness of quantitative morphological and phenological characteristics of maize (*Zea mays* L.) in preparating national guidelines of tests for distinctness, uniformity and stability (DUS)

Mohammad Reza Jazayeri Noushabadi[1,5], Jafar Asghari[2*], Habibolah Samizadeh Lahiji[3] and Aidin Hamidi[4]

Received: June 5, 2017 Accepted: December 19, 2017

Abstract

Selecting quantitative characteristics, division of their expression ranges and selecting the check varieties are key issues on preparation of DUS test guidelines, so that based on these characteristics can evaluate three conditions of a new variety; distinctness, uniformity and stability (DUS). To prepare national DUS test guidelines in maize (*Zea mays* L.), a randomized complete block design was conducted with three replications and 28 varieties and lines at Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Karaj, Iran, during 2014 and 2015. First, a total of 49 qualitative and quantitative morphological and phenological characteristics proposed by international union for the protection of new varieties of plants (UPOV), community plant variety office (CPVO), India (PPV&FRA) and Philippines (PVPO), were selected and evaluated. Then, ten quantitative characteristics based on within-variety uniformity by using coefficient of variation, correlation among characteristics, heritability, stability in two years and principal component analysis, were selected for the national DUS test guidelines. The expression ranges of these ten selected quantitative characteristics were divided into different situations using the descriptive statistics and frequency distribution of the varieties. The plant height with two peaks in the frequency distribution chart of the varieties was categorized as grouping characteristic, while other nine selected quantitative characteristics had only one peak and were selected as standard characteristics. Finally, KSC704 hybrid and two maternal lines Fajr and Mobin were determined as the check varieties for plant height using box plot. It is also proposed to use this method as an efficient method for preparing DUS guidelines for other plant genera.

Keywords: Coefficient of variation, Descriptor, Plant height, Principal component analysis, SC704

1. Ph. D. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Prof., Dept. of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
4. Research Assoc. Prof., Seed and Plant Certification and Registration Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
5. Research Instructor, Seed and Plant Certification and Registration Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
* Corresponding author: jafasghr@guilan.ac.ir