

Induction of earliness and awnless mutants in rice (*Oryza sativa* L.) Domsiah cultivar

مسعود اصفهانی^۱ و محمد حسین فتوکیان^۲

/ % / % / % (DMS)

M₂

DMS

E₄

E₁

(M₂)

M₃

E₁

E₃

M₄

(AW)

(E₃)

M₅

F

(r= / **)

(DMS)

دارد. حدود ۶۰۰ هزار هکتار از اراضی زراعی کشور را شالیزار تشکیل می دهد که بیش از ۸۰ درصد آن در استان های شمالی کشور واقع است (فتوکیان، ۱۳۷۳). در

بیش از ۵۰ درصد غذای مصرفی بشر از غلات تأمین می گردد که ۴۰ درصد آن به گندم و برنج اختصاص

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۱/۲/۵

تاریخ دریافت: ۱۳۸۰/۶/۳۰

۱ و ۲، به ترتیب استادیار دانشگاه گیلان و مربی دانشگاه شاهد (دانشجوی دکتری ژنتیک بیومتری دانشگاه تهران).

هستند (Jennings et al., 1979). طول ریشک در سنبه های یک خوشه از بابت اندازه با هم متفاوت هستند (Grist, 1975).

روش های اصلاح برنج در کشورمان عمدتاً از طریق روش های انتخاب و دورگ گیری (Selection and hybridization) انجام می گیرد. روش اصلاح از طریق جهش (Mutation breeding) گرچه در ایران و به ویژه در اصلاح برنج چندان مورد توجه قرار نگرفته است ولی محققین سایر کشورها از این روش موفقیت های چشمگیری به دست آورده اند (Shu et al., 1997; Wen and Qu, 1996). تا سال ۱۹۹۱، در گیاهانی که با بذر ازدیاد می یابند، حدود ۱۴۲۹ واریته در اثر استفاده مستقیم (۱۰۱۹ موتان) یا غیر مستقیم (۴۱۰ موتان) از موتان ها به دست آمده اند، که ۲۵۸ واریته موتان از برنج بوده است (۱۹۸ موتان در اثر استفاده مستقیم و ۸۰ موتان در اثر غیر مستقیم یعنی استفاده از موتان به عنوان والد در دورگ گیری) (Maluszynski et al., 1991). واریته برنج دمسیاه که از ارقام بومی، دارای کیفیت پخت عالی و عملکرد پایین است. دارای ریشک های بلند بوده و تقریباً دیررس می باشد. هدف از اجرای این آزمایش مطالعه امکان استفاده از اشعه گاما و دی متیل سولفات (DMS) در القاء زودرسی و حذف ریشک در این واریته بوده است.

(M₁) -
(

برای هر سطح دُز اشعه گاما (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری (GY))، تعداد ۱۵۰۰ بذر با رطوبت ۱۴ درصد مورد تیمار قرار گرفت. عمل پرتوتابی در بخش تابش گامای سازمان انرژی اتمی ایران به وسیله منبع کبالت ۶۰ از نوع Gamma Cell 220 در دمای اتاق انجام گرفت. بذور قبل از آزمون جوانه زنی و بذر پاشی در خزانه، به مدت ۲۴ ساعت در آب معمولی

مناطق معتدل و یا مناطقی مثل شمال ایران که دوره برداشت شالی با بارش باران های زودرس پاییزه مصادف است، صفت زودرسی دارای اهمیت فراوان است. زودرسی از جمله صفاتی است که در تحقیقات اصلاح جهشی به آسانی قابل حصول است. زودرسی امکان دو الی سه بار کشت برنج در سال را در واریته های غیر حساس به طول روز در مناطق با شرایط آب و هوایی مناسب فراهم می کند. در اکثر موارد موتان های زودرس نسبت به واریته های والدینی دارای عملکرد کمتری هستند که این امر به دلیل اثر پلیوتروپیک (pleiotropic) ژن(های) عامل زودرسی است. مطالعات نشان می دهد که کاهش عملکرد در موتان های زودرس دلیل فیزیولوژیکی داشته و ارتباطی با دلایل سیتولوژیکی (کاهش باروری) ندارد (Gottschalk and Wollf, 1983). در اغلب موتان های زودرس، طول گیاه کاهش یافته و تعداد خوشه، وزن هزار دانه، ضخامت ساقه و مقدار پروتئین دانه نیز تغییر می یابند (International Atomic Energy Agency (IAEA), 1977). طول دوره خوشه دهی در برنج تحت اثر طول دوره رویشی، نورودرجه حرارت می باشد و در این راستا سه ژن مغلوب برای دوره رشد رویشی و هفت ژن مغلوب برای حساسیت به نور در واریته های با طول دوره خوشه دهی زودتر شناسائی شده است (Gustafsson and Gadd, 1966; IAEA, 1977). توارث زودرسی در مطالعات زیادی بررسی شده و مشخص گردید که زودرسی دارای توارث پیچیده ای بوده و تحت کنترل ژن(های) غالب یا مغلوب و یا نیمه غالب با اثرات متفاوت می باشد (Gustafsson and Gadd, 1966; IAEA, 1977; Awan et al., 1986; Rutger et al., 1986; Tsai, 1991).

ریشک در پر کردن دانه (عملکرد دانه) اثر معنی داری نداشته و در جلوگیری از حمله پرندهاگان نیز اهمیتی ندارد. ریشک دار بودن تحت کنترل دو الی سه ژن غالب می باشد. عوامل متعدد محیطی اغلب در پیدایش ریشک و اندازه آن تأثیر دارند. اغلب واریته های اصلاح شده فاقد ریشک بوده و یا دارای ریشک کمی

در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد خیسانده شدند تا عمل جوانه زنی بهتر انجام گیرد (فتوکیان ۱۳۷۳؛ Bansal, and Awan et al., 1984; Katoch, 1991).

(DMS)

برای هر تیمار ۱۵۰۰ بذر انتخاب و بذرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق در آب مقطر خیسانده شدند. سپس عمل تیمار با محلول شیمیایی DMS در غلظت های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد به مدت ۲۷ ساعت در دمای اتاق انجام گرفت. در زمان تیمار محلول به همراه بذور بر روی شیکر تکان داده شدند تا DMS به طور یکنواخت در دسترس بذور قرار گیرد. بذور پس از تیمار به مدت ۲۰ ساعت در آب جاری شسته شدند. برای جلوگیری از تغییرات pH محلول تهیه شده، ۱۰ میلیلیتر بافر فسفات با pH=۷ به آن اضافه گردید (فتوکیان، ۱۳۷۳؛ Gottschalk and Wollf, 1983, Gustafsson and Gadd, 1983; IAEA, 1977). برای هر دو تیمار فیزیکی و شیمیایی تیمار شاهد (بدون تیمار) هم در نظر گرفته شد.

(

پانزده روز پس از بذرپاشی، نشاءها که حدود ۱۵ سانتیمتر ارتفاع داشتند با فواصل ۲۵×۲۵ سانتیمتر به صورت تک بوته نشاء کاری شدند. بعد از انجام عملیات آماده سازی زمین و قبل از نشاء کاری مقدار ۴۸ کیلوگرم کود فسفر در هکتار از منبع فسفات آمونیوم و ۲۵ کیلوگرم در هکتار کود پتاس از منبع سولفات پتاسیم به زمین اضافه گردید. عملیات وجین طی دو مرحله به وسیله کارگر انجام گرفت. در پایان فصل زراعی از هر تیمار تعداد ۳۰۰ بوته به طور تصادفی انتخاب و خوشه اصلی آن ها به طور جداگانه برداشت گردید.

(M₂)

بذور M₂ به دست آمده از سال قبل، در خزانه به صورت خوشه به ردیف (ear-to-row) بذرپاشی شدند و نشاء کاری نیز به صورت تک نشاء و خوشه به ردیف

انجام گرفت. در هر ردیف تعداد ۲۰ بوته با فواصل ۲۵ سانتیمتر نشاء شدند و فواصل بین ردیف ها نیز ۲۵ سانتیمتر بود. عملیات زراعی همانند سال قبل انجام گرفت. از تیمار اشعه گاما چهار توده زودرس (لاین های E₁ الی E₂) که دارای تفرق برای زودرسی بودند، به دست آمد. از بوته های زودرس در هر لاین به طور جداگانه نمونه برداری صورت گرفت. جمعیت حاصل از تیمار شیمیایی (DMS) به دلیل عدم مشاهده تنوع از آزمایش حذف گردید.

(M₃)

بذور بوته های موتان (بذور M₃) انتخاب شده از نسل قبل در چهار لاین جداگانه به همراه شاهد (دمسیاه معمولی) ابتدا در خزانه بذرپاشی و سپس در زمین اصلی نشاء کاری شدند. عملیات کاشت و داشت همانند سال قبل انجام گرفت. سطح زیر کشت برای هر لاین حدود ۱۰ متر مربع بود. در طول فصل رویش از لاین های موتان و شاهد تعداد ۲۰ بوته به طور تصادفی انتخاب و بوته ها از نظر ارتفاع گیاه، طول دوره رسیدن، طول خوشه، تعداد ساقه مورد مطالعه و اندازه گیری قرار گرفتند. نحوه اندازه گیری صفات بر اساس سیستم ارزیابی استاندارد برنج (International Rice Research Institute (IRRI), 1996) انجام گرفت. در پایان فصل زراعی از لاین E₁ که یکنواخت تر از بقیه بود و برای عدم وجود ریشک دارای تفرق نیز بود تعدادی بوته بدون ریشک (AW) انتخاب و بذور آن ها برای بررسی ثبات فقدان ریشک آزمایش یکنواختی در نسل بعد ذخیره گردید. هم چنین از لاین E₃ تعدادی بوته زودرس برای بررسی یکنواختی زودرسی در نسل بعد برداشت صورت گرفت.

(M₄)

بذور M₄ مربوط به بوته های موتان زودرس E₃ و بوته های موتان بدون ریشک (AW) به همراه شاهد در سه لاین جداگانه کاشته شدند. عملیات کاشت و داشت همانند سال های قبل انجام گرفت. برای هر لاین حدود

MSTATC انجام گرفت.

M_2

در نسل M_2 ، چهار توده زودرس E_1 الی E_4 از تیمارهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ گری اشعه گاما به دست آمد که به دلیل تفرق در زمان رسیدن و فقدان ریشک مطالعه بیشتر آن ها در نسل های بعدی انجام گرفت.

M_3

خصوصیات صفات مورد اندازه گیری در لاین های زودرس در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان می دهد که لاین های زودرس علاوه بر زودرس بودن، نسبت به شاهد ساقه های کوتاه تر نیز دارند. این نتیجه معمولاً در ژنوتیپ های برنج مورد انتظار است زیرا زودرسی نتیجه کاهش دوره رشد رویشی است و چون دوره رشد رویشی کوتاه می گردد گیاه کمتر رشد کرده و لذا ارتفاع آن کاهش می یابد. این کاهش رشد طبیعتاً نتیجه کاهش طول میان گره ها است. معمولاً در برنج بین طول خوشه و طول میان گره های بالائی به ویژه بالاترین میان گره همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد (فتوکیان، ۱۳۷۳؛ Gustafsson and Gadd, 1966؛ Futsuhara et al., 1967).

همان طوری که در جدول ۱ نمایان است لاین های زودرس که نسبت به شاهد دارای ارتفاع کمتری بودند،

۹۰ تک نشاء کشت گردید. در طول فصل زراعی از هر لاین ۲۰ بوته انتخاب و صفاتی مثل ارتفاع گیاه، تعداد پنجه، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم طول خوشه و طول دوره رسیدن مورد مطالعه قرار گرفتند. از هر لاین تعداد پنج بوته یکنواخت انتخاب و برای ادامه تحقیق بذور آن ها به طور جداگانه برداشت گردید.

(M_5)

لاین زودرس E_3 و لاین بدون ریشک (AW) به همراه شاهد در سال های ۱۳۷۸ و ۱۳۷۹ در مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) و ایستگاه تحقیقات برنج چپرسر تنکابن در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات مورد مطالعه عبارت بودند از: ارتفاع گیاه، تعداد ساقه، طول بالاترین میان گره، طول دومین میان گره، طول برگ پرچم، عرض برگ پرچم، طول دوره خوشه دهی، طول دوره رسیدن، طول خوشه، طول دانه، قطر دانه، باروری سنبلچه، تعداد دانه در خوشه اصلی، عملکرد، وزن ۱۰۰ دانه، آمیلوز، دمای ژلاتینه شدن و قوام ژل، عملیات زراعی در خزانه و مزرعه همانند سال های قبل صورت گرفت. قبل از انجام تجزیه (مرکب) واریانس، فرض مستقل بودن اشتباهات آزمایشی با آزمون بارتلت آزمون گردید. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون دانکن انجام گرفت. همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه قرار گرفت. محاسبات با کمی تغییر به کمک نرم افزار

جدول ۱- میانگین و اشتباه معیار ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) صفات لاین موتان زودرس و شاهد در نسل M_3 (مقایسه میانگین بین لاین های موتان با شاهد با آزمون t انجام گرفت).

Table 1. Means and standard error ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) of characters in early mutant lines and control at M_3 generation

(mean comparison between mutant lines and control carried out by "t" test).

لاین های موتان زودرس و شاهد Early mutant lines and control	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	طول خوشه Panicle length (cm)	تعداد ساقه Tiller no.	طول دوره رسیدن Maturity (days)
E_1 (200 GY)	145±2**	26±1*	13±0.4 ^{ns}	120
E_2 (300 GY)	140±2.2**	26±1.1*	13±0.3 ^{ns}	118
E_3 (100 GY)	151±2.9**	25±1.2**	15±0.6 ^{ns}	110
E_4 (300 GY)	140±2.4**	27±0.9 ^{ns}	12±0.4*	118
شاهد Control	171±2.4	29±1	14±0.5	130

ns، * و **: به ترتیب غیر معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns, * and ** Non-significant, significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively.

طول خوشه در آن ها نیز کمتر بود. به استثنای لاین موتان زودرس E_4 در طول خوشه، بقیه لاین های موتان

زودرس از نظر ارتفاع گیاه و طول خوشه با شاهد دارای اختلاف معنی دار بودند. همه لاین های موتان زودرس از نظر ارتفاع گیاه با شاهد اختلاف معنی دار داشتند. در توده موتان E₁، بوته ها از نظر فقدان ریشک دارای تفرق بودند. بوته های بدون ریشک دارای برگ های باریک تر بوده و زمان رسیدن در آن ها کمتر از شاهد و بیشتر از بوته های زودرس بوده است.

۳- خصوصیات لاین های موتان زودرس (E₃) و بدون ریشک (AW) در نسل M₄

جدول ۴ تعدادی از خصوصیات لاین موتان زودرس (E₃) و لاین موتان بدون ریشک (AW) را که به ترتیب از تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ گری اشعه گاما به دست آمدند را به همراه شاهد در نسل M₄ نشان می دهد.

لاین های موتان با شاهد از نظر ارتفاع گیاه دارای

جدول ۲- میانگین و اشتباه معیار ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) صفات مورد مطالعه در لاین موتان زودرس (E₃) و لاین موتان بدون ریشک (AW) در نسل M₄ (مقایسه میانگین بین لاین های موتان با شاهد با آزمون t انجام گرفت).

Table 2. Mean and standard error ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) of characters in early mutant line (E₃) and awnless mutant line (AW) at M₄ generation. (mean comparison between mutant lines and control carried out by "t" test).

لاین های موتان و شاهد Mutant lines and control	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	تعداد ساقه Culm no.	طول برگ پرچم Flag leaf length (cm)	عرض برگ پرچم Flag leaf width (mm)	طول خوشه Panicle length (cm)	طول دوره رسیدن Maturity (days)
E ₃ (100 GY)	160±2.2*	13±0.5 ^{ns}	30±1.2**	9.83±0.2 ^{ns}	29±1.2*	109
AW (200 GY)	158±1.9*	12±0.3 ^{ns}	36±1.1 ^{ns}	10.58±0.1**	27.5±1.1 ^{ns}	111
شاهد Control	165±2.1	13±0.4	36±1.1	10.08±0.1	27.7±1.1	125

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

ns, * and ** Non-significant, significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively.

اختلاف معنی دار بودند. کاهش ارتفاع در لاین های موتان می تواند ناشی از جهش در تعداد محدودی ژن (های) ارتفاع، یا ناشی از جهش در ژن (های) پلیوتروپ (Pleiotropic) مربوط به ارتفاع باشد. طول دوره رسیدن در لاین های موتان با همدیگر اختلاف چندانی نداشتند. ولی این دو لاین از شاهد حدود ۱۵ روز زودرس تر بود. داده ای جدول ۲ نشان می دهد که در لاین AW علاوه بر جهش برای حذف ریشک، برای زمان رسیدن نیز جهش اتفاق افتاده است. طول خوشه در لاین زودرس E₃ بلندتر از شاهد بود و با شاهد و لاین AW دارای اختلاف معنی دار بود. بلندتر شدن طول خوشه در لاین زودرس E₃ شاید ناشی از جهش در ژن (های) مرتبط با طول خوشه باشد. تعداد ساقه لاین های موتان با شاهد اختلاف معنی داری را نشان ندادند.

اختلاف معنی دار بودند. کاهش ارتفاع در لاین های موتان می تواند ناشی از جهش در تعداد محدودی ژن (های) ارتفاع، یا ناشی از جهش در ژن (های) پلیوتروپ (Pleiotropic) مربوط به ارتفاع باشد. طول دوره رسیدن در لاین های موتان با همدیگر اختلاف چندانی نداشتند. ولی این دو لاین از شاهد حدود ۱۵ روز زودرس تر بود. داده ای جدول ۲ نشان می دهد که در لاین AW علاوه بر جهش برای حذف ریشک، برای زمان رسیدن نیز جهش اتفاق افتاده است. طول خوشه در لاین زودرس E₃ بلندتر از شاهد بود و با شاهد و لاین AW دارای اختلاف معنی دار بود. بلندتر شدن طول خوشه در لاین زودرس E₃ شاید ناشی از جهش در ژن (های) مرتبط با طول خوشه باشد. تعداد ساقه لاین های موتان با شاهد اختلاف معنی داری را نشان ندادند.

۳- تیمار F تیمار برای همه صفات کمی مورد مطالعه در مزرعه به استثنای طول دومین میان گره، طول دوره خوشه دهی و باروری خوشه چه در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود که نشانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه بین ژنوتیپ های مورد مطالعه (لاین زودرس E₃، لاین بدون ریشک AW و شاهد) از نظر صفات یاد شده می باشد جدول ۳. آزمون F برای صفات کمی مورد مطالعه در آزمایشگاه نشان داد که بین ژنوتیپ ها از نظر درصد آمیلوز، دمای ژلاتینه و قوام ژل اختلاف معنی دار وجود ندارد، و این نشان می دهد که لاین های موتان از نظر صفات یاد شده دچار جهش نشده اند و با

- - (r)

ضرایب همبستگی بین صفات در ژنوتیپ های مورد مطالعه (در نسل M_5) در جدول ۶ آمده است. همبستگی ارتفاع گیاه با طول بالاترین میان گره، عرض برگ پرچم، باروری خوشه چه، و عملکرد معنی دار و مثبت بود. همبستگی تعداد ساقه با باروری خوشه چه مثبت و معنی دار، ولی با طول دانه، قطر دانه، و وزن ۱۰۰ دانه معنی دار و منفی بود. طول بالاترین میان گره با طول دومین میان گره دارای همبستگی معنی دار و منفی بود و این بدان معنی است که با افزایش طول بالاترین میان گره، طول دومین میان گره و طول بالاترین میان گره و طول دومین میان گره برعکس. طول بالاترین میان گره و طول دومین میان گره با عملکرد همبستگی معنی دار داشتند. همبستگی بین طول دوره خوشه دهی و طول دوره رسیدن معمولاً در ژنوتیپ های برنج معنی دار و مثبت مورد انتظار است (Futsuhara et al., 1967. Bansal and Katoch, 1991) در حالی که در این تحقیق نتیجه معنی دار ($r=0/06$) به دست نیامد و بررسی این نتیجه غیر منتظره به مطالعه بیشتر نیاز دارد. شاید این نتایج ناشی از تصادف باشد. همبستگی بالای بین طول دومین میان گره با عملکرد نیز می تواند ناشی از تصادف باشد. چون از نظر ژنتیکی توجیه این ارتباط قوی مشکل به نظر می رسد. طول برگ پرچم و عرض برگ پرچم با طول خوشه همبستگی معنی دار داشتند. همبستگی باروری سنبلچه با عملکرد و وزن ۱۰۰ دانه معنی دار نبود و این نشان می دهد که با استفاده از باروری سنبلچه نمی توان برای اصلاح عملکرد و وزن ۱۰۰ دانه اقدام کرد. با توجه به همبستگی بالای بین عملکرد و وزن ۱۰۰ دانه ($r=0/7^{**}$) می توان از طریق وزن ۱۰۰ دانه نسبت به اصلاح عملکرد اقدام کرد. همبستگی مثبت و معنی دار طول دانه با قطر دانه ($r=0/5^*$) نشان می دهد که با افزایش طول دانه،

یکدیگر و شاهد اختلاف معنی دار ندارند. جدول ۴. ضریب تغییرات (C.V.%) برای همه صفات پایین بود که حاکی از یکنواختی ماده آزمایشی و دقت در اندازه گیری صفات می باشد. مقایسه میانگین برای صفاتی که دارای آزمون F معنی دار بودند جدول ۵ نشان می دهد که لاین های موتان از نظر ارتفاع گیاه، تعداد ساقه، طول خوشه، قطر دانه، تعداد دانه در خوشه و وزن ۱۰۰ دانه با یکدیگر و با شاهد اختلاف معنی دار داشتند. لاین های موتان گرچه از نظر طول بالاترین میان گره، طول دوره رسیدن و عملکرد با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ولی با شاهد دارای اختلاف معنی دار بودند. لاین های موتان از نظر عرض برگ پرچم با یکدیگر اختلاف معنی دار داشتند ولی با شاهد اختلاف معنی دار نداشتند. لاین موتان بدون ریشک با شاهد از نظر طول دانه اختلاف نداشت ولی هر دو با لاین موتان زودرس دارای اختلاف معنی دار بودند. باروری سنبلچه در لاین های موتان بیشتر از شاهد بوده است و در عین حال فقط لاین موتان زودرس با شاهد اختلاف معنی دار داشت. طول برگ پرچم در لاین های موتان کمتر از شاهد بود و در این میان لاین موتان بدون ریشک کمترین طول برگ پرچم (۲۸/۷ سانتیمتر) را داشت و با بقیه دارای اختلاف معنی دار بود. با توجه به روابط مستقیمی که معمولاً بین طول دوره خوشه دهی و طول رسیدن در ژنوتیپ های برنج وجود دارد (فتوکیان، ۱۳۷۳). بین تیمارها در طول دوره خوشه دهی اختلاف معنی داری مشاهده نشد در حالی که طول دوره رسیدن بین تیمارها دارای اختلاف معنی دار بود. لاین های موتان با یکدیگر از نظر عملکرد دارای اختلاف معنی دار نبودند ولی با شاهد (۲۹۲۹ کیلوگرم در هکتار) دارای اختلاف معنی دار بودند. وزن ۱۰۰ دانه در لاین موتان بدون ریشک (۲/۴۷ گرم) با لاین زودرس (۲/۳۵ گرم) دارای اختلاف معنی دار بود و این نشان می دهد که ریشک در عملکرد دانه در برنج (زراعت آبی) نقش معنی داری ندارد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در مزرعه (نسل M₅). داده های متن جدول میانگین مربعات می باشند

Table 3. Analysis of variance for characters under study in farm (M₅ generation). Data in table are mean squares (MS)

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df	ارتفاع گیاه Plant height	تعداد ساقه Culm no.	طول بالاترین میان گره Uppermost internode length	طول دومین میان گره Second internode length	طول برگ پرچم Flag leaf length	عرض برگ پرچم Flag leaf width	طول دوره خوشه دهی Heading	طول دوره رسیدن Maturity (days)
Year (Y)	سال	1	0.44	0.25	75	97	12	19	306	476
Location (L)	مکان	1	2844	78	58	78	17	25	191	26
(Y×L)	مکان × سال	1	19	3.3	107	103	17	19	220	367
E1= (R/YL)	تکرار درون سال و مکان	8	10	0.75	0.4	3	4.5	.14	.5	7.9
Entry (A)	تیمار	2	137**	28.9**	0.94**	4.11 ^{ns}	120**	1.75**	11.4 ^{ns}	51.7**
(Y×L)	تیمار × سال	2	124	8	186	27	49	1.2	42.6	20
(L×A)	تیمار × مکان	2	440	17	109	1.3	2	1.7	57.7	158
(Y×L×A)	سال × تیمار × مکان	2	187	0.36	224	35	37	1.2	51.4	38.7
Error (E ₂)	اشتباه آزمایشی	16	4.7	0.96	2.1	2.9	6.46	.22	3.2	5.53
C.V.%	ضریب تغییرات		1.5	5.5	3.1	5.8	7.9	4.6	1.9	2

ns and **:

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

Non significant and significant at the 1% level of probability, respectively.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در مزرعه (نسل M₅). داده های متن جدول میانگین مربعات می باشند.

Table 3. Analysis of variance for characters under study in farm (M₅ generation). Data in table are mean squares (MS)

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df	طول خوشه Panicle length	طول دانه Grain length	قطر دانه Grain width	باروری خوشه چه Spikelet fertility	تعداد دانه در خوشه Grain per panicle	عملکرد Grain yield	وزن ۱۰۰ دانه 100-grain weight
Year (Y)	سال	1	22	0.4	0.01	9	136	139377	0.00014
Location (L)	مکان	1	0.4	0.4	0.1	765	711	502208	0.00033
(Y×L)	مکان × سال	1	28	0.1	0.0002	2.8	0.4	1382192	0.00033
E1= (R/YL)	تکرار درون سال و مکان	8	1.4	0.4	0.007	3.1	19	20276	0.00023
Entry (A)	تیمار	2	27.7**	2.03**	0.099**	8.2 ^{ns}	6043**	2172502**	0.52**
(Y×L)	تیمار × سال	2	3	0.19	0.004	2.6	131	937517	0.00019
(L×A)	تیمار × مکان	2	2.9	0.5	0.036	50.4	3928	39434	0.00019
(Y×L×A)	سال × تیمار × مکان	2	0.19	0.03	0.006	0.36	24	2434	0.00005
Error (E ₂)	اشتباه آزمایشی	16	0.4	0.19	0.004	2.47	27.5	15125	0.000165
C.V.%	ضریب تغییرات		2.3	4.2	2.5	1.8	4.2	5	0.5

ns and **: Non significant and significant at the 1% level of probability, respectively.

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در آزمایشگاه (نسل M_5). داده های متن جدول

میانگین مربعات می باشند

Table 4. Analysis of variance for characters under study in laboratory (M_5 generation). Data in table are mean squares (MS)

منابع تغییرات S.O.V.	df	درجه آزادی	آمیروز Amylose	دمای ژلاتینه Gelatination temperature	قوام ژل Gel consistency
Replication	2	تکرار	0.26	0.03	33.4
Entry (A)	2	تیمار (A)	0.85 ^{ns}	0.11 ^{ns}	10.8 ^{ns}
Error	4	اشتباه آزمایشی	0.27	0.031	12.44
C.V.%		ضریب تغییرات	2.47	5.7	6.7

ns:Non significant.

ns: غیر معنی دار.

جدول ۵- مقایسه میانگین بین ژنوتیپ های از نظر صفات مورد مطالعه (نسل M_5)

Table 5. Means comparison of genotype for characters under study (M_5 generation)

Entry	ژنوتیپ های مورد مطالعه	ارتفاع گیاه Plant height (cm)	تعداد ساقه Culm no.	طول بالاترین میان گره Uppermost internode length (cm)	طول برگ پرچم Flag leaf length (cm)	عرض برگ پرچم Flag leaf width (cm)	طول خوشه Panicle length (cm)	طول دانه Grain length (mm)	قطر دانه Grain width (mm)	تعداد دانه در خوشه Grain per panicle	عملکرد Grain yield (kg/ha.)	وزن ۱۰۰ دانه 100-grain weight (g)	طول دوره رسیدن Maturity (days)
Awnless mutant line (AW)	لاین موتان بدون ریشک	145.4 ^b	18 ^b	44 ^b	28.7 ^b	10.5 ^a	27 ^c	10.6 ^a	2.68 ^a	120 ^b	2143 ^b	2.47 ^b	117 ^a
Early mutant line (E_3)	لاین موتان زودرس	142 ^c	19.2 ^a	45 ^b	32 ^a	9.8 ^b	28 ^b	9.9 ^b	2.5 ^c	105 ^c	2254 ^b	2.35 ^c	117 ^a
Cont.(Doms.)	شاهد (دمسیاه)	148.7 ^a	16.2 ^c	49 ^a	35 ^a	10.1 ^{ab}	30 ^a	10.7 ^a	2.59 ^b	149 ^a	2929 ^a	2.76 ^a	130 ^b

*: Means followed by unsimilar letters are significantly different (level 5%).

*: حروف نامشابه به معنی اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ است.

جدول ۶- ضرایب همبستگی ساده (r) بین صفات کمی در ژنوتیپ های برنج مورد مطالعه (در نسل M₅)

Table 6. Correlation coefficients among characters in entries under study (M₅ generation)

صفات* Characters	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
2	.2													
3	.46	-.14												
4	.29	.29	-.55											
5	.09	-.05	-.04	.03										
6	.43	.18	.01	.6	-.15									
7	-.15	-.25	.22	-.66	-.17	-.77								
8	.1	-.2	.1	.0001	-.48	.19	.06							
9	.07	-.33	.06	.32	.35	.47	-.6	-.02						
10	-.17	-.36	.17	-.41	-.02	-.14	.3	.2	.04					
11	-.28	-.4	-.23	-.21	-.33	-.3	.5	.15	-.27	.5				
12	.76	.43	.22	.27	.12	.47	-.3	-.1	-.04	-.3	-.4			
13	-.16	-.32	.33	-.21	.2	-.11	.05	-.07	.36	.6	.1	-.4		
14	.33	-.28	.57	-.45	.5	-.08	.1	-.24	.25	.2	-.1	.2	.44	
15	.25	-.5	.33	-.02	.44	.02	.02	-.06	.5	.44	.16	-.1	.7	.7

ضرایب بین ۳۲ و ۳۳- معنی دار نیستند. ضرایب بین ۳۳ و ۴۱- هم چنین ضرایب بین ۳۳ و ۴۱- معنی دار نیستند. ضرایب بزرگتر از سطح احتمال ۵ درصد معنی دار هستند. ضرایب کوچکتر از ۴۱ و ۴۱- در سطح احتمال یک درصد معنی دار هستند.

*1- ارتفاع گیاه (Plant height)، 2- تعداد ساقه (Culm no.)، 3- طول بالاترین میان گره (Uppermost internode length)، 4- طول دومین میان گره (Second internode length)، 5- طول برگ پرچم (Flag leaf length)، 6- عرض برگ پرچم (Flag leaf width)، 7- طول دوره خوشه دهی (Heading)، 8- طول دوره رسیدن (Maturity)، 9- طول خوشه (Panicle length)، 10- طول دانه (Grain length)، 11- قطر دانه (Grain width)، 12- باروری خوشه چه (Spikelet fertility)، 13- تعداد دانه در خوشه (Grain per panicle)، 14- عملکرد (Grain yield)، 15- وزن ۱۰۰ دانه (100-grain weight).

به سایر ژنوتیپ ها بایستی احتیاط کرد.

با وجود تاریخچه ۳۵ ساله تحقیقات برنج کشور، تعداد گزارشات مربوط به اصلاح برنج از طریق موتاسیون قابل توجه نیست. در خیلی از مراکز تحقیقات کشاورزی دنیا از روش اصلاح موتاسیون (Mutation breeding) برای اصلاح تعداد زیادی از گیاهان زراعی به طور موفقیت آمیزی استفاده شده است. اشعه گاما و مواد شیمیایی جهش زای گروه آلکیل گذار (Alkylating agents) کاربرد وسیعی در اصلاح گیاهان به ویژه در اصلاح برنج دارند. تعداد زیادی واریته برنج از طریق این موتاژن ها اصلاح و معرفی شده اند. (فتوکیان، ۱۳۷۳؛ Mahadevappa et al., 1981; IAEEA, 1977).

در تیمار بذور واریته های بومی میانمار با اشعه گاما در دزهای ۳۰۰ و ۴۰۰ گری توانستند در نسل M₂ موتان زودرسی به دست آورند که نسبت به والد مادری ۴۸

قطر دانه نیز افزایش خواهد یافت در حالی که انتظار عمومی بر این است که با افزایش طول دانه قطر دانه کاهش یابد. بیشترین همبستگی بین عرض برگ پرچم و طول دوره خوشه دهی ($r = -0.77^{**}$) و کمترین همبستگی بین طول دومین میان گره و طول دوره رسیدن ($r = 0.001$) مشاهده گردید. همبستگی واقعی بین دو صفت یاد شده می تواند از لینکاژ شدید ژن (های) کنترل کننده دو صفت و یا ناشی از اثر پیلوتروپیک ژن (های) باشد که هر دو صفت را کنترل می کنند. البته گاهی همبستگی بالا می تواند ناشی از تصادف باشد که در این صورت این همبستگی واقعی نیست. عدم وجود همبستگی معنی دار می تواند بیانگر استقلال دو صفت باشد.

به طور کلی وقتی که همبستگی بین متغیر ها معنی دار و مثبت باشد می توان از طریق یک متغیر برای متغیر دیگر اقدام به گزینش کرد (گزینش غیر مستقیم). هم چنین بایستی توجه داشت که نتایج به دست آمده مربوط به ژنوتیپ های مورد مطالعه است و در تعمیم آن

-

۱- با توجه به این که ریشک در افزایش عملکرد برنج نقش معنی داری ندارد می توان صفت عدم وجود ریشک را از لاین موتان بدون ریشک به دمسیاه شاهد از طریق تلاقی برگشتی انتقال داد.

۲- لاین های موتان به دلیل اثرات ناهنجار اشعه گاما دارای مقداری عقیمی هستند و نسبت به شاهد دارای عملکرد کمتری می باشند. برای اصلاح عملکرد این لاین ها می توان با تلاقی برگشتی نسبت به انتقال ژن(های) زودرسی و عدم وجود ریشک به رقم شاهد اقدام کرد و یا مجدداً با موتاسیون نسبت به کاهش یا حذف عقیمی اقدام کرد.

۳- پیشنهاد می گردد طی آزمایش جداگانه ای ژنتیک توارث موتان زودرسی و عدم وجود ریشک مطالعه شود و مشخص گردد که ژن(های) کنترل کننده این صفات با ژن(های) معروف و موجود زودرسی و عدم وجود ریشک رابطه آللی دارند یا خیر. با این گونه آزمایش ها می توان فهمید که ژن(های) به دست آمده جدید هستند یا خیر.

۴- از آنجائی که تیمار بذور با اشعه گاما در سازمان انرژی اتمی ایران با هزینه ناچیز انجام می گیرد و با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش و هم چنین گران بودن مواد شیمیائی جهش زا، پیشنهاد می شود با کنترل شرایط تیمار مثل رطوبت بذر، بذریابی بلافاصله پس از تیمار بذور - جهت افزایش بازدهی و سودمندی جهش زائی (Efficiency and effectiveness of mutagenesis) از اشعه گاما به عنوان موتاژن مناسب در تحقیقات برنج و سایر گیاهان زراعی استفاده به عمل آید.

از دانشگاه گیلان که هزینه اجرائی تحقیق را تقبل نمود سپاسگزاریم. از دانشگاه شاهد که در مراحل اجرائی طرح همکاری مساعدت داشتند تقدیر می گردد. از آقای مهندس محدثی و همکاران ایشان در ایستگاه تحقیقات برنج چپرسر و

روز زودرس تر بود. هم چنین این محققین توانستند در نسل M₄ از یک واریته محلی دیگر یک لاین موتان زودرس به دست آورند که نسبت به والد مادری ۴۱ روز زودرس تر و دارای عملکرد بیشتری نسبت به والد مادری بود. کال و نیلانگینی (Kaul and Neelangini, 1989) در تیمار بذور واریته جونا با دز ۲۰۰ گری اشعه ماگنا توانستند آن را ۳۰ روز زودرس تر و عملکرد دانه را ۱۱ درصد افزایش دهند. ینگ (Ying, 1986) در تیمار بذور واریته BG 90-2 با اشعه گاما توانست موتانی به دست آورد که ۲۴ روز زودرس تر بود و وزن هزار دانه آن از ۲۷ گرم به ۳۶ گرم افزایش یافت. کارمونا (Carmona, 1986) با استفاده از اشعه گاما در واریته CICA 8 موتان CICA 8 MU 53 را به دست آورد که ۱۷ روز زودرس تر بود و دارای مقاومت به بیماری بلایت نیز بود. به دست آوردن لاین های زودرس و بدون ریشک نشان می دهد که در القاء صفات یاد شده در واریته برنج دمسیاه از طریق اشعه گاما پتانسیل مطلوبی وجود دارد.

باید به خاطر سپرد که روش اصلاح گیاهان از طریق موتاسیون یک روش در اصلاح گیاهان و برنج بوده و موفقیت این روش عمدتاً از طریق تلفیق با سایر روش های اصلاحی مثل گزینش، دورگ گیری و بیوتکنولوژی امکان پذیر خواهد بود. لاین های موتان زودرس و بدون ریشک گرچه از نظر طول دوره رسیدن با همدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ولی وزن ۱۰۰ دانه و تعداد دانه در خوشه لاین موتان بدون ریشک برتر از لاین موتان زودرس بود. صفات قابل توجه و جذاب لاین موتان زودرس (E₃) در مزرعه شامل یکنواختی بوته ها از نظر ارتفاع گیاه، سرسبزی زیاد برگ ها در هنگام رسیدن و ظریف بودن ساقه ها و برگ ها می باشد که این لاین را از سایر لاین ها و شاهد کاملاً متمایز می کند. لاین موتان بدون ریشک (AW) علاوه بر این که فاقد ریشک است، زودرس نیز می باشد و بهتر است به عنوان لاین زودرس بدون ریشک در نظر گرفته شود.

از آقای مهندس ترنگ و همکاران مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) که در مراحل مختلف تحقیق همکاری داشتند تشکر می نمائیم. هم چنین از مرکز تابش گامای سازمان انرژی اتمی ایران به دلیل همکاری در تیمار بذرها با اشعه گاما سپاسگزاری می شود.

References

- فتوکیان م.ح، ۱۳۷۳. بررسی اثرات اشعه گاما و دی متیل سولفات (DMS) بر چند واریته برنج. رساله کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.
- Awan, M. A. A. A. Cheema and G. R. Tahir. 1986. Induced mutations for genetic analysis in rice. In: Rice genetics. Proceeding of the International Rice Genetic Symposium, 27-31, 1985. pp: 697-705.
- Bansal V.CK. and P.C. Katoch. 1991. Selection of semidwarf, early maturing and blast resistance mutants after mutagenic seed treatment in two locally adapted Indian rice cultivars. *Plant breeding*. **107**:169-172.
- Carmona, P.S. 1986. Early maturing induced mutants in high yielding rice varieties of Rio Grande do Sul State. *Mutation Breeding Newsletters*. **28**:6-7.
- Futsuharh, Y., K. Tiriya and K. Tsunoda. 1967. Breeding of a new rice variety "Remei" by gamma-ray irradiation. *Japan J. Breeding*. **17 (2)**:13-18.
- Gottshalk, W and G. Wollf. 1983. Induced mutation in plant breeding. Springer Verlag Inc.
- Grist, D. H. 1975. Rice. Longman group Ltd.
- Gustafsson, A. and I. Gadd. 1966. Mutation and crop improvement. VII. The genus *Oryza* L. (gramineae). *Hereditas*. **55**:273-357.
- International Atomic Energy Agency. 1977. Manual on mutation breeding. Joint FAO/IAEA division of atomic energy in feed and agriculture, Technical report series No. 119.
- International Rice Research Institute. 1996. Standard Evaluation System for Rice, IRRI publication. Manila. Philippines.
- Jennings, P.R., W.R. Coffman and H. E. Kauffman. 1979. Rice improvement. IRRI publication.
- Kaul, M.L.H. and M. Neelangi. 1989. Quality rice improvement by mutation breeding. *Mutation Breeding Newsletters*. **34**:14.
- Mahadevappa, M., H. Ikehashi, H. Noorsvamsian and W.R. Coffman. 1981. Improvement of native rice through induced mutation. *IRRI Research Paper Series*. **57**:1-7.
- Maluszynski, M., B. Sigurbjornsson, E. Amano, L. Sitch and O. Kamra. 1991. Mutant varieties. Data bank. FAO/IAEA database. *Mutation breeding Newsletters*. **38**:16-21.
- Rutger, J.N.L.E. Azzini and P.J. Brookhouzen. 1986. Inheritance of semidwarf and other useful mutant genes in rice. In: Rice genetics. Proceeding of the International Rice Genetic Symposium, 27-31 1985. pp:261-271.
- Shu, Q., D. Wu and Yoxia. 1997. The most widely cultivated rice variety, ZHEFV 802, in China and its genealogy. *Mutation Breeding Newsletters*. **43**:3-5.
- Tsai, K.H. 1991. Genes for late heading and their interaction in the background of Taichung 65. In: Rice

- genetice II. Proceeding of the Second International Rice Genetic Symposium, 14-18 1990. pp: 211-215.
- Ying, C.S. 1986. New varieties derived from BG 90-2. Rice Research Newsletters. **11(1)**:4.
- Wen, X. and L. Qu. 1996. Crop improvement through mutation techniques in Chines agriculture. Mutation Breeding Newsletters. **42**:3-6.

Induction of earliness and awnless mutants in rice (*Oryza sativa* L.) Domsiah cultivar

M. Isfahani¹ and M.H. Fotokian²

ABSTRACT

Domsiah is one of local rice cultivar with best quality in Iran, but it is nearly late with long awn. This study was conducted to induce earliness and awnless characteristics in Domsiah cultivar from 1995 to 1999. The seeds were irradiated with gamma rays at 100, 200 and 300 Gray, and Dimethyl Sulfate (DMS) at 0.1%, 0.2% and 0.3% (for 24 hrs. in room temperature), separately. At the end of first year of study, main panicles of some randomly selected plant were harvested and planted at M₂ generation as a panicle-to-row. Results showed no significant variation among the DMS treatments, hence these treatments were removed from the study. Four early mutant populations (E₁ to E₄) were obtained from treatments of gamma rays at M₂ generation. These mutant populations showed segregation for maturity. Meanwhile, the E₁ population showed segregation for awnless. The plant height, culm number, maturity and panicle length were studied in mutant lines at M₃ generation. The E₃ line was 15 days earlier than control at M₄ generation. The plant height of this line was significantly different compared to control, the awnless mutant line was also shorter and earlier. In order to study some morphological characteristics and yield at M₅ generation, the E₃ and awnless mutant lines were planted in randomized completed block design with three replications in Rasht and Tonekabon in 1999 and 2000. The characteristics under study were included: plant height, culm number, peduncle, second internode length, flag leaf length and width, days to panicle emergence (DPE), days to maturity (DMA), panicle length, grain length and width, spikelet fertility, grain no. per panicle, grain yield, 100-grain weight, amylose (%), gel consistency and gelatination temperature. There were no significant differences in second internode length, DPE, spikelet fertility, amylose %, gel consistency and gelatination temperature. Generally, the correlation coefficient between DPE and DMA in rice is positive and significant, however, it was found non significant in this study. Because of highly significant correlation (r = 0.7**) between yield and 100-grain weight, it is possible to improve grain yield through 100-grain weight. Although, there was not a significant difference between early mutant and awnless lines in DMA, however, 100 grain weight and no. of grain per panicle in awnless mutant line were higher than in early mutant line. These two mutant lines has significant difference for DMA compared to control i.e. they were 13 days earlier than control.

Key words: Rice, Mutation, Gamma rays, Dimethyl Sulfate (DMS), Awnless.

1- Assist. Prof. Gilan Univ. Rasht, Iran.

2- Faculty member, Shahed Univ. and Ph.D. student (biometrical genetic), Tehran Univ, Iran.