Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 53, No 4, Winter 2023 (881-890)
DOI: 10.22059/ijhs.2022.332903.1979

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۴۰۱ (ص ۸۹۰-۸۸۱)

نشریه پژوهشی:

ارزیابی برخی ویژگی‌ها در لاین‌های جهش‌یافته نسل چهارم خرفه (*Portulaca oleracea* L.) حاصل از تیمار با دی متیل سولفات

مریم نصرالهی پری[۱] و محمدحسین فتوکیان[۲*]
۱ و ۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۱۹)

چکیده

القای جهش ازجمله روش‌های مهم ایجاد تنوع ژنتیکی است. خرفه به دلیل محتوای بالای آنتی‌اکسیدان‌های مفید و اسیدهای چرب امگا-۳، مصارف داروئی منحصربه‌فردی دارد. در این تحقیق، تنوع ژنتیکی ۲۴ لاین جهش‌یافته نسل چهارم (M_4) خرفه حاصل از تیمار با دی متیل سولفات به همراه شاهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بررسی شد. تفاوت بین لاین‌ها ازنظر ارتفاع گیاه، طول برگ، عرض برگ، شکل برگ، وزن خشک ساقه، و شاخص سبزینگی برگ در گیاه ۳۰ روزه معنی‌دار بود. تجزیه مختصات اصلی و تجزیه خوشه‌ای، لاین‌ها را در دو خوشه مجزا گروه‌بندی کرد. لاین‌های خوشه یک ازنظر بیشتر صفات مانند وزن تر ساقه و برگ و تعداد کپسول نسبت به لاین‌های خوشه دو برتری معنی‌دار داشتند. صفت تعداد برگ با وزن تر ساقه، وزن تر برگ، وزن تر گیاه، تعداد کپسول و نسبت وزن خشک به وزن‌تر گیاه به‌طور معنی‌دار همبستگی داشت. در تجزیه علیت مراتبی، وزن تر ساقه در مرتبه نخست تنها صفت مؤثر بر تعداد کپسول بود و در مرتبه دوم، وزن تر برگ و ارتفاع گیاه مهم‌ترین صفاتی بودند که از طریق اثر مستقیم بر وزن تر ساقه، بر روی تعداد کپسول تأثیر داشتند. لاین جهش یافته L18 از نظر برخی صفات مهم زراعی مانند ارتفاع گیاه، طول برگ و تعداد کپسول در بوته نسبت به شاهد برتری معنی‌دار داشت که می‌توان از آن برای تحقیقات آتی به‌خصوص برای اصلاح گیاه خرفه باهدف تجاری‌سازی و کاشت وسیع برای مصارف ازجمله سبزی، استحصال روغن، و همچنین کاربردهای داروئی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اجزای واریانس، القای جهش، تجزیه مختصات اصلی، تجزیه علیت ترتیبی.

Evaluation of some characteristics of the fourth generation of common purslane (*Portulaca oleracea* L.) mutated from treatment with dimethyl sulfate

Maryam Nasrollahi Pari[1] and Mohammad Hossein Fotokian[2*]
1, 2. Graduated M. Sc. Student and Associate Professor, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
(Received: Oct. 06, 2021- Accepted: June 09, 2022)

ABSTRACT

Mutation induction is an important method for generating genetic diversity. Purslane (*Portulaca oleracea* L.*)* has unique medicinal uses due to its high content of beneficial antioxidants and omega-3 fatty acids. In this study, the genetic diversity of 24 mutant lines of fourth-generation (M_4) purslane obtained from dimethyl sulfate treatment together with the control was investigated in a randomized complete block design with 3 replicates. The differences among the lines were significant in traits including plant height, leaf length, leaf width, stem dry weight, and leaf chlorophyll in the 30-day-old plant. The principal coordinates and cluster analyses divided the lines into two separate clusters. The lines in cluster 1 had a significant advantage over the lines in cluster 2 for most traits such as stem fresh weight, leaf fresh weight, and number of capsules per plant. The number of leaves was significantly correlated with stem fresh weight, leaf fresh weight, plant fresh weight, number of capsules per plant and the ratio of plant dry weight to plant fresh weight. In sequential path analysis, stem fresh weight in the first order was the only trait affecting number of capsules per plant, and in the second-order, leaf fresh weight and plant height were the most important traits that had an effect on number of capsules per plant through the direct effect of stem fresh weight. L18 mutant line had a significant advantage over the control in some agronomic traits such as plant height, leaf length and number of capsules per plant, that can be used for future research, especially for cultivation, commercialization and extensive planting for uses as vegetables, oil extraction, and medicinal applications.

Keywords: Mutation induction, principal coordinate analysis, sequential path analysis, variance components.

* Corresponding author E-mail: fotokian@shahed.ac.ir

مقدمه

خرفه (*Portulaca oleracea* L.) گیاهی یک‌ساله، چهارکربنه و از خانواده خرفه‌ایان (Portulaceae) است که دارای بوته‌های علفی، خوابیده و گوشتی است (Hosseinzadeh *et al.,* 2020). این گونه خودگشن و پلی‌پلوئید (2n=6x=54) می‌باشد (Walter *et al.,* 2015). خرفه در بسیاری از کشورها به‌عنوان سبزی کشت می‌شود (Nemzer *et al.,* 2020). این گیاه دارای توزیع گسترده‌ای است به‌طوری‌که به‌عنوان یک علف هرز مطرح می‌شود (Xiang *et al.,* 2005). گیاه خرفه در سازمان بهداشت جهانی به‌عنوان پرکاربردترین گیاه دارویی جهان شناخته شده است به‌طوری‌که به آن لقب اکسیر جهانی (Global Panacea) داده شده است (Sultana & Rahman, 2013). علاوه بر این، تحقیقات فیتوشیمیایی حضور فلاونوئید، آلکالوئید، ترپنوئید، اسید ارگانیک، اسیدهای چرب، مواد معدنی و ویتامین‌ها را در این گیاه نشان داده است (Zhou *et al.,* 2015; Alahbakhsh *et al.,* 2020). این گیاه دارای طیف گسترده‌ای از اثرات دارویی، ازجمله ضد باکتری (Hashemi *et al.,* 2018)، ضد درد و التهاب، آرام‌بخش عضله اسکلتی (Hajzadeh *et al.,* 2004)، محافظت کبدی (Karimi, 2018) و آنتی‌اکسیدانی (Hesarinejad *et al.,* 2021)، بیماری‌های دستگاه گوارش، مشکلات تنفسی (Wainstein *et al.,* 2016)، کلیه‌ها و زخم‌های مثانه (Iranshahy *et al.,* 2017)، تب و بی‌خوابی، و سردرد (Hamedi *et al.,* 2019) است.

به‌طور عمومی، برنامه‌های بهنژادی به تنوع و گزینش وابسته هستند (Kakaei, 2018). در گیاهان، تنوع ژنتیکی از طریق طبیعی و یا مصنوعی به وجود می‌آید. در مقایسه با تنوع مصنوعی، تنوع طبیعی از فراوانی و سرعت پائین‌تر برخوردار است، از این رو، به‌نژادگر از تنوع مصنوعی استفاده می‌کند (Hosseinava & Hajnajari, 2008). تنوع مصنوعی را می‌توان از طرق مختلف مانند دورگ‌گیری، القای جهش، پلی‌پلوئیدی، کشت بافت و استفاده از فنون مهندسی ژنتیک ایجاد نمود (Shah Mohammadi, 2016). برای القای جهش از مواد فیزیکی و شیمیایی استفاده می‌شود. از عوامل شیمیایی می‌توان به دی متیل سولفات (Dimethyl sulfate, DMS) اشاره کرد که سبب متیلاسیون بازها می‌شود (Fotokian, 1992). قلمه‌های نیمه خشبی ارقام تجاری زیتون در یک تحقیق تحت غلظت‌های متفاوتی از جهش‌زای دی اتیل سولفات قرار گرفتند و مشخص شد که غلظت ۰/۰۳ درصد در رقم روغنی موجب تغییرات ریخت‌شناسی به ویژه ارتفاع نهال و تولید گیاهان پاکوتاه شده و بنابراین پیشنهاد کردند که امکان تولید جهش یافته در زیتون با استفاده از مواد شیمیایی جهش‌زا وجود دارد (Hosseinava & Hajnajari, 2008). در تحقیقی تنوع ژنتیکی در لاین‌های خرفه تیمار شده با دی متیل سولفات در غلظت‌های صفر، ۰/۰۸، ۰/۱، ۰/۱۲، ۰/۱۴ درصد مطالعه و گزارش شد که بیشینه اکثر صفات در غلظت ۰/۱ درصد بدست می‌آید (Fotokian & Feizi Kelasi, 2020). استفاده از جهش‌زای اتیل متان سولفونات در گیاه نعناع فلفلی در نمونه‌های کشت بافت و در بوته‌های تیمار شده در مزرعه باعث تحریک و رشد سریع جوانه‌های جانبی و در نتیجه افزایش سطح و عملکرد گیاه شد (Rajabi *et al.,* 2016). در تحقیقی در کلزا، با استفاده از پرتو گاما تعداد ۹۶ لاین جهش یافته بدست آمد که لاین جهش یافته Z-800-6 با ۵۲۷۷ کیلوگرم دانه در هکتار به‌عنوان لاین برتر تعیین شد (Ahmadi *et al.,* 2017). در تحقیقی اثر اشعه گاما در قلمه‌های خرفه به‌منظور ایجاد جهش بررسی شد و تغییرات واضحی در رنگ برگ‌ها و گل‌ها مشاهده شد (Tangsombatvichit *et al.,* 2008).

هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی در لاین‌های نسل چهارم خرفه تیمار شده با ماده جهش‌زای دی متیل سولفات بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و صفات مورد مطالعه

مواد گیاهی شامل ۲۴ لاین نسل چهارم خرفه تیمار شده با ماده جهش‌زای دی متیل سولفات (برگرفته از نتایج تحقیق Fotokian & Feizi Kelasi, 2020) به همراه یک ژنوتیپ شاهد بود. ژنوتیپ‌ها در مزرعه

تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد (عرض جغرافیایی ˚۳۱ و ´۳۶، طول جغرافیایی ˚۴۸ و ´۵۵۳، میانگین سالیانه بارندگی ۲۱۶ میلی‌متر، ارتفاع از سطح دریا ۱۰۵۰ متر) با استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در اردیبهشت سال ۱۳۹۹ کشت و ارزیابی شدند. در هر واحد آزمایشی، بذور بر روی پشته‌هایی (سه پشته) به طول سه متر کشت شدند. فاصله بین پشته ها ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. عملیات داشت مانند آبیاری (بر حسب نیاز)، مبارزه دستی با علف‌های هرز و کودپاشی (۱۵۰ کیلوگرم اوره در هکتار) نیز در طول رشد گیاه انجام گرفت. برای اندازه‌گیری صفات (بجز ارتفاع گیاه و شاخص سبزینگی که در بوته‌های ۳۰ و ۵۰ روزه اندازه‌گیری شدند)، زمانی که ۵۰ درصد کپسول حاوی بذر قابل‌برداشت بود، پنج بوته در حال رقابت از قسمت میانی هر واحد آزمایشی به‌صورت تصادفی انتخاب و صفات مورد مطالعه اندازه‌گیری شدند (Fotokian, & Feizi Kelasi, 2020). شاخص سبزینگی برگ به روش غیرتخریبی و با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD, model 502PLUS, Konica, Japan) اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه آماری داده‌ها شامل تجزیه واریانس چندگانه و ساده، آزمون مقایسه میانگین (توکی)، تجزیه مختصات اصلی، تجزیه خوشه‌ای، همبستگی پیرسون و تجزیه علیت با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۵، SAS نسخه ۹ و Minitab نسخه ۱۹ انجام شد. در تجزیه خوشه‌ای از ضریب مربع فاصله اقلیدوسی برای برآورد فاصله ژنتیکی بین لاین‌ها و از روش پیوستگی کامل برای ترسیم دندروگرام استفاده شد. برآورد ضریب تغییرات ژنتیکی و ریخت‌شناسی و وراثت‌پذیری عمومی بر اساس امید ریاضی میانگین مربعات تیمار (Pahlavani *et al.*, 2011; Mohammadi, *et al.,* 2020) در نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۶ انجام گرفت. برای مطالعه تجزیه علیت، از رگرسیون چندگانه با روش رگرسیون گام‌به‌گام (Stepwise) استفاده شد و در آن فرضیات تجزیه رگرسیون چندگانه شامل مستقل بودن خطاهای آزمایشی (آزمون دوربین-واتسون)، نرمال بودن خطای آزمایشی، وجود و یا عدم وجود هم‌راستایی و داده‌های پرت مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی

آماره‌های توصیفی صفات اندازه‌گیری‌شده در لاین‌های مورد مطالعه در جدول ۱ ارایه شده است. ضریب تغییرات معیاری است که تغییرات داده‌ها را نسبت به میانگین توصیف می‌کند. ضریب تغییرات به‌گونه‌ای برآورد می‌شود که مقادیر در مقیاس بدون واحد باشند و به دلیل این تعدیل، می‌توان از ضریب تغییرات به‌جای انحراف استاندارد برای مقایسه تنوع داده‌هایی که دارای واحدهای مختلف هستند استفاده کرد. بر این اساس، ضریب تغییرات کم برای صفت شاخص سبزینگی برگ در گیاه ۳۰ روزه نشان داد، تنوع مشاهده‌شده برای این صفت نسبت به سایر صفات کمتر بود.

جدول ۱. آماره‌های توصیفی صفات اندازه‌گیری شده در لاین‌های M_4 خرفه.

Table 1. Descriptive statistics of measured traits in the M_4 lines of purslane.

	Minimum	Maximum	Mean ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)	Variance	CV%
Plant height in 30-day-old plant (cm)	21.00	45.00	30.2±0.61	18.45	14.22
Plant height in 50-day-old plant (cm)	45.00	89.00	62.25±1.32	87.01	14.99
Plant diameter (mm)	104.50	188.00	147.73±2.99	447.84	14.33
Number of leaves	227.00	1984.00	872.69±59.8	178831.21	48.46
Leaf length (mm)	23.20	49.33	38.51±0.74	27.65	13.66
Leaf width (mm)	11.40	26.60	18.85±0.42	8.93	15.85
Stem fresh weight (g)	55.00	566.00	228.74±16.63	13825.91	51.40
Leaf fresh Weight (g)	20.00	306.00	92.6±8.01	3206.94	61.16
Stem dry weight (g)	5.92	76.75	28±2.19	240.22	55.36
Leaf dry weight (g)	1.36	20.57	6.9±0.55	15.12	56.39
Number of capsules in Plant	14.00	299.00	89.55±8.78	3855.58	69.34
Leaf chlorophyll in 30-day-old plant (unit)	28.30	48.80	41.43±0.48	11.64	8.23
Leaf chlorophyll in 50-day-old plant (unit)	23.00	69.20	43.73±0.99	49.24	16.05
Number of lateral stems	14.00	27.00	22.87±0.45	9.99	13.82

تجزیه واریانس چندمتغیره و ساده (MANOVA & ANOVA)

در تجزیه واریانس چندمتغیره (نتایج ارایه نشده است)، بر اساس چهار آماره Pillai's Trace و Roy's Largest Root و Wilks' Lambda، تفاوت بین لاین‌ها برای همه صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مشابهی در تجزیه واریانس چندمتغیره صفات در نسل $M_۲$ خرفه حاصل از تیمار با ماده جهش‌زای دی متیل سولفات توسط فتوکیان و فیضی کلاسی گزارش گردید (Fotokian & Feizi Kelasi, 2020). واریانس بین لاین‌ها برای صفات ارتفاع گیاه، طول و عرض برگ، وزن خشک ساقه، و شاخص سبزینگی برگ در گیاه ۳۰ روزه معنی‌دار بود و در بقیه صفات معنی‌دار نبود (جدول ۲). در یک تحقیق بر روی لاین های نسل دوم خرفه که با دی متیل سولفات تیمار شده بودند صفات فوق غیرمعنی‌دار گزارش شدند (Rahimi, 2018). حداکثر وراثت‌پذیری عمومی و ضریب تنوع ژنوتیپی در ارتفاع گیاه ۳۰ روزه و حداقل آنها در وزن تر ساقه برآورد شد (جدول ۲).

نتایج مقایسه میانگین صفات معنی‌دار شده، در جدول ۳ ارایه شده است. لاین L18 از نظر رشد رویشی (بویژه ارتفاع بوته) نسبت به بقیه لاین‌ها برتر بوده و در مطالعات بعدی شامل آزمون عملکرد و سازگاری، در راستای معرفی شدن به عنوان رقم جدید می‌تواند ارزیابی شود.

تجزیه مختصات اصلی

تجزیه مختصات اصلی در حقیقت نوعی تجزیه به مؤلفه‌های اصلی است که در آن از ماتریس فاصله بین ژنوتیپ‌ها به‌عنوان داده‌ها استفاده می‌شود (Farahani & Arzani, 2008). در این مطالعه، از ماتریس مربع فاصله اقلیدسی برای تجزیه مختصات اصلی استفاده شد. بر اساس نتایج مختصات اصلی اول ۶۱/۲۹٪ و مختصات اصلی دوم ۱۷/۵۴٪ از تغییرات را توجیه نمودند (شکل ۱). همچنین، ۲۵ لاین خرفه در دو گروه قرار گرفتند. گروه یک متشکل از لاین‌های، L4_1،L11 و L18 بود و سایر لاین‌ها به همراه شاهد در گروه دو قرار گرفتند. به‌طور مشابه، در تحقیقی با استفاده از تجزیه مختصات اصلی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی در ۳۰ ژنوتیپ منتخب گندم دوروم بررسی شد (Farahani & Arzani, 2008).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات در لاین‌های $M_۴$ خرفه.

Table 2. Results of variance analysis of traits in the M_4 lines of purslane.

Source of variation	df	Mean of squares							
		PH30	PH50	PD	NL	LL	LW	SFW	LFW
Replication	2	81.92**	68.84^{ns}	13.11^{ns}	0.82^{ns}	21.87^{ns}	0.31^{ns}	0.72^{ns}	0.22^{ns}
Line	24	32.58**	126.54*	498.33^{ns}	0.48^{ns}	44.39**	16.65**	0.25^{ns}	0.23^{ns}
Error	48	1.67	48.23	415.46	0.43	11.15	1.56	0.23	0.15
Variance components	Genetical	15.46	39.16	41.43	0.03	16.62	7.54	0.01	0.04
	Environmental	0.84	24.12	207.73	0.21	5.58	0.78	0.12	0.08
	Morphological	16.29	63.27	249.16	0.24	22.20	8.32	0.13	0.11
Genotypic coefficient of variation (%)		13.02	10.05	4.36	3.00	10.59	14.57	2.85	6.37
Phenotypic coefficient of variation (%)		13.37	12.78	10.68	9.22	12.23	15.31	9.42	11.21
Broadsense heritability (%)		94.87	61.88	16.63	10.60	74.87	90.61	9.19	32.34

*، ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار.

*, **, ns: Significantly difference at 5 and 1% of probability levels, and non-significantlt difference, respectively.

ادامه جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات در لاین‌های $M_۴$ خرفه.

Continued table 2. Results of variance analysis of traits in the M_4 lines of purslane.

Source of Variation	df	Mean of squares					
		SDW	LDW	NC	Chl30	Chl50	NLS
Replication	2	0.33*	0.08^{ns}	1.28*	0.39^{ns}	165.44*	0.38^{ns}
Line	24	0.13*	0.06^{ns}	0.21^{ns}	20.61**	56.33^{ns}	11.69^{ns}
Error	48	0.07	0.04	0.24	3.14	37.31	8.68
Variance components	Genetically	0.033	0.012	0.015	8.73	9.51	1.50
	Environmental	0.033	0.018	0.119	1.57	18.66	4.34
	Morphological	0.067	0.030	0.134	10.30	28.16	5.85
Genotypic coefficient of variation (%)		8.18	6.84	4.14	7.13	7.05	5.36
Phenotypic coefficient of variation (%)		11.57	10.97	12.36	7.75	12.14	10.57
Broadsense heritability (%)		49.96	38.96	11.23	84.77	33.76	25.74

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوتمعنی‌دار.

*, **, ns: Significantly difference at 5 and 1% -of probability levels, and non-significantly difference, respectively.

PH30 Plant Height in 30-day-old plant, *PH50* Plant Height in 50-day-old plant, *PD* Plant Diameter, *NL* Number of Leaves, *LL* Leaf Length, *LW* Leaf Width, *SFW* Stem Fresh Weight, *LFW* Leaf Fresh Weight, *SDW* Stem Dry Weight, *LDW* Leaf Dry Weight, *NC* Number of Capsules in Plant, *Chl30* Leaf Chlorophyll in 30-day-old plant, *Chl50* Leaf Chlorophyll in 50-day-old plant, *NLS* Number of Lateral Stems.

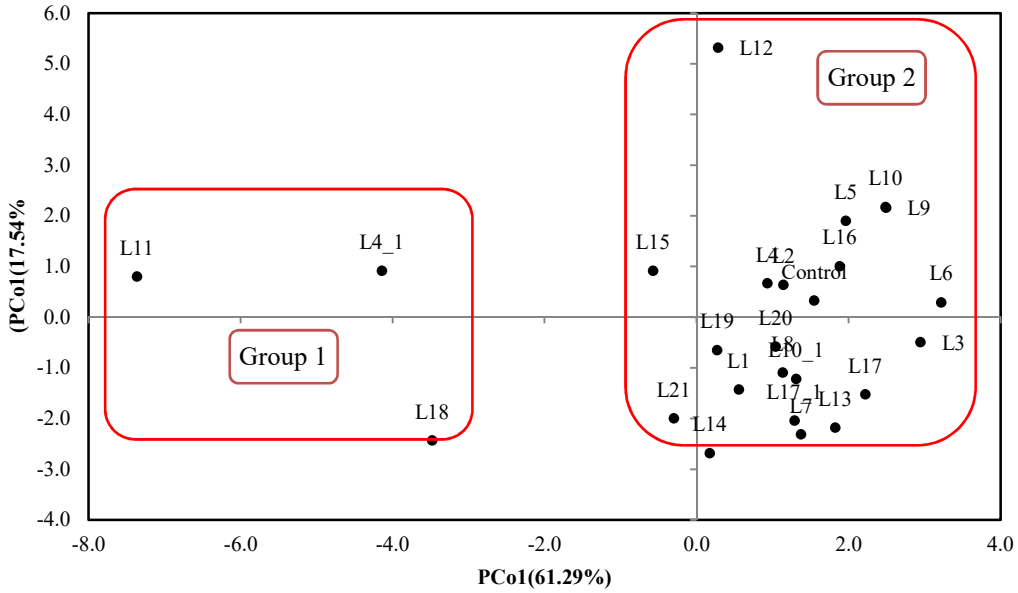
جدول ۳. مقایسه میانگین صفات ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) در لاین‌های M_4 خرفه.

Table 3. Mean comparison of traits ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) in the M_4 lines of purslane.

M_4 Line	PH30	PH50	LL	LW	SDW	Chl30
Control	32.5±2.5^{cdef}	65.67±2.67^{bcdef}	30.89±0.8^{f}	23.57±0.47^{b}	18.67±1.2^{cde}	41.9±1.1^{cdefgh}
L1	34±1^{bc}	67±4^{bcde}	38.35±0.45^{bcde}	17.55±0.05^{fghi}	29.52±10.92^{abcde}	43.65±2.55^{abcd}
L2	28.5±0.5^{hijk}	59.75±6.75^{cdefgh}	39.2±1.4^{bcd}	17.7±0.1^{efghi}	31.34±5.03^{abcde}	31.3±3^{j}
L3	32.5±2.5^{cdef}	52.5±3.5^{fgh}	37±0.8^{bcdef}	17.4±0.6^{fghi}	23.68±1.49^{bcde}	42.35±1.45^{bcdefg}
L4	27±0.002^{k}	59.5±3.5^{cdefgh}	40.3±2.1^{bcd}	19±1.8^{defg}	43.68±13.43^{abc}	38.25±1.25^{hi}
L4_1	30.5±0.5^{efghi}	76.5±7.5^{ab}	33.7±0.1^{def}	16.8±0.6^{ghi}	65.09±11.67^{a}	45.9±0.7^{ab}
L5	33±0.0003^{bcde}	66.5±5.5^{bcdef}	49.27±0.07^{a}	23.4±0.2^{b}	21.75±3.48^{bcde}	39.1±0.0001^{ghi}
L6	29±1^{ghijk}	55.5±0.5^{efgh}	39.68±0.08^{bcd}	20.23±0.03^{cde}	22.82±10.1^{bcde}	39.75±0.65^{efghi}
L7	31.5±1.5^{cdefg}	60.5±1.5^{cdefgh}	36.45±0.05^{bcdef}	18.55±0.05^{efg}	13.29±6.74^{e}	43.25±0.75^{bcde}
L8	29±1^{ghijk}	58±2^{defgh}	48.7±0.1^{a}	21.65±0.05^{bc}	12.42±1.75^{e}	40.95±0.65^{defgh}
L9	26.5±1.5^{k}	63.5±5.5^{bcdefh}	38.15±0.05^{bcde}	19.45±0.05^{cdef}	37.4±9.55^{abcd}	39.7±1.5^{efghi}
L10	26.5±1.5^{k}	55.5±1.5^{efgh}	39.75±0.05^{bcd}	18.35±0.05^{efg}	42.68±17.01^{abc}	41.8±0.6^{cdefgh}
L10_1	27.5±2.5^{jk}	50±5^{h}	39.55±0.05^{bcd}	18.4±0^{efg}	24.49±14.07^{bcde}	44.25±1.85^{abcd}
L11	27±1^{k}	50.5±4.5^{gh}	43.05±0.05^{ab}	26.55±0.05^{a}	27.34±1.57^{bcde}	41.4±1.3^{cdefgh}
L12	27.5±3.5^{jk}	57±2^{defgh}	41.55±0.05^{bc}	21.45±0.05^{bcd}	50.48±3.75^{ab}	42.2±0.3^{cdefg}
L13	26.5±1.5^{k}	57.5±1.5^{defgh}	36.8±2.6^{bcdef}	15.6±0.2^{hij}	14.11±4.29^{e}	46.95±1.85^{a}
L14	28.5±1.5^{hijk}	65±2^{bcdef}	30.2±7^{f}	17±0.8^{fghi}	15.12±8.14^{e}	42.85±0.25^{bcdef}
L15	23.5±2.5^{l}	61.5±7.5^{cdefgh}	41.65±0.05^{bc}	21.55±0.05^{bcd}	28.45±4.85^{abcde}	36.75±1.65^{i}
L16	32.5±1.5^{cdef}	62.75±3.25^{bcdefh}	35.3±1.3^{cdef}	18.1±0.1^{efgh}	28.05±12.28^{bcde}	39.2±0.5^{fghi}
L17	33.5±1.5^{bcd}	55.5±5.5^{efgh}	39.4±2.4^{bcd}	17.6±1.6^{fghi}	16.96±11.04^{de}	41.65±0.35^{cdefgh}
L17_1	28±0.00042^{ijk}	64.5±4.5^{bcdefg}	31.6±7.8^{ef}	13.4±2^{j}	13.13±4.14^{e}	44.95±0.05^{abc}
L18	43.5±1.5^{a}	83.5±5.5^{a}	43.1±0.1^{ab}	17.75±0.05^{efghi}	25.31±11.66^{bcde}	42.8±0.5^{bcdef}
L19	30±0.00032^{fghij}	70±9^{abcd}	39.1±2.1^{bcd}	16.9±0.7^{fghi}	38.82±13.08^{abc}	41.75±0.95^{cdefgh}
L20	35.5±0.5^{b}	64.5±10.5^{bcdefg}	34.3±0.1^{def}	17.85±0.05^{efghi}	28.89±2.8^{abcde}	43.95±0.05^{abcd}
L21	31±1^{defgh}	73.5±0.5^{abc}	35.7±2.9^{cdef}	15.43±2.63^{ij}	26.48±5.83^{bcde}	39.2±0.2^{fghi}

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی داری ندارند. اسم صفات در جدول ۲ ارایه شده است.

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly different. The names of the traits are presented in Table 2.



شکل ۱. تجزیه مختصات اصلی لاین‌های M_4 خرفه.

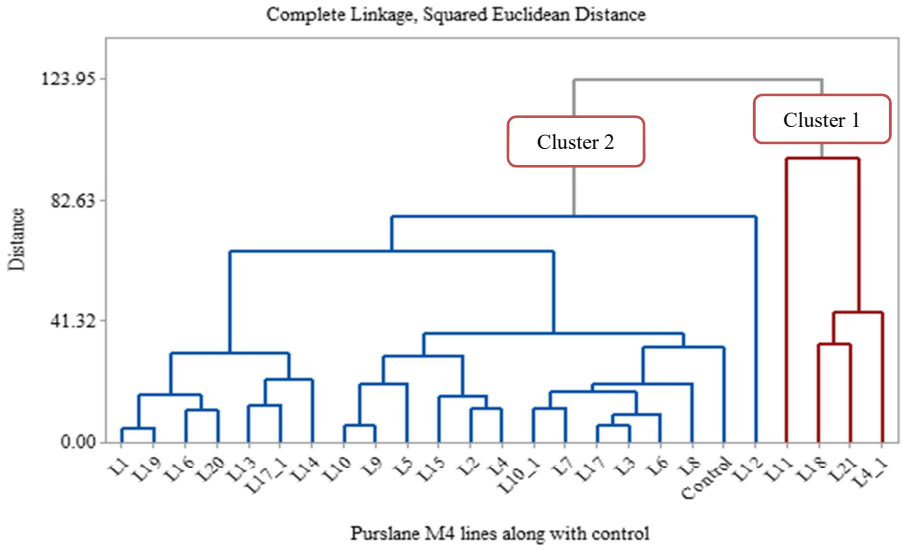
Figure 1. Principal Coordinates Analysis of the M_4 lines of purslane.

تجزیه خوشه‌ای

در تجزیه خوشه‌ای، لاین‌های M_4 خرفه در دو گروه تفکیک شدند (شکل ۲). خوشه یک متشکل از لاین‌های L4_1،L11،L18 و L21 بود و سایر لاین‌ها به همراه شاهد در خوشه دو قرار گرفتند. این نتیجه با نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه مختصات اصلی همخوانی بالایی داشت. کمترین فاصله (۴/۷ واحد نقشه) بین لاین‌های L1 و L19 و بیشترین فاصله (۱۲۳/۹۵ واحد نقشه) بین لاین‌های L11 و L12 برآورد شد.

نتایج تجزیه تابع تشخیص، گروه‌بندی حاصل از

تجزیه خوشه‌ای را کاملا تایید نمود. همچنین، بین دو خوشه ازنظر صفات ارتفاع گیاه ۵۰ روزه، قطر بوته، تعداد برگ، وزن‌تر ساقه، وزن‌تر برگ، وزن‌تر گیاه، تعداد کپسول و تعداد ساقه‌های جانبی اختلاف معنی‌دار وجود داشت و خوشه یک میانگین صفات بالاتری نسبت به خوشه دو داشت. بنابراین، از بین لاین‌های خوشه یک می‌توان لاین‌های برتر را انتخاب نمود (جدول ۴). همچنین، این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه میانگین صفات (جدول ۳) مطابقت بالایی داشت که در آن لاین L18 می‌تواند با داشتن ارتفاع بوته بیشتر و طول برگ بزرگ‌تر به‌عنوان لاین برتر معرفی شود. تجزیه‌خوشه‌ای ازجمله روش‌های آماری مرسوم در مطالعه تنوع ژنتیکی و بررسی تنوع ژنوتیپ‌های گیاهان زراعی و غیر زراعی است. در تحقیقی، تعداد ۷۰ ژنوتیپ کنجد با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در سه دسته مختلف گروه‌بندی و گزارش شد که اختلاف معنی‌دار در بین گروه‌ها برای صفات مختلف به‌جز تعداد روز تا رسیدگی وجود داشت و بنابراین پیشنهاد شد که از ژنوتیپ‌های گروه دوم به دلیل دارا بودن تعداد کپسول و عملکرد دانه بیشتر در برنامه‌های به‌نژادی استفاده شود (Nasiri & Saeidi, 2013).



شکل ۲. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های M_4 خرفه.

Figure 2. Dendrogram obtained from the cluster analysis of M_4 purslane lines.

جدول ۴. میانگین $(\bar{x} \pm s_{\bar{x}})$ خوشه‌های به‌دست‌آمده از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های M_4 خرفه.

Table 4. Mean $(\bar{x} \pm s_{\bar{x}})$ of clusters obtained from cluster analysis of the M_4 lines of purslane.

Traits	Mean $(\bar{x} \pm s_{\bar{x}})$		The difference between the two clusters
	Cluster 1 (4 members)	Cluster 2 (21 members)	
Plant height after 30 days (cm)	33±3.61	29.67±0.69	Ns
Plant height after 50 days (cm)	71±7.15	60.58±1.13	*
Plant diameter (mm)	167.11±7.41	144.04±2.9	**
Number of leaves	1233±244.81	804.06±53.12	*
Leaf length (mm)	38.89±2.45	38.44±1.05	Ns
Leaf width (mm)	19.13±2.52	18.79±0.54	Ns
Stem fresh weight (g)	383±50.46	199.36±10.76	**
Leaf fresh Weight (g)	161.38±41.22	79.5±5.37	**
Stem dry weight (g)	36.05±9.69	26.46±2.43	Ns
Leaf dry weight (g)	7.87±0.62	6.71±0.77	Ns
Number of capsules	151.25±8.26	77.8±7.29	**
Leaf chlorophyll in 30-day-old plant (unit)	42.33±1.4	41.26±0.72	Ns
Leaf chlorophyll in 50-day-old plant (unit)	39.36±2.4	44.56±1.11	Ns
Number of lateral stems	21.88±1.97	23.06±0.46	**

*، ** و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

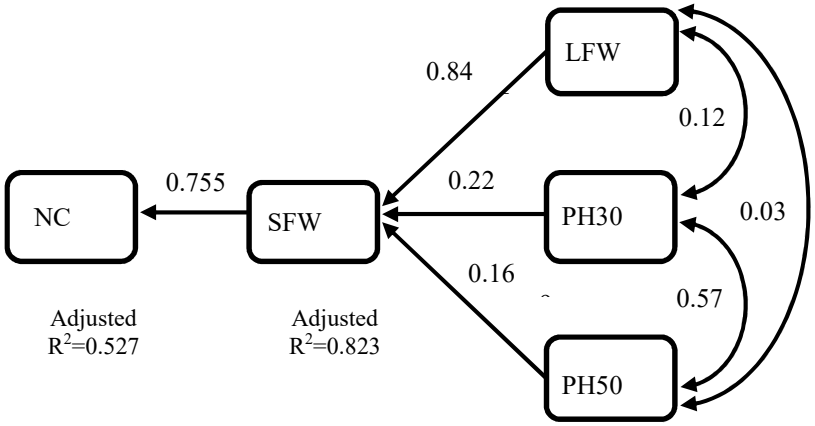
*, **, ns: Significantly difference at 5 and 1% of probability levels, and non-significantly difference, respectively.

تجزیه علیت

به‌منظور ترسیم نمودار علیت جهت بررسی روابط علت و معلول بین صفات، تجزیه رگرسیون چندمتغیره گام‌به‌گام در ابتدا برای تعداد کپسول در بوته به‌عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفت شد که فقط وزن تر ساقه اثر معنی‌دار داشت. در مرحله دوم وزن تر ساقه به‌عنوان متغیر وابسته و سایر صفات (به‌غیراز تعداد کپسول) به‌عنوان متغیرهای مستقل بررسی شدند (شکل ۳).

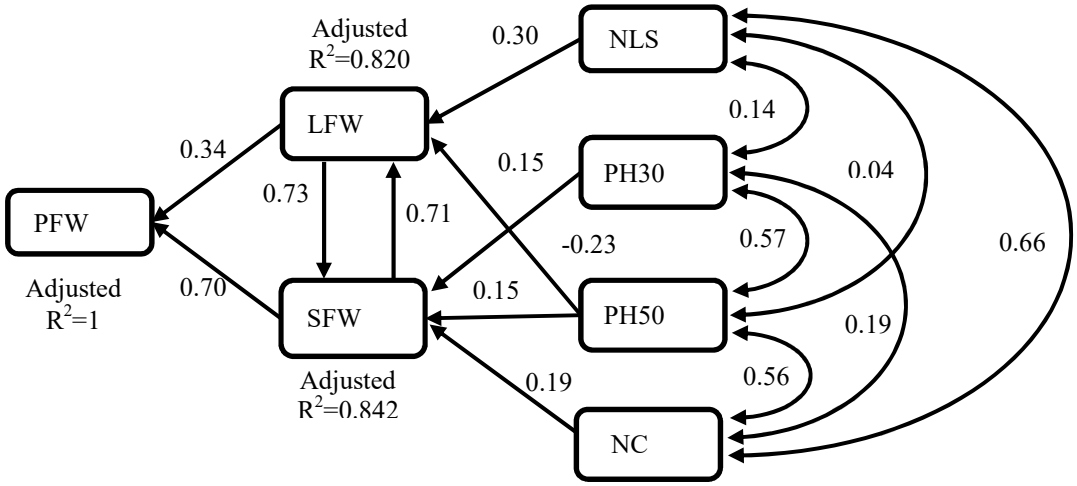
بررسی روابط رگرسیونی نشان داد که وزن‌تر ساقه با ضریب رگرسیون و اثر مستقیم معنی‌دار، تنها صفت با اثر معنی‌دار بر روی تعداد کپسول بود. بر اساس تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام برای صفت وزن تر ساقه، صفات وزن تر برگ، ارتفاع گیاه ۳۰ روزه و ارتفاع گیاه ۵۰ روزه به ترتیب با ضرایب رگرسیون استانداردشده معنی‌دار ۰/۸۴۵، ۰/۲۲، و ۰/۱۶۹ وارد مدل شدند (شکل ۳).

در روابط رگرسیون گام به گام وقتی که وزن تر گیاه (مجموع وزن تر ساقه و وزن تر برگ) به‌عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد، صفات وزن تر ساقه و وزن تر برگ تنها صفاتی بودند که اثرات مستقیم و معنی‌دار بر روی وزن تر گیاه داشتند. در اینجا نیز به‌منظور ترسیم نمودار علیت، از تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام برای وزن تر ساقه و وزن تر برگ به‌عنوان متغیرهای وابسته و سایر صفات (به‌غیراز وزن تر گیاه) به‌عنوان متغیرهای مستقل استفاده شد (شکل ۴). در تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام برای صفت وزن تر برگ، صفات وزن تر ساقه، تعداد برگ و ارتفاع گیاه ۵۰ روزه به ترتیب با ضرایب رگرسیون استاندارد شده معنی‌دار ۰/۷۱۲، ۰/۳۰، و ۰/۲۳- وارد مدل شدند (شکل ۴). در یک مطالعه با استفاده از تجزیه علیت روابط علی و معلولی بین صفات مطالعه شده در یک جمعیت جهش یافته خرفه بررسی و گزارش شد که صفات وزن تر ساقه، وزن خشک بوته، نسبت وزن خشک به وزن تر بوته، وزن تر برگ، ارتفاع گیاه و شکل برگ اثرات مستقیم و معنی‌دار بر روی صفت وزن تر بوته داشتند (Fotokian & Feizi Kelasi, 2020). بااین‌وجود، در مطالعه حاضر از روش تجزیه علیت مرتبه‌ای استفاده شد که نسبت به روش سنتی تجزیه علیت ارجحیت دارد. مزیت روش مسیر مرتبه-ای بر تجزیه و تحلیل مسیر معمولی در به حداقل رساندن مشکلات ناشی از هم‌خطی و شناسایی مشارکت واقعی هر جزء در اجزای مختلف مسیر است (Sabaghnia *et al.*, 2010). ازآنجاکه صفت تعداد کپسول می‌تواند یکی از صفات مهم خرفه برای برنامه‌های اصلاحی آینده تولید ارقام با تعداد کپسول بیشتر به‌منظور استحصال روغن از بذر باشد، بنابراین، یافته‌های این پژوهش به‌طور بالقوه می‌تواند مورداستفاده پژوهشگران و متخصصان اصلاح نباتات قرار گیرد.



شکل ۳. نمودار علیت ترتیبی برای صفت تعداد کپسول در لاین‌های M_4 خرفه. اسم صفات در جدول ۲ ارایه شده است.

Figure 3. Sequential path diagram for the number of capsules in M_4 purslane lines. The names of the traits are presented in Table 2.



شکل ۴. نمودار علیت ترتیبی برای صفت وزن‌تر گیاه در لاین‌های موتان M_4 خرفه. اسم صفات در جدول ۲ ارایه شده است.

Figure 4. Sequential path diagram for plant fresh weight in M_4 purslane lines. The names of the traits are presented in Table 2. PFW: Plant Fresh Weight

نتیجه‌گیری کلی

بسیاری از ارقام جدید تجاری پر محصول و یا دارای صفاتی خاص، در جهان به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق جهش به وجود آمده‌اند. مشخصات تعداد ۳۳۰۰ رقم جهش‌یافته در محصولاتی مانند غلات، حبوبات، دانه‌های روغنی، سبزی‌ها، میوه‌ها، گیاهان زینتی و لیفی در پایگاه آژانس بین‌المللی انرژی هسته‌ای (https://mvd.iaea.org) موجود است. متاسفانه هیچ گزارشی از جهش‌یافته خرفه در این سامانه ثبت نشده است. نتایج حاصل از تجزیه علیت، صفات با اثرات مستقیم و معنی‌دار بر روی دو صفت مهم ریخت شناختی یعنی وزن‌تر گیاه و تعداد کپسول را آشکار نمود که می‌تواند برای ساخت شاخص‌های انتخاب مورداستفاده واقع شوند. لازم است لاین‌های پیشرفته جهش یافته در کرت‌های بزرگ‌تر ازنظر عملکرد اندام سبز و بذر در قالب طرح آماری تکرار دار بررسی شوند. ازآنجاکه در بررسی تنوع ژنتیکی استفاده از شاخص‌های مبتنی بر ژنوم به دلیل تأثیرپذیری اندک از محیط بر شاخص‌های ریخت‌شناختی ارجحیت دارند، لذا ارجح است تنوع ژنتیکی لاین‌های جهش‌یافته با استفاده از نشانگرهای مولکولی نیز بررسی شده و همچنین کارایی ماده جهش‌زای دی متیل سولفات با دیگر عوامل جهش‌زا مانند اشعه گاما مقایسه شوند. تجزیه به مولفه های اصلی، مولفه‌هایی را که بیشترین تغییرات را توجیه نمودند مشخص کرد، این مولفه‌ها شامل وزن تر و خشک ساقه و برگ بودند. بنابراین، پیشنهاد می‌شود از صفات یاد شده در مطالعات خرفه مورد استفاده قرار گیرند. تجزیه‌های انجام‌شده در این تحقیق نشان داد که لاین L18 به دلیل خصوصیات منحصربه‌فرد ازنظر ریخت‌شناختی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. ازاین‌رو، نتایج این تحقیق استفاده از ماده جهش‌زای دی متیل سولفات را در ایجاد تنوع مصنوعی در گیاه خرفه برای اهداف اصلاحی موفق ارزیابی می‌کند. باید به خاطر سپرد که روش القای موتاسیون ابزاری در اصلاح گیاهان مختلف و همچنین خرفه بوده و موفقیت این روش بیشتر از طریق تلفیق با سایر روش‌های اصلاحی مانند گزینش، دورگ‌گیری و بیوتکنولوژی امکان‌پذیر خواهد بود (Rahimi, 2018).

REFERENCES

1. Ahmadi, M., Omidi, M., Alizadeh, B., & Shahnejat Bushehri, A.A. (2017). Evaluation of canola mutant lines (*Brassica napus* L.) comparing to their parents in order to select superior lines. *Modern Genetics Journal*, 12 (2), 157-166. (In Farsi).

2. Alahbakhsh, E., Galavi, M., Mosavi, M., & Mohkami, Z. (2020). Effects of irrigation regimes and fertilizer on oil percent and fatty acid composition leaf and seed purslane (*Portulaca oleraceae* L.) , *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51 (2), 375-386. (in Farsi).
3. Farahani, A., & Arzani, A. (2008). Investigation of genetic diversity of durum wheat genotypes by multivariate statistical analysis. *Crop Production (Electronic Journal of Crop Production)*, 1 (4), 51-64. (In Farsi).
4. Fotokian, M.H. (1992). *Investigation of the effects of gamma ray and dimethyl sulfate (DMS) on several varieties of rice.* M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture. Tabriz University, Tabriz, Iran.(in Farsi).
5. Fotokian, M.H., & Feizi Kelasi, N. (2020). Investigation of genetic diversity on M2 mutant lines of Purslane (*Portulaca oleracea*) derived through DMS mutagenes. *Journal of Crop Breeding*, 12 (34), 105-114. (In Farsi).
6. Hajzadeh, M.R., Rakhshandeh, H., Esmaeilizadeh, M., & Ghorbani, A. (2004). Analgesic and anti-inflammatory effects of *Portolaca oleracea* extracts in mice & rat. *Koomesh Journal*, 5 (3), 113-120.
7. Hamedi, S., Forouzanfar, F., Rakhshandeh, H., & Arian, A. (2019). Hypnotic Effect of *Portulaca oleracea* on Pentobarbital-Induced Sleep in Mice. *Current Drug Discovery Technologies*, 16 (2), 198-203.
8. Hashemi, B., Taghiloo, S., Allahmoradi, E., Karami, M., & Rahdar, H.A. (2018). Assessment of antibacterial effect of hydro-alcoholic extract of *Portulaca oleracea* on the human pathogen bacteria. *Journal of Sabzevar University of Medical Sciences,* 25 (3), 303-308. (In Farsi).
9. Hesarinejad, M.A., Abdollahi Moghaddam, M.R., Jafarzadeh, M., & Rezaee Oghazi, M. (2021). The study of physicochemical and antioxidant properties of encapsulated *Portulaca oleracea* aqueous extract prepared by spray drying method. *Innovative Food Technologies*, 8 (3), 325-335. (In Farsi).
10. Hosseinava, S., & Hajnajari, H. (2008). Preliminary study for possible producion of mutants using mutagenic chemical compunds in some olive (*Olea europea* L.) cultivars. *Seed and Plant Journal*, 24 (1), 33-43. (In Farsi).
11. Hosseinzadeh, M. H., Ghalavand, A., Boojar, M.M.A., Modarres-Sanavy, S.A.M., & Mokhtassi-Bidgoli, A. (2020). Effect of deficit irrigation, mycorrhiza and nitrogen nutrition system on some chemical properties of soil, oil content and biological yield of purslane (*Portulaca oleracea* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 51 (2), 29-48. (In Farsi).
12. Iranshahy, M., Javadi, B., Iranshahi, M., Jahanbakhsh, SP., Mahyari, S., Hassani, F.V., & Karimi, G. (2017). A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 158-172. (In Farsi).
13. Kakaei, M. (2018). Evaluation of allelic diversity using SDS-PAGE technique in leaf tissues of bread wheat. *Iranian Journal of Plant Biology*, 9 (4), 25-38. (In Farsi).
14. Karimi, A. (2018). Effect of purslane (*Portulaca oleracea*) on CRP, TNF-A, hepatic enzymes and serum nitrate in rats with experimental allergic encephalomyelitis. *The Quarterly Journal of Animal Physiology and Development,* 11 (4), 65-74. (In Farsi).
15. Mohammadi, S., Tabrizi, L., Shokrpour, M., Hadian, J., & Schulz, H. (2020). Study on general combining ability of morphological and phytochemical traits in different populations of *Thymus daenensis* in polycross test. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 51 (2), 295-305. (In Farsi).
16. Nasisir, F., & Saeidi, Gh. (2013). Evaluation of genetic diversity in breeding lines derived from native sesame cultivars. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10 (4), 659-666. (In Farsi).
17. Nemzer, B., Al-Taher, F., & Abshiru, N. (2020). Phytochemical composition and nutritional value of different plant parts in two cultivated and wild purslane (*Portulaca oleracea* L.) genotypes. *Food Chemistry*, 320, 126621.
18. Pahlavani, M.H., Nemati, M., & Faraji, A. (2011). *Quantitative and biometric genetic techniques in plant breeding*. Faraghi Publications in collaboration with Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Farsi).
19. Rahimi, F. (2018). *Evaluation of genetic diversity in M3 lines of purslane* (*Portulaca oleracea*), M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran. Iran. (in Farsi).
20. Rajabi, A., Gharib bolouk, S., Kazemitabar, SK., & Sinaki, J.M. (2016). Study of peppermint mutant plant traits using mutagen EMS mutagenesis. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 6 (24), 87-96. (In Farsi).
21. Sabaghnia, N., Dehghani, H., Alizadeh, B., & Mohghaddam, M. (2010). Interrelationships between seed yield and 20 related traits of 49 canola (*Brassica napus* L.) genotypes in non-stressed and water-stressed environments. *Spanish Journal of Agricultural Research*, (2), 356-370.
22. Shah Mohammadi, A. (2016). *The effect of different concentrations of dimethyl sulfate on purslane* (*Portulaca oleracea L.*). M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran. Iran (in Farsi).

23. Sultana, A., & Rahman, K. (2013). *Portulaca oleracea* L. A global Panacea with ethno-medicinal and pharmacological potential. *Internationa Journal of Pharmacy Pharmaceutical Sciences*, 5, 33-39.
24. Tangsombatvitchit, C., Wongpiyasatid, A., Jompuk, P., & Taychasinpitak, T. (2008). Effects of acute gamma irradiation on mutation from stem cuttings of *Portulaca oleracea* L. *Agricultural Science Journal*, 39(1), 55-64.
25. Wainstein, J., Landau, Z., Dayan, Y.B., Jakubowicz, D., Grothe, T., Perrinjaquet-Moccetti, T., & Boaz, M. (2016). Purslane extract and glucose homeostasis in adults with type 2 diabetes: A double-blind, placebo-controlled clinical trial of efficacy and safety. *Journal of Medicinal Food*, 19 (2), 133-140.
26. Walter, J., Vekslyarska, T., & Dobes, C. (2015). Flow cytometric, chromosomal and morphometric analyses challenge current taxonomic concepts in the *Portulaca oleracea* complex (Portulacaeae, Caryophyllales). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 179, 144-156.
27. Xiang, L., Xing, D., Wang, W., Wang, R., Ding, Y., & Du, L. (2005). Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. *Phytochemistry,* 66 (21), 2595-2601.
28. Zhou, Y-X., Xin, H-L., Rahman, K., Wang, S-J., Peng, C., & Zhan, H. (2015). *Portulaca oleracea* L.: A Review of phytochemistry and pharmacological effects. *BioMed Research International*, 2015:925631.10.1155/2015/925631.