



"مقاله پژوهشی"

بررسی ماهیت ژنتیکی لاین‌های جهش‌یافته برنج با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و آغازگرهای SSR همبسته با ژن برگرداننده باروری (Rf)

حمیده مهدی‌خانی^۱، قربانعلی نعمت‌زاده^۲، نادعلی باقری^۳ و عمار افخمی‌قادی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، (نویسنده مسئول: gh.nematzadeh@sanru.ac.ir)
۳- دانشیار دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴- کارشناس ارشد پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۸
صفحه: ۸۶ تا ۹۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: عملکرد ارقام هیبرید ۲۰ تا ۳۰ درصد نسبت به ارقام متداول بیشتر است. از طرفی مهمترین چالش برای اصلاحگران هیبرید بویژه در ایران، انتخاب ژنوتیپ‌های والدینی است که دارای ژن برگرداننده باروری بوده و نهایتاً منجر به هتروزیس شود. پژوهش حاضر با ارزیابی صفات ریخت‌شناسی ۱۹ ژنوتیپ برنج و همبستگی سه آغازگر مولکولی SSR مرتبط با ژن برگرداننده باروری Rf3 و Rf4 اجرا گردید.

مواد و روش‌ها: این ژنوتیپ‌ها در سال ۱۳۹۸ در مزرعه پژوهشی پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شد. صفات کمی و زراعی به ویژه عملکرد شلتوک ارزیابی شد. استخراج DNA با روش CTAP با کمی تغییر، از نمونه‌های برگ انجام گردید. از سه نشانگر SSR همبسته با دو ژن اصلی Rf3 شامل نشانگرهای RM490 و RM3148 و ژن Rf4 همبسته با نشانگر RM171 برای شناسایی ژن‌های برگرداننده باروری در برنج استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج مقایسات میانگین ژنوتیپ‌های برنج نشان داد که، ژنوتیپ P15-6 با ۱۱۸/۳۳ زودرس‌ترین و تمامی ژنوتیپ‌های خارجی با دوره رسیدگی ۱۵۰ روزه جزء دیررس‌ترین بوده است. بیشترین میزان عملکرد ژنوتیپ‌ها (بالای ۷۰۰ گرم در متر مربع) مربوط به ژنوتیپ‌های ندا، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1، P15-6، P12-5-3-3-2-2-1-1، P8-7-2-1-4-2-1-1 و P12-5-3-3-2-2-1-1 بوده که به دلیل داشتن تعداد پنجه بارور، تعداد خوشه بارور، وزن هزار دانه و باروری خوشه بالا بوده است. در نتایج تجزیه خوشه‌ای ارقام والدینی در سه گروه تفکیک شدند که در گروه اول (متوسط‌ساز)، طول خوشه بلند، تعداد دانه پر بالا، و طول دانه بلند) رقم جلودار، در گروه دوم (بیشترین باروری خوشه، وزن هزار دانه و عملکرد شلتوک بالا) رقم ندا به همراه چهار لاین دیگر و تمامی ارقام خارجی در گروه سوم (دیررس، طول دانه کوتاه و تراکم بالای دانه) قرار گرفته‌اند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، صفات مورد مطالعه را به چهار مؤلفه اصلی با مقادیر ویژه بالای یک تقسیم نمودند که مجموعاً ۸۲/۶۱ درصد تغییرات داده‌ها را توجیه نموده است که این چهار مؤلفه ارزش بیشتری داشته و ارتباط بین صفات را بیان می‌کند. در مجموع الگوی باندی سه نشانگر نشان داد ژنوتیپ‌های IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 65622-15-1-2-2-2-R و NSIC RC434 دارای ژن برگرداننده باروری بودند.

نتیجه‌گیری: جمع‌بندی هر ۳ نشانگر SSR نشان داد که ژنوتیپ‌های P9-7-1-1-1، P11-6-2-1-1-1، P14-1 و P15-2 با دو نشانگر RM3148، RM490، دارای ژن Rf3 هستند و هیچ از ژن‌های Rf4 را دارا نبوده و علت اینکه برخی ژنوتیپ‌ها با نشانگر RM3148 دارای ژن Rf تشخیص داده شده است ولی با نشانگر RM490 تشخیص داده نشد می‌تواند به دلیل کراس‌ینگ‌آور بین ژن مورد نظر و نشانگر باشد بنابراین ژنوتیپ‌هایی که دارای ژن برگرداننده باروری تشخیص داده شدند بعنوان لاین‌های برگرداننده باروری بوده و قابلیت بکارگیری در برنامه برنج هیبرید را دارند.

واژه‌های کلیدی: باروری خوشه، برنج هیبرید، تجزیه کلاستر، نشانگرهای مولکولی

مقدمه

کشت، گزینه بسیار مناسبی باشد (۳۴). عملکرد ارقام هیبرید ۲۰ تا ۳۰ درصد نسبت به ارقام معمولی بیشتر است (۱۴). مهمترین چالش برای اصلاحگران هیبرید بویژه در ایران، انتخاب ژنوتیپ‌های والدینی است که دارای ژن برگرداننده باروری بوده و نهایتاً منجر به هتروزیس شود (۲۹). یک ویژگی مهم در گزینش ژنوتیپ‌های والدینی برای رشد هیبریدهای هتروزیس، عملکرد است. بررسی روابط و تنوع ژنتیکی در برنامه‌های اصلاحی به منظور تولید برنج هیبرید موجب تسهیل در انتخاب والدین می‌شود (۱۱). بنابراین، از ضروریات تحقیق در فناوری برنج هیبرید انتخاب والدین مطلوب است. لاین A لاین نر عقیم است که به عنوان والد مادری در تولید بذر هیبرید تجاری استفاده می‌شود. متداول‌ترین روش اصلاح هیبرید، روش سه لاین است که در این روش لاین B، ایزوژن لاین A است که برای حفظ لاین A لازم است و بدون لاین B نمی‌توان لاین A را حفظ نمود. لاین R لاین نر بارور که از آن به عنوان والد پدری (والد گرده) استفاده می‌شود (۳). سروتی و همکاران (۲۷) در ارزیابی تنوع ژنتیکی ۹۶ لاین والدینی برنج هیبرید با بررسی

یکی از سه محصول مهم غذایی جهان بعد از گندم، برنج است که ۲۰ درصد از کالری مصرفی جهان را تأمین می‌کند (۲۰). باید حداقل عملکرد برنج برای پاسخ به تقاضای فزاینده غذا در جهان که حاصل رشد جمعیت و توسعه اقتصادی است سالانه ۱٪ افزایش یابد و برای تحقق این هدف به ارقامی با عملکرد بالا نیاز است (۱۲، ۲۱). برنج یک محصول متنوع است و به دلیل سازگاری با مناطق مختلف جغرافیایی، زیست محیطی و آب و هوایی، بیشتر برنج‌های جهان در آسیا کشت می‌شوند که بیش از نیمی از جمعیت جهان در آن زندگی می‌کنند (۱۷، ۳۶، ۲۵). به همین جهت، برای بهبود راندمان عملکرد و بهره‌وری در تولید آن، تنوع ژنتیکی و انتخاب والدین برتر دارای اهمیت شایانی است (۱۳). به نظر می‌رسد فناوری برنج هیبرید، کمک مهمی به تداوم امنیت غذایی در جهان کرده است (۳۲). برنج هیبرید نه تنها گزینه‌ای امیدوارکننده، پایدار و سازگار با محیط زیست می‌باشد بلکه به دلیل عملکرد بالایی که دارد برای حل مشکلاتی از جمله کمبود غذا، کاهش فقر و کمبود منابع از جمله اراضی زیر

والدینی در برنج هیبرید، هدف از این پژوهش، مطالعه ژنتیکی لاین‌های جهش‌یافته برنج با استفاده از صفات ریخت‌شناسی و آغازگرهای SSR همبسته با ژن برگرداننده باروری بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۱۹ ژنوتیپ برنج شامل ۱۳ لاین جهش‌یافته نسل دهم به همراه چهار ژنوتیپ برگرداننده باروری از مرکز بین‌المللی تحقیقات برنج ۱ و دو رقم نگهدارنده نرعیمی ندا و جلودار استفاده شده است (جدول ۱). لاین‌های جهش‌یافته، از طریق پرتودهی با دز ۲۰۰ گری اشعه گاما از منبع کبالت ۶۰ در پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای سازمان انرژی اتمی ایران ایجاد شده بودند و سپس (M1) در مزرعه پژوهشی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان وابسته به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری کشت و بعد از ۱۰ نسل خودکشتی، ابتدا با روش بالک تک‌بذر و در ادامه با روش شجره‌ای بر اساس خصوصیات مطلوب ریخت‌شناسی و زراعی گزینش شدند. ژنوتیپ‌های ندا A و جلودار A طی کارهای تحقیقاتی با توجه به وضعیت سیتوپلاسمی و ژن‌های نگهدارنده، بعد از چندین تلاقی برگشتی با لاین‌های نرعیمی بین‌المللی دارای ژن‌های نرعیمی بوده و در این پژوهش از دو رقم نگهدارنده به‌عنوان ارقام والدینی به کار گرفته شده است (۱۸،۴).

۱۲ صفت ریخت‌شناسی بیان کردند که لاین‌های والدینی به پنج گروه اصلی و ۱۳ زیر گروه طبقه‌بندی شدند. فتح‌تبار و همکاران (۹) در بررسی فنوتیپی ژن(های) اعاده‌کننده باروری در ۱۳۰ ژنوتیپ نسل دوم برنج حاصل از تلاقی IR67924R در ندا A بیان داشتند که تعداد ۸۰ ژنوتیپ بارور دارای باروری دانه‌گرده بالای ۷۰ درصد و تعداد ۱۶ ژنوتیپ بارور نیز دارای باروری خوشه بالای ۸۵ درصد بودند. آنان با استفاده از نشانگرهای SSR همچون RM171 و RM490 ژنوتیپ‌های برگرداننده باروری را از نگهدارنده عقیمی تفکیک نمودند. با شناسایی لاین‌های نگهدارنده نرعیمی و برگرداننده باروری از برخی ارقام بومی و اصلاح شده برنج گزارش گردید که رقم پرمحصول شیرودی دارای ژن مغلوب و ارقام IR50 و IR67924R دارای ژن غالب برگرداننده باروری‌اند و می‌توان از آن برای تولید برنج هیبرید بهره برد (۲). ارقام بومی و اصلاح‌شده کشور با توجه به وضعیت ژنتیکی، عموماً به صورت نگهدارنده عقیمی و یا برگرداننده ناقص می‌باشند (۲،۵). بنابراین، ایجاد موتاسیون از طریق موتازن‌های فیزیکی همچون اشعه گاما می‌تواند نقش بسزایی در تنوع ارقام والدینی داشته باشد (۸). وجدان و همکاران (۲۸) با بررسی ژن‌های برگرداننده باروری در تعدادی از لاین‌های امیدبخش جهش‌یافته برنج (نسل ششم) از طریق صفات کمی و دو نشانگر RM1 و RM228، تعداد ۷ لاین را بعنوان لاین برگرداننده بالقوه گزارش دادند. با توجه به اهمیت لاین‌های

جدول ۱- ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه به همراه شجره آن‌ها

Table 1. Rice genotypes studied along with their pedigree

کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	شجره ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	شجره ژنوتیپ
۱	P10-88-37	موتانت نعمت	۱۱	P14-1	موتانت دشت
۲	P8-7-2-1-7-3-1-1	موتانت دمسیاه	۱۲	P15-6	موتانت پژوهش
۳	P8-7-2-1-4-2-1-1	موتانت دمسیاه	۱۳	P15-2	موتانت پژوهش
۴	P8-3-2-1-1-1-1	موتانت دمسیاه	۱۴	IR 68078-15-2-1-2-2-R	لاین برگرداننده باروری خارجی
۵	P9-7-6-3-1-3-1	موتانت فجر	۱۵	IR 65622-151-1-2-2-R	لاین برگرداننده باروری خارجی
۶	P9-8-1-1-1	موتانت فجر	۱۶	IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R	لاین برگرداننده باروری خارجی
۷	P9-7-1-1-1-1	موتانت فجر	۱۷	NSIC RC 434	لاین برگرداننده باروری خارجی
۸	P11-6-2-1-1-1-1	موتانت سپیدرود	۱۸	جلودار	طارم دیلمانی/سنگ طارم
۹	P12-5-3-3-2-2-1	موتانت امل ۳	۱۹	ندا	حسن‌سرای/سنگ‌طارم/امل ۳
۱۰	P12-5-3-3-2-1-1	موتانت امل ۳			

دانه و تراکم دانه (نسبت تعداد کل دانه به طول خوشه) و عملکرد شلتوک (از ۱۶ بوته) ارزیابی شد (SES, 2013). تجزیه واریانس و مقایسات میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال ۵ درصد و تجزیه خوشه‌ای به روش Ward با ضریب متوسط فاصله اقلیدسی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ محاسبه شد. استخراج DNA با روش CTAP با کمی تغییر، از نمونه‌های برگ‌گی که در زمان حداکثر پنجه‌دهی از بوته‌ها برداشته شده بود انجام گردید. از سه نشانگر SSR همبسته با دو ژن اصلی RF3 شامل نشانگرهای RM490 و RM3148 و ژن RF4 همبسته با نشانگر RM171 برای شناسایی ژن‌های برگرداننده باروری در برنج استفاده شد (جدول ۲).

عملیات بذرپاشی ژنوتیپ‌های والدینی مورد مطالعه در فروردین ۱۳۹۸ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان و نشاءکاری در خرداد به صورت تک بوته انجام شد. ژنوتیپ‌های موردنظر در کرت‌هایی با ۸ ردیف ۲۵ در ۲۵ سانتی‌متر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند و کلیه عملیات زراعی از قبیل مبارزه با علف‌های هرز و آفات و بیماری‌ها، آبیاری طبق عرف منطقه صورت گرفت. در پایان فصل رشد، صفات کمی شامل تعداد روز تا رسیدگی، ارتفاع بوته، تعداد پنجه درصد گلدهی، تعداد روز تا رسیدگی، عرض شلتوک، نسبت طول بارور، طول خوشه، طول شلتوک، عرض شلتوک، نسبت طول به عرض شلتوک، تعداد دانه پر و پوک در خوشه، وزن هزار

جدول ۲- لیست نشانگرهای مولکولی لینک با ژن‌های اصلی برگرداننده باروری مورد استفاده در این مطالعه به همراه اطلاعات آن
Table 2. List of molecular markers link with the main fertility restorer genes used in this study along with its information

پرایمر	F/R Primer	مکان کروموزومی
RM171	AACGCGAGGACACGTACTTAC ACGAGATACGTACGCCTTTG	RF4 (۱۰ کروموزوم)
RM490	ATCTGCACACTGCAAAACACC AGCAAGCAGTGTCTTCAGAG	RF3 (۱ کروموزوم)
RM3148	GACTATTGCTCGAACACTTTG TTGCTGCTTTGGTATTTCG	RF3 (۱ کروموزوم)

نتایج و بحث

صفات به جز تعداد دانه پوک اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد که بیانگر تنوع فراوان بین ژنوتیپ‌های والدینی مورد ارزیابی می‌باشد.

نتایج تجزیه واریانس ژنوتیپ‌های مورد مطالعه (جدول ۳) از نظر کلیه صفات مورد بررسی، حاکی از این است که در همه

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه
Table 3. Analysis of variance of morphological traits of the studied genotypes

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد کل دانه	طول دانه	عرض دانه	نسبت طول به عرض دانه	تراکم دانه	باروری خوشه	وزن هزار دانه	عملکرد
ژنوتیپ	۱۸	۳۷۴۳/۶۳**	۱/۳۷**	۰/۰۷**	۱/۰۴**	۴/۴۹**	۳۲۱/۳۱**	۲۴/۲۶**	۸۷۶۹/۶۳**
بلوک	۲	۳۵۹/۱۰	۰/۰۱	۰/۰۰	۰/۰۱	۰/۷۵	۱۴/۲۶	۰/۶۲	۳۲۰۳۱/۵۳
خطای آزمایشی	۳۶	۴۳۵/۰۰	۰/۰۸	۰/۰۰	۰/۰۳	۰/۲۵	۲۷/۱۹	۱/۷۷	۱۳۳۷۶/۰۱
ضرب تغییرات	-	۱۲/۹۹	۲/۷۵	۲/۵۳	۳/۶۴	۸/۷۴	۶/۶۰	۵/۳۹	۲۰/۲۳

* و **: به ترتیب معنی‌دار در احتمال پنج و یک درصد

ادامه جدول ۳- تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناسی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه
Counted Table 3. Analysis of variance of morphological traits of the studied genotypes

منابع تغییرات	درجه آزادی	گل دهی ۵۰ درصد	گل دهی ۱۰۰ درصد	زمان رسیدگی	ارتفاع بوته	تعداد پنجه بارور	طول پرچم	طول خوشه	تعداد دانه پر پوک	تعداد دانه پوک
ژنوتیپ	۱۸	۳۹۷/۵۷	۳۹۶/۶۴	۳۱۸/۶۷	۵۳۳/۶۰	۳۸/۳۱	۹۶/۷۶	۱۷/۰۲	۹۰۲/۵۵	۱۸۶۲/۷۸
بلوک	۲	۵/۷۴**	۲/۴۴**	۰/۲۸	۶/۹۷	۷/۰*	۱۳/۱۹	۰/۴۲	۱۷۳/۰۱	۴۱/۴۴
خطای آزمایشی	۳۶	۰/۰۷	۰/۲۲	۱/۲۰	۳/۶۱	۱/۹۱	۴/۸۱	۲/۲۰	۳۷۷/۱۴	۶۳/۵۵
ضرب تغییرات	-	۰/۲۷	۰/۴۴	۰/۸۳	۱/۵۸	۷/۹۴	۶/۲۹	۵/۲۸	۱۵/۶۳	۲۲/۰۹

* و **: به ترتیب معنی‌دار در احتمال پنج و یک درصد

داشتن خوشه بلند، تعداد دانه پر بیشتری (۱۵۵ دانه) از سایر ژنوتیپ‌ها داشتند. دلیل دارا بودن مخزن زیاد (طول خوشه و دانه پر) این لاین، منبع بالای (متوسط طول برگ پرچم ۵۰/۸۳ میلی‌متر) آن بودند. به طور متوسط طول خوشه لاین‌های موتانت بیشتر از لاین‌های خارجی بودند. لاین‌های برگرداننده باروری خارجی تعداد دانه بیشتری نسبت به لاین‌های موتانت داشتند اما به نسبت، تعداد دانه‌های پوک بیشتری نیز داشتند. بلندترین طول دانه (۱۱/۱۷ میلی‌متر) مربوط به لاین موتانت P9-7-1-1-1 بوده که عرض دانه کوتاهی (۱/۹۷ میلی‌متر) نیز داشتند. لاین‌های برگرداننده باروری خارجی دانه کوتاه‌تری (متوسط ۹/۲۹ میلی‌متر) نسبت به لاین‌های جهش‌یافته (متوسط ۱۰/۳۵ میلی‌متر) و دو رقم نگهدارنده (متوسط ۱۰/۸ میلی‌متر) داشتند. مصرف‌کننده‌های داخلی در کشور برنج‌های دانه بلند را ترجیح می‌دهند. لاین جهش‌یافته P8-7-2-1-7-3-1-1 بیشترین میزان باروری خوشه (۹۲/۶۷) را دارا بوده چرا که کمترین میزان دانه پوک را داشته است. بیشترین وزن هزار دانه متعلق به لاین جهش‌یافته

نتایج مقایسات میانگین (جدول ۴) نشان داد که دامنه تعداد روز تا ۵۰ درصد، ۱۰۰ درصد و رسیدگی ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۳۷، ۳۱/۶۷ و ۳۱/۶۷ روز بوده است ژنوتیپ P15-6 با ۱۱۸/۳۳ زودرس‌ترین و تمامی ژنوتیپ‌های خارجی با دوره رسیدگی ۱۵۰ روزه (از کاشت در خزانه تا رسیدگی فیزیولوژیک) دیررس‌ترین بودند. دو رقم نگهدارنده عقیمی جلودار و ندا نیز تقریباً همزمان با هم رسیده و دوره رسیدگی به ترتیب ۱۳۱ و ۱۳۵ روز داشتند. جهت تولید برنج هیبرید این پارامترها از اهمیت فراوانی برخوردارند چرا که دو والد مادری و پدری باید دارای همزمانی گلدهی باشند تا حداکثر تشکیل بذر حاصل شود (۱۹). میانگین ارتفاع بوته لاین‌های خارجی ۱۱۳/۱۷ سانتی‌متر بوده که برای تلاقی با رقم ندا مناسب هستند. البته عموماً لاین‌های نر عقیم، بدلیل قرار گرفتن بخشی از خوشه در غلاف دارای ارتفاع بوته کوتاه‌تری هستند (۱). تعداد پنجه‌های بارور ژنوتیپ‌های خارجی همچون IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R نسبت به لاین‌های موتانت بالاتر بوده است. بلندترین طول خوشه مربوط به لاین موتانت P8-7-2-1-7-3-1-1 با ۳۲/۵۳ سانتی‌متر بوده که به‌دلیل

P11-6-2-1-1-1 با ۳۰/۴۳ گرم بودند بدلیل اینکه طول و عرض دانه بالایی داشتند. بیشترین میزان عملکرد ژنوتیپها (بالای ۷۰۰ گرم در متر مربع) مربوط به ندا، P15-6، IR86403-5-5-2-1-1-1R و P12-5-3-3-2-1-1 بود که به دلیل داشتن تعداد پنجه بارور، تعداد خوشه بارور، وزن هزار دانه و باروری خوشه بالا بوده است (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات ریخت‌شناسی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Table 4. Comparison of the average morphological traits of the studied genotypes

ژنوتیپ‌ها	تعداد روز تا زمان درصد گلدهی ۵۰	تعداد روز تا زمان ۱۰۰ درصد گلدهی	تعداد روز تا زمان رسیدگی	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد پنجه بارور	طول برگ پرچم (سانتی‌متر)	طول خوشه (سانتی‌متر)	تعداد دانه در خوشه	تعداد دانه پُر در خوشه
۱	۸۸/۶۷ ^k	۹۷/۶۷ ^g	۱۲۸/۰۰ ^{de}	۹۶/۶۷ ^k	۱۴/۳۳ ^e	۳۸/۰۰ ^{cd}	۲۶/۳۵ ^{gl}	۱۳۳/۸۹ ^{abc}	۲۷/۵۶ ^{dg}
۲	۸۶/۶۷ ^m	۹۵/۶۷ ^h	۱۲۵/۶۷ ^{gh}	۱۴۱/۱۷ ^a	۹/۶۷ ^f	۵۰/۸۳ ^a	۳۲/۵۸ ^a	۱۵۲/۰۰ ^a	۴۱/۰۰ ^{cd}
۳	۸۴/۶۷ ⁿ	۱۲۱/۰۰ ^c	۱۲۵/۰۰ ⁱ	۱۳۷/۰۰ ^b	۲۳/۰۰ ^a	۳۷/۳۳ ^{cde}	۲۴/۲۹ ^j	۹۰/۲۳ ^d	۷/۳۳ ⁱ
۴	۹۱/۰۰ ⁱ	۹۷/۶۷ ^g	۱۲۶/۰۰ ^{etg}	۱۳۸/۳۳ ^a	۱۷/۰۰ ^{bcd}	۳۳/۵۰ ^{ej}	۲۶/۴۷ ^{gl}	۱۱۴/۶۷ ^{ad}	۲۷/۲۳ ^{dg}
۵	۸۹/۶۷ ^j	۹۷/۶۷ ^g	۱۲۸/۰۰ ^{de}	۱۱۰/۶۷ ^{gh}	۱۵/۶۷ ^{cde}	۳۶/۶۷ ^{ct}	۲۸/۳۸ ^{etg}	۱۲۴/۳۳ ^{ad}	۱۰/۷۸ ^{hi}
۶	۸۹/۶۷ ^j	۹۳/۰۰ ⁱ	۱۲۴/۰۰ ^h	۱۳۱/۳۳ ^c	۱۸/۰۰ ^{bc}	۳۰/۱۷ ^{lj}	۲۹/۸۸ ^{bf}	۱۰۷/۵۵ ^{bcd}	۲۹/۶۷ ^{dg}
۷	۹۱/۶۷ ⁿ	۹۵/۶۷ ⁿ	۱۲۵/۰۰ ^{gn}	۱۲۶/۵۰ ^d	۱۸/۶۷ ^d	۳۱/۳۳ ^{hij}	۲۹/۵۱ ^{ct}	۱۱۷/۵۶ ^{ad}	۳۴/۶۷ ^{de}
۸	۹۴/۶۷ ^t	۱۰۳/۰۰ ^e	۱۳۱/۶۷ ^c	۱۳۳/۵۰ ^c	۱۷/۰۰ ^{bcd}	۲۹/۶۷ ^j	۲۶/۴۹ ^{gl}	۱۰۵/۵۵ ^{cd}	۱۱/۳۴ ⁿⁱ
۹	۸۹/۶۷ ^j	۹۷/۶۷ ^g	۱۲۹/۰۰ ^d	۱۱۲/۳۳ ^{gh}	۱۳/۶۷ ^e	۳۴/۰۰ ^{di}	۲۸/۵۶ ^{dg}	۱۲۵/۱۱ ^{ad}	۱۷/۷۸ ^{ti}
۱۰	۹۲/۶۷ ^g	۹۷/۶۷ ^g	۱۲۸/۰۰ ^{de}	۱۲۰/۵۰ ^e	۱۶/۰۰ ^{cde}	۳۴/۸۳ ^{dh}	۳۱/۲۱ ^{bcd}	۱۴۱/۶۷ ^{abc}	۳۲/۴۵ ^{det}
۱۱	۸۹/۶۷ ^j	۹۷/۰۰ ^g	۱۳۷/۳۳ ^{def}	۱۱۵/۶۷ ^t	۱۷/۶۷ ^{bc}	۴۳/۸۳ ^b	۳۱/۷۷ ^{ab}	۱۴۹/۵۶ ^a	۶۶/۲۲ ^b
۱۲	۸۷/۶۷ ^j	۹۸/۰۰ ^t	۱۱۸/۳۳ ^j	۱۰۸/۳۳ ⁱ	۱۴/۰۰ ^e	۴۰/۰۰ ^c	۲۷/۶۳ ^{fi}	۱۳۳/۵۵ ^{abc}	۲۳/۱۱ ^{eh}
۱۳	۹۰/۶۷ ^j	۹۷/۶۷ ^g	۱۲۸/۰۰ ^{de}	۱۰۱/۵۰ ^j	۱۸/۶۷ ^b	۳۵/۵۰ ^{fg}	۲۶/۳۵ ^{gl}	۱۰۷/۵۵ ^{bcd}	۱۴/۷۸ ^{ghi}
۱۴	۱۱۴/۶۷ ^c	۱۲۲/۶۷ ^b	۱۵۰/۰۰ ^a	۱۱۳/۱۷ ^{tg}	۱۷/۰۰ ^{bcd}	۳۵/۸۳ ^{dg}	۲۶/۳۳ ^{hj}	۱۳۳/۵۶ ^{abc}	۶۸/۸۹ ^b
۱۵	۱۲۱/۶۷ ^m	۱۲۵/۶۷ ^m	۱۵۰/۰۰ ^a	۱۰۹/۶۷ ^{hi}	۲۳/۰۰ ^a	۲۹/۶۷ ^j	۳۰/۵۲ ^{be}	۱۴۵/۷۸ ^{ab}	۷۴/۴۳ ^b
۱۶	۱۱۵/۶۷ ^b	۱۲۲/۶۷ ^b	۱۵۰/۰۰ ^a	۱۱۴/۶۷ ^t	۲۳/۰۰ ^a	۳۱/۶۷ ^{gl}	۲۴/۸۷ ^{ij}	۱۲۰/۰۰ ^{ad}	۹۸/۲۳ ^a
۱۷	۱۱۵/۶۷ ^b	۱۲۲/۶۷ ^b	۱۵۰/۰۰ ^a	۱۱۵/۱۷ ^t	۱۴/۶۷ ^{de}	۳۳/۸۳ ^{ej}	۲۸/۰۸ ^{eh}	۱۰۳/۸۹ ^{cd}	۵۱/۳۳ ^c
۱۸	۹۷/۶۷ ^e	۱۰۳/۶۷ ^e	۱۳۱/۳۳ ^c	۱۳۸/۳۳ ^{ab}	۱۷/۰۰ ^{bcd}	۲۵/۵۰ ^k	۲۸/۸۱ ^{dg}	۱۳۹/۷۸ ^{abc}	۱۷/۸۹ ^{ti}
۱۹	۱۰۰/۶۷ ^d	۱۰۶/۰۰ ^d	۱۳۵/۰۰ ^b	۱۱۳/۱۷ ^{tg}	۲۲/۳۳ ^a	۳۳/۱۷ ^{ej}	۲۶/۴۱ ^{gl}	۱۱۴/۴۵ ^{ad}	۳۰/۸۹ ^{det}

در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

ادامه جدول ۴- مقایسه میانگین صفات ریخت‌شناسی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Counted Table 4. Comparison of the average morphological traits of the studied genotypes

ژنوتیپ‌ها	تعداد کل دانه در خوشه	طول دانه (میلی‌متر)	عرض دانه (میلی‌متر)	نسبت عرض به طول دانه	تراکم دانه	درصد باروری خوشه	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد شلتوک (گرم در متر مربع)
۱	۱۶۱/۴۵ ^{cde}	۱۰/۰۶ ^{fgh}	۲/۰۷ ^{ij}	۴/۸۷ ^{bc}	۶/۱۱ ^{cd}	۸۳/۰۰ ^{ad}	۲۱/۵۷ ^{hi}	۵۷۹/۷۵ ^{b-f}
۲	۱۹۳/۰۰ ^{abc}	۱۰/۴۲ ^{cf}	۲/۱۵ ^{fi}	۴/۸۵ ^{bc}	۵/۹۳ ^{ce}	۷۸/۶۷ ^{cde}	۲۵/۸۷ ^{cde}	۴۵۶/۱۳ ^{def}
۳	۹۷/۵۶ ^g	۹/۷۶ ^{ghi}	۲/۲۷ ^{cde}	۴/۳۱ ^d	۴/۰۲ ^j	۹۲/۶۷ ^a	۲۵/۳۲ ^{d-g}	۷۰۴/۷۷ ^{abc}
۴	۱۴۱/۸۹ ^{def}	۹/۳۳ ^{ijk}	۲/۱۹ ^{eh}	۴/۲۶ ^{de}	۵/۳۵ ^{dh}	۸۱/۰۰ ^{bcd}	۲۲/۴۶ ^{hi}	۵۱۳/۷۹ ^{c-f}
۵	۱۳۵/۱۱ ^{def}	۱۰/۱۳ ^{efg}	۲/۱۱ ^{hi}	۴/۸۰ ^{bc}	۴/۷۶ ^{fj}	۹۱/۶۷ ^a	۲۵/۲۲ ^{d-g}	۶۲۶/۲۵ ^{a-e}
۶	۱۳۷/۲۲ ^{def}	۱۰/۶۹ ^{ad}	۱/۹۶ ^k	۵/۴۵ ^a	۴/۵۹ ^{hij}	۷۸/۳۳ ^{cde}	۲۳/۰۰ ^{ghi}	۴۰۷/۰۳ ^f
۷	۱۵۲/۲۲ ^{def}	۱۱/۱۷ ^a	۱/۹۷ ^k	۵/۶۶ ^a	۵/۱۶ ^{di}	۷۷/۰۰ ^{de}	۲۳/۸۳ ^{e-h}	۶۹۷/۳۶ ^{abc}
۸	۱۱۶/۸۹ ^{feg}	۱۰/۵۹ ^{be}	۲/۳۳ ^{bc}	۴/۵۵ ^{cd}	۴/۴۰ ^{ij}	۹۰/۰۰ ^{ab}	۳۰/۴۳ ^a	۶۸۶/۵۷ ^{abc}
۹	۱۴۲/۸۹ ^{def}	۱۰/۶۹ ^{ad}	۲/۱۲ ^{ghi}	۵/۰۵ ^b	۵/۰۱ ^{ei}	۸۷/۶۷ ^{abc}	۲۵/۹۳ ^{cde}	۷۲۶/۷۰ ^{abc}
۱۰	۱۷۴/۱۱ ^{bcd}	۱۰/۹۹ ^{ab}	۱/۹۸ ^k	۵/۵۶ ^a	۵/۵۸ ^{dg}	۸۱/۳۳ ^{bcd}	۲۳/۲۹ ^{f-i}	۷۱۱/۵۴ ^{abc}
۱۱	۲۱۵/۷۸ ^a	۱۰/۸۸ ^{abc}	۱/۹۹ ^{jk}	۵/۴۷ ^a	۶/۷۹ ^{bc}	۶۹/۳۳ ^{ef}	۲۲/۶۸ ^{hi}	۲۲۴/۴۸ ^g
۱۲	۱۵۶/۶۷ ^c	۱۰/۵۴ ^{bf}	۲/۲۰ ^{eh}	۴/۷۹ ^{bc}	۵/۶ ^{def}	۸۴/۶۷ ^{ad}	۲۷/۵۰ ^{cd}	۷۷۷/۶۷ ^{abc}
۱۳	۱۲۲/۳۳ ^{feg}	۱۰/۲۰ ^d	۲/۲۹ ^{cd}	۴/۴۴ ^d	۴/۶۴ ^{gj}	۸۷/۶۷ ^{abc}	۳۰/۱۷ ^{ab}	۶۸۷/۵۴ ^{abc}
۱۴	۲۰۲/۴۵ ^{ab}	۹/۴۴ ^{ij}	۲/۲۱ ^{dg}	۴/۲۷ ^{de}	۷/۹۹ ^a	۶۶/۰۰ ^f	۲۱/۶۲ ^{hi}	۶۷۱/۶۵ ^{a-d}
۱۵	۲۲۰/۲۲ ^a	۸/۹۱ ^k	۲/۲۴ ^{def}	۳/۹۸ ^{ef}	۷/۱۵ ^b	۶۵/۳۳ ^f	۲۰/۸۲ ⁱ	۵۹۳/۹۸ ^{a-f}
۱۶	۲۱۸/۲۲ ^a	۹/۲۲ ^{jk}	۲/۴۵ ^a	۳/۷۷ ^f	۸/۷۷ ^a	۵۴/۶۷ ^g	۲۵/۵۹ ^{c-f}	۸۱۳/۲۷ ^a

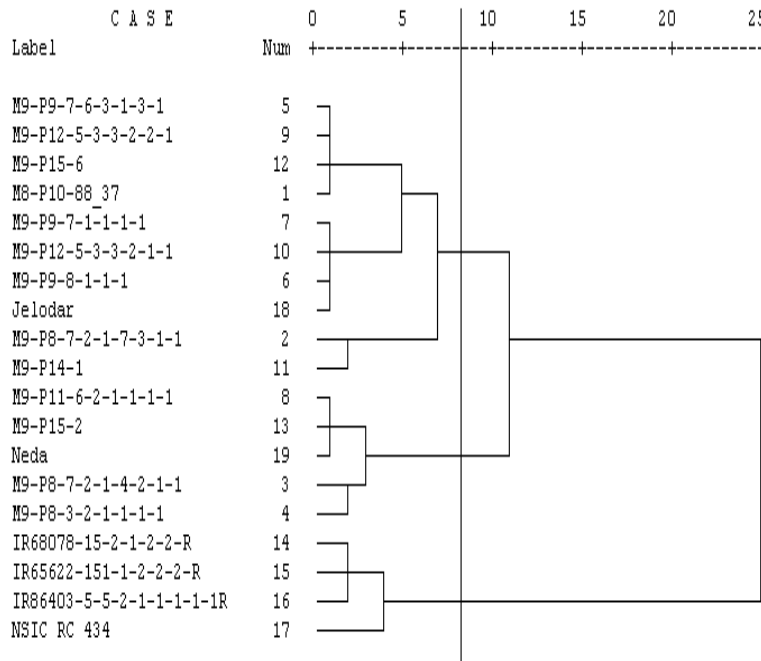
در هر ستون میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک تفاوت معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

شامل شده که رقم ندا در این گروه جای گرفت. گروه سوم نیز ۲۱ درصد ژنوتیپ‌ها را در بر گرفته که تمامی لاین‌های برگرداننده باروری خارجی در این گروه قرار گرفتند. میانگین صفات هر گروه از تجزیه خوشه‌ای (جدول ۵) نشان داد که ژنوتیپ‌های گروه یک متوسط رس (۱۲۸/۲۰ روز تا رسیدگی)، بلندترین طول خوشه (۲۹/۴۷)، بیشترین تعداد دانه پُر

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای (شکل ۱)، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به ۳ گروه اصلی تقسیم کرد. ضریب کوفتیک با ارزش عددی ۰/۹۱ صحت برازش کلاستر از داده‌ها را مطلوب نشان می‌دهد. گروه اول شامل ۵۳ درصد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه به همراه رقم جلودار بوده که بزرگترین گروه از تجزیه خوشه‌ای را تشکیل دادند. گروه دوم ۲۶ درصد ژنوتیپ‌ها را

میانگین عملکرد شلتوک ($682/01$ گرم در متر مربع) را داشتند که این گروه پرمحصول‌ترین ژنوتیپ‌ها را شامل می‌شود. ژنوتیپ‌های گروه سه نیز دیررس (150 روز تا رسیدگی)، کوتاه‌ترین ارتفاع بوته ($113/17$ سانتی‌متر)، کوتاه‌ترین طول دانه ($9/29$ گرم) و تراکم بالای دانه ($7/36$) را دارا بودند.

($132/5$)، بلندترین طول دانه ($10/66$)، کوتاه‌ترین عرض دانه ($2/05$) داشتند. گروه دوم از تجزیه خوشه‌ای دارای بلندترین ارتفاع بوته ($124/7$)، بیشترین تعداد پنجه بارور ($19/6$)، کمترین تعداد دانه پوک ($18/31$) بیشترین باروری خوشه ($85/93$)، بیشترین وزن هزار دانه ($27/29$ گرم) و بیشترین



شکل ۱- دندروگرام مربوط به خوشه‌بندی ژنوتیپ‌های والدینی برنج به روش WARD و ضریب فاصله اقلیدسی بر اساس صفات اندازه‌گیری شده (ضریب کوفنتیک: $0/91$)

Figure 1. Dendrogram derived from Ward cluster analysis with Euclidean distance for parental rice genotypes based on the evaluated traits (Cophenetic correlation: 0.91)

جدول ۵- میانگین صفات هر گروه از تجزیه خوشه‌ای

گروه‌ها	تعداد روز تا زمان ۵۰ درصد گلدهی	تعداد روز تا زمان ۱۰۰ درصد گلدهی	تعداد روز تا زمان رسیدیگی	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	تعداد پنجه بارور	طول برگ پرچم (سانتی‌متر)	طول خوشه (سانتی‌متر)	تعداد دانه پر در خوشه	تعداد دانه پوک در خوشه
۱	۹۰/۲۷	۹۷/۳۷	۱۲۶/۴۷	۱۲۰/۱۵	۱۵/۴۷	۳۶/۵۲	۲۹/۴۷	۱۳۲/۵۰	۳۰/۱۱
۲	۹۲/۳۴	۱۰۵/۰۷	۱۲۸/۲۰	۱۲۴/۷۰	۱۹/۶۰	۳۳/۲۳	۲۶/۰۰	۱۰۶/۴۹	۱۸/۳۱
۳	۱۱۶/۹۲	۱۲۳/۴۲	۱۵۰/۰۰	۱۱۳/۱۷	۱۹/۴۲	۳۲/۷۵	۲۷/۲۰	۱۲۵/۸۱	۷۳/۲۲
میانگین کل	۹۹/۸۸	۱۰۸/۶۲	۱۳۴/۸۹	۱۱۹/۲۴	۱۸/۱۶	۳۴/۱۷	۶۴/۵۳	۱۲۱/۶	۴۰/۵۴

ادامه جدول ۵- میانگین صفات هر گروه از تجزیه خوشه‌ای

گروه‌ها	تعداد کل دانه در خوشه	طول دانه (میلی‌متر)	عرض دانه (میلی‌متر)	نسبت عرض به طول دانه	تراکم دانه	درصد باروری خوشه	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد شلتوک (گرم در متر مربع)
۱	۱۶۲/۹۸	۱۰/۶۶	۲/۰۵	۵/۲۱	۵/۵۲	۸۱/۹۰	۲۴/۱۲	۵۶۷/۷۴
۲	۱۲۴/۸۰	۱۰/۰۹	۲/۲۵	۴/۴۸	۴/۷۸	۸۵/۹۳	۲۷/۲۹	۶۸۲/۰۱
۳	۱۹۹/۰۳	۹/۲۹	۲/۲۳	۴/۰۰	۷/۳۶	۶۳/۳۳	۲۳/۷۵	۶۱۷/۹۱
میانگین کل	۱۶۲/۲۷	۱۰/۰۱	۲/۲۱	۴/۵۶	۵/۸۸	۷۷/۰۶	۲۵/۰۵	۶۲۲/۵۵

شناسایی نموده تا به جای بررسی تمامی ویژگی‌ها، یک سری ویژگی‌های با ارزش بالاتر تحلیل شود (16). در مولفه اول که $33/69$ درصد تغییرات را توجیه نمود. صفات تعداد دانه پوک، تعداد کل دانه در خوشه و تراکم دانه در خوشه به صورت مثبت و صفت درصد باروری خوشه به طور منفی بیشترین

تجزیه به مولفه‌های اصلی (جدول ۶)، نشان داد که چهار مؤلفه اصلی دارای مقادیر ویژه بالای یک بودند که مجموعاً $82/61$ درصد تغییرات داده‌ها را توجیه نموده است. یکی از کاربردهای اصلی تجزیه به مولفه‌های اصلی در عملیات کاهش ابعاد داده‌هاست که می‌تواند مولفه‌های اصلی را

صفات مربوط به دوره گلدهی و رسیدگی با صفات تعداد پنجه بارور و تعداد دانه پوک در خوشه رابطه معنی‌داری داشته و با افزایش دوره رسیدگی تعداد پنجه و تعداد دانه پوک در خوشه افزایش می‌یابد. صفت عملکرد در مرکز بای‌پلات قرار گرفته و ارتباط سایر صفات با عملکرد برای برخی صفات همچون درصد باروری خوشه و وزن هزار دانه به طور مثبت و برای برخی صفات همچون تعداد دانه پوک و دوره رسیدگی به صورت منفی اثرگذار بوده است. کیانی مطالعه‌ای را با هدف بررسی تنوع فنوتیپی ۳۷ لاین برگرداننده باروری انجام داد آنان سه مؤلفه را با ضریب تبیین ۶۸ درصد تفکیک نمودند. (۱۶).

تأثیر را داشته‌اند. بنابراین از این مؤلفه می‌توان ژنوتیپ‌های دارای تعداد دانه بیشتر را تفکیک نمود که از این مؤلفه می‌توان به مؤلفه خصوصیات خوشه نام برد. در مؤلفه دوم نیز با ۲۵/۹۹ درصد توجیه تغییرات، صفت عرض دانه به طور مثبت و صفات نسبت طول به عرض دانه و طول دانه به صورت منفی مؤثرترین صفات بودند که می‌توان آن‌ها را مؤلفه خصوصیات دانه دانست. در مؤلفه سوم صفت طول برگ پرچم مؤثر بوده که مؤلفه منبع و در مؤلفه چهارم صفت عملکرد نقش داشته که به مؤلفه عملکرد نامیده می‌شود از این مؤلفه هم می‌توان ژنوتیپ‌های دارای عملکرد بالا را تفکیک کرد (جدول ۷). بای‌پلات مؤلفه‌های اول تا سوم ژنوتیپ‌های برنج براساس صفات ریخت‌شناسی (شکل ۲) بیانگر آن است که

جدول ۶- مقادیر ویژه و واریانس نسبی و تجمعی مؤلفه‌های اصلی صفات مورد مطالعه

Table 6. Eigenvalue and relative and cumulative variance of two main components based on the measured traits

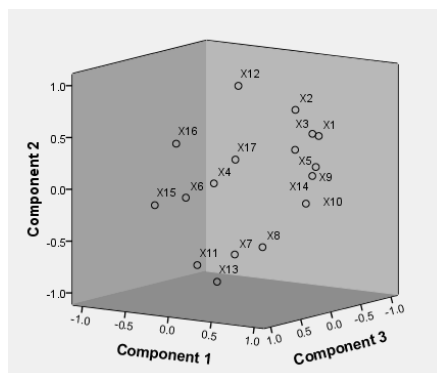
مؤلفه‌ها	کل	درصد واریانس نسبی	درصد واریانس تجمعی
۱	۶/۹۲	۳۳/۶۹	۳۳/۶۹
۲	۴/۲۷	۲۵/۹۹	۵۹/۶۸
۳	۱/۵۹	۱۳/۶۳	۷۳/۳۱
۴	۱/۲۶	۹/۳۰	۸۲/۶۱

جدول ۷- ضرایب تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات مورد مطالعه

Table 7. Decomposition coefficients to the main components of the studied traits

صفات	ضرایب مؤلفه‌ها			
	۱	۲	۳	۴
X1	-۰/۷۱	-۰/۴۸	-۰/۳۸	-۰/۰۵
X2	-۰/۴۴	-۰/۷۱	-۰/۳۷	-۰/۰۲
X3	-۰/۷۰	-۰/۵۲	-۰/۲۹	-۰/۰۶
X4	-۰/۲۹	-۰/۰۳	-۰/۰۷	-۰/۷۷
X5	-۰/۱۶	-۰/۲۴	-۰/۷۸	-۰/۱۰
X6	-۰/۰۶	-۰/۰۱	-۰/۹۰	-۰/۰۴
X7	-۰/۲۸	-۰/۵۹	-۰/۴۱	-۰/۳۸
X8	-۰/۶۴	-۰/۴۸	-۰/۴۶	-۰/۰۱
X9	-۰/۹۲	-۰/۲۶	-۰/۰۳	-۰/۰۱
X10	-۰/۹۷	-۰/۰۶	-۰/۲۰	-۰/۰۱
X11	-۰/۳۷	-۰/۸۰	-۰/۱۱	-۰/۰۳
X12	-۰/۰۲	-۰/۹۵	-۰/۰۳	-۰/۲۱
X13	-۰/۱۸	-۰/۹۵	-۰/۰۵	-۰/۱۲
X14	-۰/۹۲	-۰/۱۸	-۰/۰۳	-۰/۱۷
X15	-۰/۸۸	-۰/۲۸	-۰/۰۸	-۰/۰۴
X16	-۰/۵۸	-۰/۳۶	-۰/۱۶	-۰/۴۰
X17	-۰/۲۰	-۰/۱۸	-۰/۲۸	-۰/۷۷

X1: تعداد روز تا پنجه درصد گلدهی، X2: تعداد روز تا صد در صد گلدهی، X3: زمان رسیدگی، X4: ارتفاع بوته، X5: تعداد پنجه بارور، X6: طول برگ پرچم، X7: میانگین طول خوشه، X8: میانگین دانه پر، X9: میانگین دانه پوک، X10: میانگین تعداد کل دانه، X11: میانگین طول دانه، X12: میانگین عرض دانه، X13: نسبت طول به عرض دانه، X14: تراکم دانه، X15: درصد باروری خوشه، X16: وزن صد دانه، X17: عملکرد شلتوک



شکل ۲- نمایش بای‌پلات ژنوتیپ در صفت براساس مؤلفه‌های اول تا سوم براساس صفات ریخت‌شناسی

Figure 2. The genotype $\times$ trait biplot representation based on the first to three components, based on morphological traits

IR 86403-5-5-2-1-1-1R، IR 65622-151-1-2-2-2-R (NSIC RC 434، 1-1R) دارای باندی متفاوت با ارقام نگهدارنده داشتند که احتمالاً دارای ژن *Rf3* می‌باشند. مطالعه سینگ و همکاران (۲۶). از ارزیابی ۱۰۰ لاین اصلاح‌شده با استفاده از نشانگر مولکولی SSR همبسته با ژن‌های *Rf3* و *Rf4* مشخص گردید که تعداد ۶۱ لاین دارای هر دو ژن برگرداننده باروری بودند، از این تعداد ۱۸ لاین انتخاب و با تعداد ۶ لاین CMS تلاقی داده شدند. تعدادی از هیبریدها دارای بیش از ۹۰ درصد باروری سنبلچه بودند.

الگوی باندی نشانگر RM171 برای ارقام والدینی برنج (جدول ۷ و شکل ۵) نشان داد که ژنوتیپ‌های P8-7-2-1-1، P9-8-1-1-1، P9-7-6-3-1-3-1، P9-7-1-1-1-1، P12-5-3-3-1، P12-5-3-3-2-2-1، P11-6-2-1-1-1-1، NSIC RC 434، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R، 2-1-1 در باندی متفاوت از دو رقم نگهدارنده تشکیل باند داشتند.

آنالیز مولکولی ژن‌های برگرداننده باروری (*Rf3* و *Rf4*) برای ارقام والدینی برنج

نتایج حاصل از نشانگر RM490 (جدول ۷ و شکل ۳)، چندشکلی واضحی در میان ژنوتیپ‌های ارقام نگهدارنده و ارقام والدینی نشان داد. الگوی باندی نشانگر RM490 برای ارقام والدینی برنج در سه موقعیت باندی نشان داد که ژنوتیپ‌های P12-5-3-3-2-2-1، IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، NSIC RC 434 و IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R هم باند با رقم جلودار و ژنوتیپ‌های P14-1، P15-2، P15-6، P10-88-37، P12-5-3-3-1، P9-8-1-1-1-1، P8-3-2-1-1-1-1، P12-5-3-3-2-2-1 و IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R هم باند رقم ندا و سایر ژنوتیپ‌ها در باند متمایز دیگری قرار گرفتند. نتایج حاصل از نشانگر RM3148 (جدول ۷ و شکل ۴) چندشکلی واضحی در میان ژنوتیپ‌های ارقام نگهدارنده و ارقام والدینی نشان داد. الگوی باندی نشانگر RM3148 برای ارقام والدینی برنج نشان داد که ژنوتیپ‌های IR 68078-15-2-1-2-2-R

جدول ۷- نمایش شماتیک مشخصات DNA ریزماهواره برای والدین آن‌ها

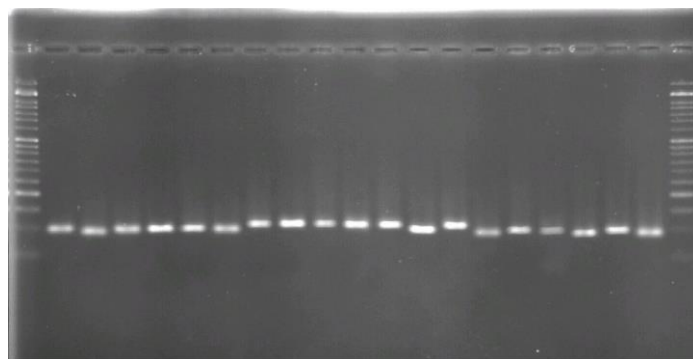
Table 7. Schematic representation of microsatellite DNA specifications for their parents.

ژنوتیپ پرایمر	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹
RM171	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
RM3148	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
RM490	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-

باروری تشخیص داده شدند به‌عنوان لاین‌های برگرداننده باروری بوده و قابلیت بکارگیری در برنامه برنج هیبرید را دارند. بیشترین میزان عملکرد ژنوتیپ‌ها (بالای ۷۰۰ گرم در متر مربع) مربوط به ارقام ندا، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 68078-15-2-1-2-2-R، P12-5-3-3-2-2-1، P12-5-3-3-2-1-1، P15-6، P10-88-37، P11-6-2-1-1-1-1، P9-8-1-1-1-1، P9-7-6-3-1-3-1، P9-7-1-1-1-1، P8-7-2-1-4-2-1-1، P8-7-2-1-7-3-1-1، P8-7-2-1-1-1-1-1، P8-3-2-1-1-1-1، P9-8-1-1-1-1، P9-7-6-3-1-3-1، P9-7-1-1-1-1، P8-7-2-1-4-2-1-1، P8-7-2-1-7-3-1-1، P8-3-2-1-1-1-1، P12-5-3-3-2-2-1، P12-5-3-3-2-1-1، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R، NSIC RC 434) بوده است. این ژنوتیپ‌ها خود می‌توانند به‌عنوان لاین امیدبخش پرمحصول در کشت و کار برنج بکار گرفته شوند.

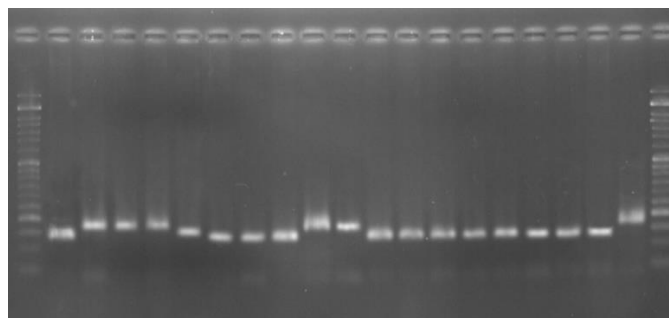
نتیجه‌گیری کلی

جمع‌بندی هر ۳ نشانگر SSR برای ۱۹ ژنوتیپ والدینی مورد مطالعه نشان داد که ژنوتیپ‌های P11-6-2-1-1، P9-7-1-1-1-1، P14-1، P15-2 و P15-6 با دو نشانگر RM3148، RM490، دارای ژن *Rf3* هستند و هیچ از ژن‌های *Rf4* را دارا نبوده و علت اینکه برخی ژنوتیپ‌ها با نشانگر RM3148 دارای ژن *Rf* تشخیص داده شده است ولی با نشانگر RM490 تشخیص داده نشد می‌تواند به دلیل کراس‌ینگ‌اور بین ژن مورد نظر و نشانگر باشد بنابراین ژنوتیپ‌هایی که دارای ژن برگرداننده



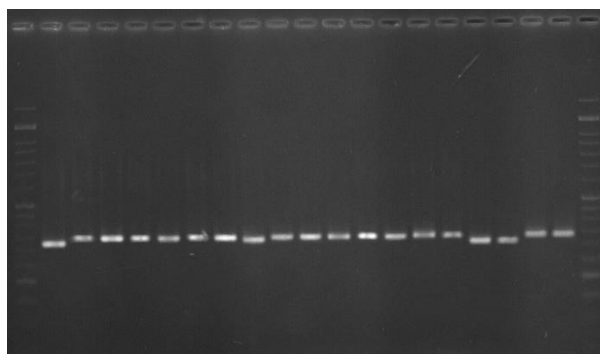
شکل ۳- الگوی باندی نشانگر RM490 برای ارقام والدینی برنج (ژنوتیپ‌ها از چپ به راست ندا، جلودار، P14-1، P15-2، P15-6، P10-88-37، P11-6-2-1-1-1-1، P9-8-1-1-1-1، P9-7-6-3-1-3-1، P9-7-1-1-1-1، P8-7-2-1-7-3-1-1، P8-7-2-1-4-2-1-1، P8-3-2-1-1-1-1، P9-8-1-1-1-1، P9-7-6-3-1-3-1، P9-7-1-1-1-1، P8-7-2-1-4-2-1-1، P8-7-2-1-7-3-1-1، P8-3-2-1-1-1-1، P12-5-3-3-2-2-1، P12-5-3-3-2-1-1، IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، NSIC RC 434)

Figure 3. RM490 marker band pattern for rice parent cultivars (genotypes from left to right Neda, Jelodar, P14-1, P15-2, P15-6, P10-88-37, P8-3-2-1-1-1-1, P8-7-2-1-4-2-1-1, P8-7-2-1-7-3-1-1, P9-7-1-1-1-1, P9-7-6-3-1-3-1, P9-8-1-1-1-1, P11-6-2-1-1-1-1, P12-5-3-3-2-2-1, P12-5-3-3-2-1-1, IR 68078-15-2-1-2-2-R, IR 65622-151-1-2-2-2-R, IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R, NSIC RC 434)



شکل ۴- الگوی باندی نشانگر RM3148 برای ارقام والدینی برنج (ژنوتیپ‌ها از چپ به راست ندا، جلودار، P14-1، P15-2، P15-6، P10-88-37، P8-3-2-1-1-1، P8-7-2-1-4-2-1-1، P8-7-2-1-7-3-1-1، P9-7-1-1-1-1، P9-7-6-3-1-3-1، P9-8-1-1-1، P11-6-2-1-1-1-1، JR 86403-5-5-2-1-1-1-1R، JR 65622-151-1-2-2-2-R، JR 68078-15-2-1-2-2-R، P12-5-3-3-2-1-1، P12-5-3-3-2-2-1 NSIC RC 434

Figure 4. RM3148 marker band pattern for rice parent cultivars (genotypes from left to right Neda, Jelodar, P14-1, P15-2, P15-6, P10-88-37, P8-3-2-1-1-1-1, P8-7-2-1-4-2-1-1, P8-7-2-1-7-3-1-1, P9-7-1-1-1-1, P9-7-6-3-1-3-1, P9-8-1-1-1, P11-6-2-1-1-1-1, P12-5-3-3-2-2-1, P12-5-3-3-2-1-1, IR 68078-15-2-1-2-2-R, IR 65622-151-1-2-2-2-R, IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R, NSIC RC 434)



شکل ۵- الگوی باندی نشانگر RM171 برای ارقام والدینی برنج ژنوتیپ‌ها از چپ به راست ندا، جلودار، P14-1، P15-2، P15-6، P10-88-37، P8-3-2-1-1-1-1، P8-7-2-1-4-2-1-1، P8-7-2-1-7-3-1-1، P9-7-1-1-1-1، P9-7-6-3-1-3-1، P9-8-1-1-1، P11-6-2-1-1-1-1، P12-5-3-3-2-2-1، P12-5-3-3-2-1-1، IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R، NSIC RC 434

Figure 5. RM171 marker band pattern for rice parent cultivars (genotypes from left to right Neda, Jelodar, P14-1, P15-2, P15-6, P10-88-37, P8-3-2-1-1-1-1, P8-7-2-1-4-2-1-1, P8-7-2-1-7-3-1-1, P9-7-1-1-1-1, P9-7-6-3-1-3-1, P9-8-1-1-1, P11-6-2-1-1-1-1, P12-5-3-3-2-2-1, P12-5-3-3-2-1-1, IR 68078-15-2-1-2-2-R, IR 65622-151-1-2-2-2-R, IR 86403-5-5-2-1-1-1-1R, NSIC RC 434)

منابع

1. Afkhami Ghadi, A., N.A. Jelodar Babaeian and N.A. Bagheri. 2012. Evaluation of improved rice CMS lines according sterility, fertility and allogamy characteristics (*Oryza sativa* L.). Journal of Modern Genetics, 7(4): 396-386 (In Persian).
2. Afkhami Ghadi, A., R. Khdemian, G.A. Nematzadeh, N.A. Jelodar Babaeian and N.A. Bagheri. 2019. Identification of male sterile maintainer and fertility restorer lines from Iranian landraces and improved cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). Seed and Plant Improvement Journal, 35(2): 121-136 (In Persian).
3. Ali, M., M.A. Hossain, M.J. Hasan and M.E. Kabir. 2014. Identification of maintainer and restorer lines in local aromatic rice (*Oryza sativa* L.). Bangladesh Journal of Agricultural Research, 39(1): 1-12.
4. Babaeian Jelodar, N., N. Bagheri and E. Nattaj. 2005. Development of new Iranian male sterile and restorer lines for developing three-line rice hybrid and quality of hybrid rice 5th International Rice Genetics Symposium and 3rd International Rice Functional Genetics Symposium, 19-23 November. Manila, Philippines, 67 pp.
5. Bagheri, N.A. 2009. Genetic analysis and molecular mapping of the fertility restorer genes for WA-type cytoplasmic male sterility of rice. University of Mazandaran (In Persian).
6. Baluch-Zehi, A., G. Kiani and N. Bagheri. 2013. Investigation of Genetic Distance among Parental Lines of Hybrid Rice Based on Cluster Analysis of Morphological Traits. Journal of Crop production and processing, 3(7): 73-83 (In Persian).

7. Choudhary, G., N. Ranjitkumar, M. Surapaneni, D.A. Deborah, A. Vipparla, G. Anuradha, E.A Siddiq and L.R. Vemireddy. 2013. Molecular genetic diversity of major Indian rice cultivars over decadal periods. *PloS one*, 8: 66197.
8. El-Degwy., I.S. 2013. Mutation in induced genetic variability in rice. *International journal of agriculture and Crop Sciences*, 5(23): 2789-2794.
9. Fathabadi, F., N.A. Bagheri and A. Afkhami Ghadi. 2019. Phenotypic study of fertility repair genes in the second genotypes of the plant. Fourth National Conference on Knowledge and Technology of Agricultural Sciences, Natural Resources and Environment of Iran, 7 pp (In Persian).
10. Fernald, A., V.A. Marchman and A. Eisleder. 2013. SES differences in language processing skill and vocabulary are evident at 18 months. *Developmental Science*, 16(2): 234-248.
11. Ghaleb, M.A.A., A. Ghaleb, C. Li, M.Q. Shahid, H. Yu, J. Liang, R. Chen, J. Wu and X. Liu. 2020. Heterosis analysis and underlying molecular regulatory mechanism in a wide-compatible neo-tetraploid rice line with long panicles. *BMC Plant Biology*, 20(1): 1-15.
12. He, Z.Z., F.M. Xie, L.Y. Chen and M.A.D. PAZ. 2012. Genetic diversity of tropical hybrid rice germplasm measured by molecular markers. *Rice Science*, 19(3): 193-201.
13. Huang, M., P. Jiang, S. Shan, W. Gao, G. Ma, Y. Zou and L. Yuan. 2017. Higher yields of hybrid rice do not depend on nitrogen fertilization under moderate to high soil fertility conditions. *Rice*, 10(1): 1-5.
14. Ji, Zh., J. Shi, Y. Zeng, Q. Qian and Ch. Yang. 2014. Application of a simplified marker-assisted backcross technique for hybrid breeding in rice. *Biologia*, 69(4): 463-468.
15. Kader, M.A., A.K. Patwary, M.M. Hossain and R.R. Majumder. 2015. Study on heterosis of some experimental hybrids in rice. *Scientia*, 12(3): 135-143.
16. Kiani, G. 2012. Diversity assessment among some restorer lines using agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Biharean Biologist*, 6(1):1-4.
17. Kumar, P., V.K. Sharma and B.D. Prasad. 2015. Characterization of maintainer and restorer lines for wild abortive cytoplasmic male sterility in indica rice (*Oryza sativa* L.) using pollen fertility and microsatellite (SSR) markers. *Australian Journal of Crop Science*, 9(5): 384.
18. Mishra, A., P. Kumar, M. Shamim, K.K. Tiwari, P. Fatima, D. Srivastava and P. Yadav. 2019. Genetic diversity and population structure analysis of Asian and African aromatic rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Journal of genetics*, 98(3): 92.
19. Nematzadeh, G.A., A.A. Juhar, M. Sattari, A. Valizadeh, E. Alinejad and M.Z. Nouri. 2006. Relation between different allogamic associated trait characteristics of the five newly developed cytoplasmic male sterile (CMS) lines in rice. *Journal of Central European Agriculture*, 7(1): 49-56.
20. Nematzadeh, G.A. and H. Valizadeh. 2003. Hybrid rice breeding. Mazandaran University Press, 208 p (In Persian).
21. Ngangkham, U., S. Dash, M. Parida, S. Samantaray, D. Nongthombam, M.K. Yadav, A., Kumar. L.G. Katara, B.C. Patra, P. Chidambaranatham and L.K. Bose. 2019. The potentiality of rice microsatellite markers in assessment of cross-species transferability and genetic diversity of rice and its wild relatives. *3 Biotech*, 9(6): 217.
22. Normile, D. 2010. Reinventing rice to feed the world. *Science*, 321: 330-333.
23. Obeng-Bio, E., B. Badu-Apraku, B.E. Ifie, A. Danquah, E.T. Blay, M.A. Dadzie, G.T. Noudifoule and A.O. Talabi. 2020. Genetic diversity among early provitamin A quality protein maize inbred lines and the performance of derived hybrids under contrasting nitrogen environments. *BMC Genetics*, 21(1): 1-13.
24. Parveen, S., R. Dhakarey and J. Singh. 2013. Identification of maintainers and restorers for WA CMS lines among Basmati mutants in rice. *Agricultural Science Digest*, 33(3): 234-236.
25. Rahim Soroush, H., M. Mesbah, A. Hosseinzadeh and R. Bozorgi Pour. 2004. Genetic and phenotypic variability and cluster analysis for quantitative and qualitative traits of rice. *Seed and Plant Improvement Journal*, 20: 167-182. (In Persian).
26. Sharma, D., G.S. Sanghera, P. Sahu, P. Sahu, M. Parikh, B. Sharma and B.K. Jena. 2013. Tailoring rice plants for sustainable yield through ideotype breeding and physiological interventions. *African Journal of Agricultural Research*, 8(40): 5004-5019.
27. Singh, A.K., P. Revathi, M. Pavani, R.M. Sundaram, P. Senguttuvel, K.B. Kemparaju, A.S. Hari Prasad, C.N. Neeraja, N. Sravan Raju, P. Kotewara Rao, P.J. Suryendra, K. Jayaramulu and B.C. Viraktamath. 2014. Molecular screening for fertility restorer genes *Rf₃* and *Rf₄* of WA-CMS and evaluation of F₁ hybrids in rice (*O. sativa* L.). *Journal of Rice Research*, 7 (1&2): 25-35.
28. Sruthi, K., B. Divya, P. Senguttuvel, P. Revathi, K.B. Kemparaju, P. Koteswararao, R.M. Sundaram, V.J. Singh, R. Kumar, P.K. Bhowmick, K.K. Vinod, S.G. Krishnan, A.K. Singh and A.S. Hari Prasad. 2019. Evaluation of genetic diversity of parental lines for development of heterotic groups in hybrid rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 1-17.
29. Vejdani, R. 2015. Investigation of fertility restoring genes in promising rice mutant lines through quantitative and molecular traits (SSR). Master Thesis. Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, (In Persian).
30. Virmani, S.S. and C. Dedolph. 1993. Reaping the benefits of hybrid rice in the tropics. *World*.

31. Wang, S. and Z. Lu. 2006. Genetic diversity among parental lines of Indica hybrid rice (*Sativa Oryza* L.) in China based on coefficient of parentage. *Plant Breeding*, 125: 606-612.
32. Xalxo, A., P.R. Chaudhari, D. Sharma, R.R. Saxena, S. Singh and A. Tiwari. 2017. Identification of rice hybrids and restorer line using microsatellite markers. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11): 3405-3411.
33. Yinghen, W.A.N.G., C.A.I. Qiuhua, X.I.E. Hongguang, W.U. Fangxi, L.I.A.N. Ling, H.E. Wei, Ch. Liping, X. Huaan and Z.H.A.N.G. Jianfu. 2018. Determination of heterotic groups and heterosis analysis of yield performance in indica rice. *Rice Science*, 25(5): 261-269.
34. Yu, S.B., W.J. Xu, C.H.M. Vijayakumar, J. Ali, B.Y. Fu, J.L. Xu, Y.Z. Jiang. R. Marghirang, J. Domingo, C. Aquino, S.S. Virmani and Z.K. Li. 2003. Molecular diversity and multilocus organization of the parental lines used in the International Rice Molecular Breeding Program. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(1): 131-140.
35. Yuan, L. 2014. Development of hybrid rice to ensure food security. *Rice Science*, 21(1): 1-2.
36. Zhang, X., B. Zuo, Z. Song, W. Wang, Y. He, Y. Liu and D. Cai. 2017. Breeding and study of two new photoperiod-and thermo-sensitive genic male sterile lines of polyploid rice (*Oryza sativa* L.). *Scientific Reports*, 7(1): 14744.
37. Zhu, D., H. Zhang, B. Guo, K. Xu, Q. Dai, C. Wei, Zhou and G.Z. Huo. 2017. Physicochemical properties of indica-japonica hybrid rice starch from Chinese varieties. *Food Hydrocolloids*, 63: 356-363.

Investigation of Genetic Nature of Rice Mutant Lines using Morphological Traits and SSR Markers Linked with *Rf* Gene

Hamideh Mehdi Khani¹, Ghorban Ali Nematzadeh², NadAli Bagheri³ and Ammar Afkhami Qadi⁴

1- Master Student of Sari of Agricultural Sciences and Natural Resources University

2- Professor of Sari of Agricultural Sciences and Natural Resources University, Tabarestan Institute of Genetics and Biotechnology, (Responsible author: gh.nematzadeh@sanru.ac.ir)

3- Associate Professor, Faculty of Crop Sciences, Sari of Agricultural Sciences and Natural Resources University

4- Master of Research Institute of Genetics and Agricultural Biotechnology, Tabarestan, Sari of Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: 19 June, 2021 Accepted: 29 November, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Yield of hybrid cultivars is 20 to 30% higher than conventional cultivars. On the other hand, the most important challenge for hybrid breeders, especially in Iran, is the selection of parental genotypes that have fertility restorer genes and ultimately lead to heterosis.

Material and Methods: The present study was performed by evaluating the morphological traits of 19 rice genotypes and the linked of three SSR molecular primers related to *Rf3* and *Rf4* genes. These genotypes were planted in 2019 in the research farm of Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan in a randomized complete block design with three replications. Quantitative and agronomic traits, especially paddy yield, were evaluated. DNA extraction was performed by CTAP method with modification from leaf samples. Three SSR markers linked with two major *RF3* genes including RM490 and RM 3148 markers and *RF4* gene linked with RM171 marker were used to identify fertility restorer genes in rice.

Results: The results of comparing the mean of rice genotypes showed that P15-6 genotype with 118.33 was the earliest and all foreign genotypes with a maturity of 150 days were the latest. The highest yield of genotypes (above 700 g / m²) is related to Neda genotypes, IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1-1R, P15-6, P12-5-3-3-2- 2-1, P12-5-3-3-2-1-1 and P8-7-2-1-4-2-1-1, which due to the number of fertile tiller, the number of fertile panicle, 1000-seed weight and panicle fertility has been high. In the results of cluster analysis, parental cultivars were divided into three groups: in the first group (medium yield, long cluster length, high number of full seeds, and long grain length) the Jelodar cultivar, in the second group (maximum cluster fertility, 1000-seed weight and high paddy yield) Neda cultivar along with four other lines and all foreign cultivars are in the third group (late, short grain length and high grain density). Principal component analysis divided the studied traits into four main components with eigenvalues above one, which in total explained 82.61% of the data changes, which these four components are more valuable and express the relationship between the traits. In total, the band pattern of three markers showed that IR 68078-15-2-1-2-2-R, IR65622-151-1-2-2-2-R and NSIC RC434 genotypes had fertility restorer genes.

Conclusion: Summary of all 3 SSR markers showed that genotypes P9-7-1-1-1, P11-6-2-1-1-1, P14-1 and P15-2 with two markers RM3148, RM490, have *Rf3* gene and haven't *Rf4* genes and the reason that some genotypes have been identified as *Rf* gene with RM3148 marker but not detected with RM490 marker may be due to crossover between the desired gene and marker, so genotypes with fertility restorer gene are fertility restorer lines and can be used in hybrid rice program.

Keywords: Cluster analysis, Hybrid rice, Molecular markers, Panicle fertility