Sari Agriculture Sceinces and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 15, No 48, Winter 2024 p: 14-21

OPEN ACCESS
CC BY NC

"Research paper"

# Genetic and Phenotypic Screening of Different Rice Genotypes According to the Functional Marker Related to the Semi-Dwarfing *Sd1* Gene

**Smaeil Talebi Kouyakhi[1], Bahram Maleki Zanjani[2], Mostafa Modarresi[3] and Alireza Tarang[4]**

1- Ph.D. Student of Agricultural Biotechnology. Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran, (Corresponding author: tal_1351@yahoo.com)
2- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
3- Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
4- Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran Branch North , Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran
Received: 4 June, 2023 Accepted: 15 October, 2023

## Extended Abstract

**Introduction and Objective**: Creating semi-dwarf plants is one of the most important goals in rice breeding. The decrease in the quality and quantity of the crope produced due to the dormancy of the rice plant has a negative effect on the farmers' economy. In order to stabilize the cultivated area and also to supply rice for the country's consumption, it is recommended to introduce cultivars of local origin with semi-dwarfing traits, along with increasing yield. The first step to transferring this trait to local cultivars is screening to identify suitable parents for transferring the semi-dwarf gene and also identifying efficient markers for the advancement of backcrossing projects with the help of markers.

For this purpose, this research was carried out for the phenotypic evaluation and molecular screening of the available genotypes based on the functional markers related to the semi-dwarfing trait.

**Material and Methods**: In this research, 50 local and improved rice genotypes were prepared from the collection of the Rice Research Institute of Iran And the dwarfing trait was investigated based on phenotypic and molecular evaluations in the field related to the band pattern created by a pair of specific primers (semidwarfing gene = *sd1*) contiguous with the gene locus controlling the semi-dwarfing trait. The generalized linear logistic regression model was used to analyze the observed correlation between genes. Also, the hypothesis of a genetic relationship between the *sd1* gene allele and plant height was tested through a logistic regression model.

**Results**: Based on the genetic evaluation, 26 cultivars were found to have the allele of the semi-dwarfing gene and 24 cultivars did not have the allele of this gene, and the used marker is able to predict and differentiate the cultivars for future breeding programs with high confidence and accuracy. The logistic regression results also confirmed this result.

**Conclusion**: According to the observed results, the used functional marker sd1 can be used as an efficient marker for the screening of separating populations to improve the semi-dwarfing trait.

**Keywords:** Functional Marker Efficiency, Genetic Screening, Rice, Semi-Dwarfing Trait

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]

OPEN ACCESS
CC BY NC

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

"مقاله پژوهشی"

# غربالگری ژنتیکی و فنوتیپی ژنوتیپ‌های مختلف برنج بر اساس نشانگر عملکردی مرتبط با ژن نیمه پاکوتاهی *sd1*

**اسمعیل طالبی کویخی[۱]، بهرام ملکی زنجانی[۲]، مصطفی مدرسی[۳] و علیرضا ترنگ[۴]**

۱- دانشجوی دکتری تخصصی بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران، (نویسنده مسوول: tal_1351@yahoo.com)
۲- هیات علمی گروه تولیدوژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی،دانشگاه زنجان، ایران
۳- هیأت علمی موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران
۴- هیات علمی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال کشور، سازمان تحقیقات، آموزش وترویج کشاورزی، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۷/۲۳
صفحه: ۱۴ تا ۲۱

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** ایجاد گیاهان نیمه پاکوتاه یکی از اهداف بسیار مهم در اصلاح برنج است. کاهش کیفیت و کمیت محصول تولیدی بر اثر خوابیدگی بوته برنج، تاثیر منفی بر اقتصاد کشاورزان می‌گذارد. برای ثبات سطح زیر کشت و نیز به‌منظور تامین برنج مصرفی کشور، معرفی ارقام با منشأ محلی دارای صفت نیمه پاکوتاهی به‌همراه افزایش عملکرد توصیه می‌شود. اولین قدم برای انتقال این صفت به ارقام محلی، غربالگری برای شناسایی والدین مناسب جهت انتقال ژن نیمه پاکوتاهی و همچنین شناسایی نشانگرهای کارآمد برای پیشبرد پروژه‌های تلاقی‌برگشتی به کمک نشانگر است. بدین‌منظور این تحقیق در جهت ارزیابی فنوتیپی و غربالگری مولکولی ژنوتیپ‌های در دسترس بر اساس نشانگرهای عملکردی مرتبط با صفت نیمه پاکوتاهی اجرا گردید.

**مواد و روش‌ها:** در این پژوهش ۵۰ ژنوتیپ محلی و اصلاح شده برنج از کلکسیون مؤسسه تحقیقات برنج کشور تهیه شده و صفت نیمه پاکوتاهی بر اساس ارزیابی‌های فنوتیپی در مزرعه و مولکولی مرتبط با الگوی باندی ایجاد شده یک جفت آغازگر اختصاصی (semidwarfing gene= *sd1*) پیوسته با مکان ژنی کنترل کننده صفت نیمه پا کوتاهی مورد بررسی قرار گرفت. از مدل خطی تعمیم یافته رگرسیون لجستیک برای تحلیل همبستگی قابل مشاهده بین ژن‌ها، استفاده شد. همچنین فرضیه وجود ارتباط ژنتیکی بین آلل ژن *sd1* و ارتفاع بوته از طریق یک مدل رگرسیون لجستیک مورد آزمایش قرار گرفت.

**یافته‌ها:** براساس ارزیابی ژنتیکی، تعداد ۲۶ رقم دارای آلل ژن نیمه پاکوتاهی و تعداد ۲۴ رقم فاقد آلل این ژن شناخته شدند که نشانگر مورد استفاده، با اطمینان و دقت بسیار بالا قادر به پیش‌بینی و متمایز کردن ارقام جهت برنامه‌های اصلاحی آتی است. نتایج رگرسیون لجستیک نیز، این نتیجه را تایید نمود.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج مشاهده شده، نشانگر عملکردی *sd1* مورد استفاده می‌تواند به‌عنوان نشانگر کارآمد برای غربالگری جمعیت‌های در حال تفـرق برای بهبود صفت نیمه پاکوتاهی مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** برنج، صفت نیمه پاکوتاهی، غربالگری ژنتیکی، کارآیی نشانگر عملکردی

## مقدمه

برنج یکی از انواع پرمصرف غلات در جهان است که به‌طور گسترده در رژیم غذایی مردم وجود دارد (Modarresi, 2023).

برنج در رتبه سوم تولیدات محصولات غذایی جهان قرار دارد و نیمی از جمعیت جهان از آن تغذیه می‌کنند (Kanafi Lesko Kelayeh et al., 2021). طبق پیش‌بینی‌ها جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ میلادی به ۹/۴ میلیارد نفر می‌رسد و تخمین زده می‌شودکه برای برآورد نیاز سالانه مردم به برنج، تولید آن باید ۱۰میلیون تن در سال (یا بیشتر از ۱/۵ درصد) افزایش یابد (Patra et al., 2015).

برنج بعد از گندم دومین ماده غذایی حیاتی برای بیشتر مردم ایران است (Ardakani & D'Amico, 2020). سرانه مصرف برنج در جهان ۵۸/۸ کیلوگرم بوده (Dehghani et al., 2016) و مصرف سرانه سالانه برنج در ایران حدود ۴۰ کیلوگرم است (Ardakani & D'Amico, 2020).

اصلاح نباتات به شیوه سنتی و مرسوم زمانبر و پر هزینه است و موارد زیر را می‌توان از مهمترین معایب آن نام برد: امکان شناسایی گیاهان مطلوب دارای ژن‌های مغلوب و امکان مقایسه صفات غیر قابل مشاهده وجود ندارد که نتیجه آن دشواری انتخاب گیاهان برتر در روش گسترش سریع نسل‌ها می‌باشد. امروزه از فناوری‌های نوین به‌خصوص فناوری‌های مولکولی استفاده می‌شود (Lau et al., 2015).

اساس اصلاح گیاهان به‌روش سنتی انتخابِ فنوپیپی ژنوپیپ‌های برتر است و تنوع ژنوتیپی پایه به‌نژادی و توسعه ارقام جدید می‌باشد (Salgotra & Stewart Jr, 2020).

در سال‌های اخیر رشد و استفاده از فن‌آوری مولکولی باعث کاهش هزینه و زمان و افزایش سرعت و دقت پروژه‌های به‌نژادی شده و انقلابی در برنامه‌های اصلاح نباتات ایجاد کرده است (Lau et al., 2015). هرچند بعضی از نشانگرهای به‌کارگرفته شده توسط محققان بر پایه DNA تصادفی هستند که فاقد مشخصات فنوتیپی لازم می‌باشند (Kage et al., 2016).

استفاده از فناوری‌های جدید و تعیین توالی ژنوم، موجب ایجاد نشانگرهای عملکردی بر پایه‌ی چندشکلی در ژن‌های مرتبط با فنوتیپ و نواحی رمز کننده شده است. برای استفاده از نشانگرهای عملکردی ابتدا باید توالی ژن‌های عملکردی چندشکل مشخص شود. نشانگرهای عملکردی در گزینش به کمک نشانگر، تحقیقات فیلوژنتیکی، مکان‌یابی QTLهای مختلف پیوسته با صفات، همسانه‌سازی ژن و تخمین تنوع ژنتیکی کاربرد دارند (Zhang et al., 2005).

اصلاح دقیق روشی برای اصلاح گیاهان می‌باشد که در آن صفت فنوتیپی موردنظر با شناسایی یک نشانگر عملکردی[۱] انتخاب می‌شود. به نشانگرهای عملکردی، نشانگرهای کامل، نشانگرهای دقیق، نشانگرهای تشخیصی نیز گفته می‌شود. نشانگرهای عملکردی شناسایی و غربالگری

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]

مؤثر و سریع ژرم‌پلاسم را برای تنوع آللی با دقت امکان‌پذیر می‌کنند چرا که در معرض نوترکیبی قرار ندارند (Salgotra & Stewart Jr, 2020).

شناسایی چند شکلی‌های عملکردی منجر به شناسایی توالی آمینو اسید تغییر یافته و تنوع صفت فنوتیپی می‌شود که در توسعه موفقیت‌آمیز نشانگرهای مولکولی عملکردی بسیار مهم است (Kage et al., 2016). مزیت نشانگرهای عملکردی نسبت به سایر نشانگرها، پیوستگی بالای آن‌ها با فنوتیپ است. نشانگرهای عملکردی به‌دلیل ارتباط کامل با آلل‌های منبع صفت از نشانگرهای مبتنی بر DNA تصادفی[۲] مانند RFLPها، SSRها و AFLPها برتر هستند (Gupta et al., 2010; Lau et al., 2015). با توجه به مشکلات نشانگرهای مبتنی بر DNA تصادفی امروزه می‌توان با استفاده از نشانگرهای عملکردی ضمن غلبه بر این مشکلات، به‌طور صد در صد فنوتیپ مربوطه را پیش‌بینی کرد (Spielmeyer et al., 2002). بنابراین برای بررسی یک صفت با تعداد محدودی از نشانگرهای عملکردی می‌توان نسبت به ردیابی حضور ژن و یا آلل مربوطه اقدام نمود. در سنجش فنوتیپی تفاوت هموزیگوت از هتروزیگوت مشخص نیست، اما با استفاده از نشانگرهای عملکردی انتخاب ژنوتیپ موردنظر در مرحله آغاز نمو میسر است (Gupta et al., 2010; Lau et al., 2015).

عوامل متعددی در کاهش عملکرد محصول برنج موثر هستند که یکی از مهمترین آنها به‌خصوص در ایران خوابیدگی بوته یا ورس می‌باشد. خمیدگی و شکستگی ساقه، نوع اصلی ورس یا خوابیدگی در برنج غرقابی (Lowland) محسوب می‌شود که علت اصلی آن افزایش وزن خوشه در دوره رسیدگی و افزایش طول میانگره پایینی با افزایش سطح آب و وقوع شرایط نامساعد آب و هوایی از جمله باد و باران شدید در اواخر فصل رشد است (Kono, 1995).

خوابیدگی علاوه بر کاهش عملکرد به‌طور مستقیم باعث افزایش هزینه های برداشت، کاهش کیفیت محصول (افزایش رطوبت دانه و شکستگی دانه با تولید نیمدانه بیشتر و خال زدگی دانه)، عدم امکان برداشت ماشینی و افزایش هزینه های پرداخت خسارت بیمه محصولات کشاورزی برای صندوق بیمه می‌شود.

در اصلاح نباتات کاهش ارتفاع بوته، هدف اصلی برای اصلاح در جهت مقاومت به خوابیدگی بوته است (Ishimaru et al., 2008). در ارقام محلی که به‌دلیل ارتفاع زیاد دچار ورس یا خوابیدگی می‌شوند، کاهش ارتفاع بوته اهمیت زیادی دارد (Khazaie, 2022).

واریته‌های برنج نیمه پاکوتاه توسط به‌نژادگران چینی در دهه ۱۹۵۰ و اصلاحگران موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج در دهه ۱۹۶۰ توسعه داده شدند (Xie et al., 2015).

گزارش شده است که ژن *sd1* می‌تواند ارتفاع گیاه را تا ۲۵ درصد کاهش دهد که این کاهش را از طریق کاهش تقریباً متناسب پنج میانگره بالایی انجام می‌دهد و این تغییر عملاً هیچ تاثیری بر طول پانیکول ندارد (Rutger et al., 2004).

ژن *sd1* کدکننده هورمون جیبرلیک اسید ۲۰ اکسیداز ۲ (GA20ox-2) می‌باشد که یک آنزیم کاتالیز کلیدی در سنتز جیبرلیک اسید فعال زیستی است و جهش‌یافته‌های *sd1* نمی‌توانند جیبرلیک اسید زیست فعال کافی برای افزایش طول ساقه را جمع‌آوری کرده و تجمیع نمایند (Spielmeyer et al., 2002).

جیبرلیک اسید فعال برای تشکیل گل و باروری ضرورت دارد. با این‌وجود غیر از ارتفاع گیاه هیچ ناهنجاری آشکاری در جهش‌یافته‌های *sd1* یافت نشده است. این امر ممکن است با تجمع GA20ox-1 که عمدتاً توسط اندام‌های زایشی تولید می‌شود، جبران شود (Sasaki et al., 2002).

ژن *sd1* هنوز هم به‌عنوان منبع شناخته شده جهت تعدیل ارتفاع گیاه به‌دلیل اثرات منفی کم آن مورد استفاده قرار می‌گیرد (Zhang et al., 2020).

ژن*sd1* که در ابتدا از رقم Dee-Geo-Woo-Gen شناسایی شد، دارای یک ناحیه حذف ۳۸۳ جفت باز که بخش‌هایی از اگزون ۱ و اگزون ۲ را در برمی‌گیرد می‌باشد. این حذف باعث ایجاد تغییر در چهارچوب یا قالب خواندن ترجمه و در نتیجه ایجاد یک کدون پایان یا خاتمه می‌شود (Ashikari et al., 2002).

اطلاعات شجره‌نامه و تاریخچه به‌نژادی برنج نشان می‌دهد که معرفی آلل *sd1* از DGWG به IR8 تا حدود زیادی به بهبود عملکرد واریته‌های جدید کمک کرد (Huang et al., 2018؛ McNally et al., 2009؛ Xie et al., 2015).

از مزیت‌های استفاده از نشانگرهای مولکولی نیاز به مقدار کم نمونه، تجزیه و تحلیل با دقت و صحت زیاد، در زمان و هزینه کمتر و شناسایی بوته‌های موردنظر در مرحله گیاهچه‌ای است (Cordeiro et al., 2002).

در برنج تعدادی از نشانگرهای عملکردی برای صفاتی مثل کیفیت دانه، عملکرد دانه و مقاومت در برابر تنش به‌کار برده شده اند (Zhang et al., 2020).

این تحقیق به‌منظور ارزیابی فنوتیپی و غربالگری مولکولی تعدادی از ژنوتیپ‌های برنج، بر اساس نشانگر عملکردی مرتبط با صفت نیمه پاکوتاهی اجرا گردید. نتایج این تحقیق برای اجرای پروژه‌های تولید گیاهان نیمه‌پاکوتاه با استفاده از ارقام محلی برنج ایرانی و به‌کمک روش تلاقی‌برگشتی به‌کمک نشانگر مفید خواهد بود.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل ۵۰ ژنوتیپ محلی و اصلاح شده برنج بود که از کلکسیون مؤسسه تحقیقات برنج کشور تهیه گردیدند (جدول۲). بذور مورد نظر در مزرعه موسسه تحقیقات برنج کشور در رشت واقع در عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی و ۴۱ درجه و ۳۶ دقیقه طول جغرافیایی شرقی در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ کاشته شدند. در مرحله رویشی برگ‌های جوان تمامی ژنوتیپ‌ها از گیاهچه‌های دوهفته‌ای برش داده شده و تا زمان انجام آزمایشات ژنتیکی در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. جهت انجام آزمون‌های

1- Functional Markers
2- RDMs or Random DNA Markers

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]
[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]

مولکولی، استخراج DNA از نمونه‌های برگی جوان به‌روش CTAB[1] انجام شد (Doyle, 1991). از نحوه تشکیل نوارها برروی ژل آگارز ۰/۷ درصد در الکتروفورز به‌عنوان معیاری برای تعیین کیفیت DNA استفاده گردید. روش اسپکتروفتومتر نیز به‌عنوان روشی مکمل برای تعیین کیفیت و کمیت (غلظت) DNA مورد استفاده قرار گرفت. برای غربالگری نمونه‌ها با استفاده از نشانگرهای عملکردی، از یک جفت آغازگر وابسته به ژن نیمه پاکوتاهی *sd1* استفاده شد (جدول ۱). پس از تعیین غلظت، نمونه‌های DNA برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR)، رقیق و با استفاده از آغازگرهای نشانگر عملکردی شامل ۴۰ نانوگرم DNA الگو ۱۰ میلی‌مولار dNTPs، دو میلی‌مولار MgCl2، ۰/۲ میکرومولار از هریک از آغازگرها، بافر ۱X PCR و یک واحد آنزیم TaqDNA پلیمراز در حجم ۲۰ مایکرولیتر انجام شد. چرخه حرارتی در دستگاه ترموسایکلر با برنامه زمانی خاص واسرشته‌سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، واسرشته‌سازی به‌مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد سپس ۳۵ چرخه به‌صورت ۱ دقیقه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال آغازگر ۶۴/۵ درجه سانتیگراد، یک دقیقه مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. پس از انجام واکنش PCR، برای آشکارسازی باندها و مشاهده باندهای حاصل از الکتروفورز، از ژل آگارز ۳ درصد و رنگ‌آمیزی با رنگ ایمن SAFE STAIN، و برای آشکارسازی باندهای حاصله زیر نور ماوراء بنفش با استفاده ازدستگاه ژل داک صورت پذیرفت. برای اطمینان از صحت نتایج، آزمایشات دوبار تکرار و حضور یا عدم حضور باندهای مرتبط با ژن‌ها به‌ترتیب با یک و صفر امتیازدهی گردید. محاسبات آماری این مطالعه با استفاده از نسخه ۲۶ نرم‌افزار IBM SPSS statistics و نسخه ۲۰۱۹ نرم‌افزار Microsoft Excel انجام شده و برای تحلیل همبستگی قابل مشاهده بین ژن‌ها، از مدل خطی تعمیم یافته رگرسیون لجستیک استفاده شد.

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

Table 1. The characteristics of applied oligos in this research

| Linked Gene | marker | Chromosome number | Primer Sequence | Annealing Temp | Expected fragment size | Reference |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *sd1* | h | 1 | F:CACGCACGGGTTCTTCCAGGTG<br>R:AGGAGAATAGGAGATGGTTTACC | 64.5 | 384/731 | Raina et al 2019 |

## نتایج و بحث

در این تحقیق، نشانگر *sd1* توانست ارقام نیمه پاکوتاه و پا بلند را به‌خوبی از هم متمایز نماید و قطعه‌ی تولید شده با اندازه حدود ۳۸۴ جفت باز برای ژنوتیپ‌های نیمه پاکوتاه و ۷۳۱ جفت باز برای ژنوتیپ‌های پا بلند بود. از ۵۰ ژنوتیپ موردمطالعه، ۲۶ ژنوتیپ نیمه پاکوتاه و ۲۴ ژنوتیپ غیرنیمه پاکوتاه درست شناسایی شدند. بر این اساس می‌توان اظهار داشت که از نشانگر اختصاصی عملکردی در برنامه اصلاحی برای گزینش غیرمستقیم می‌توان استفاده کرد.

نتایج نشانگر *sd1* با نتایج حاصل از ارزیابی فنوتیپی منطبق بود. در نتیجه می‌توان از آنها به‌عنوان یک معیار گزینش ارزان و سریع در شناسایی ژنوتیپ‌های نیمه پاکوتاه و پابلند استفاده کرد.

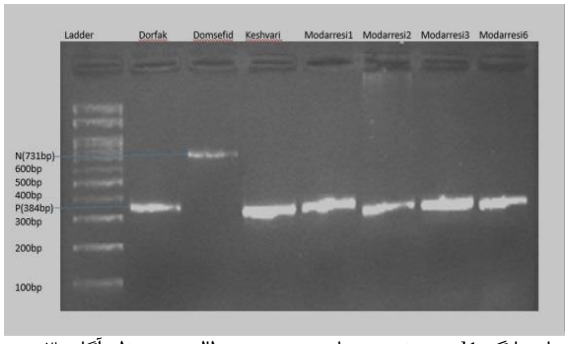
جهت آنالیز آماری با توجه به دو وضعیتی بودن متغیر صفت نیمه پاکوتاهی برای تحلیل داده‌ها از رگرسیون لجستیک استفاده شد. برازندگی مدل لجستیک در جدول خلاصه مدل و اعداد ۰/۷۵ و ۱/۰۰۰ نشان از مناسب بودن مدل رگرسیونی هستند. طبق نتایج و با توجه به p مقدار که برای تمام متغیرهای مستقل از ۵ درصد کوچکتر است وجود تمامی آنها در مدل رگرسیونی معنادار است. در نتیجه با توجه به صفر بودن (.000a) نسبت درست نمایی لگاریتمی برازش الگوی رگرسیون لجستیک مناسب است. بنابراین مدل برازش داده شده به‌صورت ذیل خواهد بود:

$$P(x) = \frac{e^{545.414-4.493x}}{1+e^{545.414-4.493x}}$$

منفی بودن ضریب بتا (-4.493) و مقدار کمتر از یک exp(B) بیانگر رابطه معکوس بین وجود آلل ژن نیمه پاکوتاهی و ارتفاع بوته می‌باشد. پیش از این نیز مطالعات زیادی برای استفاده از روش رگرسیون لجستیک برای بررسی ارتباط نتایج حاصل از نشانگرهای مولکولی و فنوتیپ مشاهده شده انجام شده است. به‌عنوان مثال از این روش برای بررسی ارتباط میان مقاومت به بیماری ویروسی و نشانگرهای مولکولی (Mcharo et al., 2005) بتاکاروتن و نشانگرهای مولکولی (Mcharo & LaBonte, 2010) در سیب‌زمینی شیرین و یا نشانگرهای مرتبط با ژن‌های مقاومت به بیماری بلاست و بروز مقاومت به بیماری در شرایط مزرعه برنج (Yang et al., 2017) استفاده شده است.

[1] Cetyltrimethyl ammonium bromide

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]
[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]




شکل ۱- نمونه باندهی با نشانگر sd1. در ژنوتیپ‌های برنج موردمطالعه روی ژل آگارز ۳ درصد و نشانگر اندازه bp384.

Figure 1. Example of marker banding with sd1 marker.for semi dwarf in the studied rice genotypes on 3% agarose gel and 384 bp ladder

جدول ۲- مقایسه‌ی نتایج ارزیابی فنوتیپی و نشانگرهای مولکولی برای صفت نیمه پاکوتاهی در ژنوتیپ‌های برنج

Table 2. Comparison phenotyping and molecular markers results for semi dwarf trait in rice genotypes

| *sd1* | Plant Height ارتفاع گیاه | تیپ | Type | ژنوتیپ | Genotype |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 116 | اصلاح شده | Improved | ای ۸۵-۰۱ | A85-01 |
| 0 | 163 | محلی | Local | آبجی بوجی ۱ | Abji Booji1 |
| 0 | 163 | محلی | Local | آبجی بوجی ۲ | Abji Booji2 |
| 0 | 160 | محلی | Local | اهلمی طارم ۱ | Ahlami Tarom1 |
| 0 | 164 | محلی | Local | اهلمی طارم ۲ | Ahlami Tarom2 |
| 1 | 110 | اصلاح شده | Improved | انام | Anam |
| 0 | 165 | محلی | Local | عنبربو | Anbarboo |
| 0 | 165 | محلی | Local | عنبربوایلام | Anbarboo Ilam |
| 1 | 105 | اصلاح شده | Improved | بی ۱۱۵ | B115 |
| 0 | 149 | محلی | Local | بی نام | Binam |
| 0 | 164 | محلی | Local | چمپا بودار | Champa boodar |
| 0 | 189 | محلی | Local | دم سفید | Dom Sefid |
| 0 | 159 | محلی | Local | دم سیاه | Dom Siah |
| 0 | 156 | محلی | Local | دم زرد | Dom Zard |
| 1 | 115 | اصلاح شده | Improved | درفک | Dorfak |
| 0 | 140 | محلی | Local | غریب سیاه ریحانی | Gharib Siah Reyhani |
| 0 | 140 | اصلاح شده | Improved | قدسی | Ghodsi |
| 1 | 115 | اصلاح شده | Improved | گوهر | Gohar |
| 1 | 118 | اصلاح شده | Improved | گوهر موتانت۱ | Gohar Mutant 1 |
| 0 | 155 | محلی | Local | حسن سرائی | Hassan Saraee |
| 0 | 155 | محلی | Local | حسن سرائی آتش گاه | Hassan Saraee Atashgah |
| 0 | 135 | محلی | Local | حسنی | Hassani |
| 1 | 100 | اصلاح شده | Improved | آی آر ۳۶ | IR36 |
| 1 | 108 | اصلاح شده | Improved | کا۸۷ | K87 |
| 0 | 136 | اصلاح شده | Improved | کا۹۶ | K96 |
| 1 | 118 | اصلاح شده | Improved | کشوری | Keshvari |
| 1 | 100 | اصلاح شده | Improved | کوهسار | Koohsar |
| 1 | 113 | اصلاح شده | Improved | لاین ۷ | Line 7 |
| 1 | 117 | اصلاح شده | Improved | لاین ۲۳ | Line23 |
| 1 | 105 | اصلاح شده | Improved | مدرسی ۱ | Modarresi 1 |
| 1 | 112 | اصلاح شده | Improved | مدرسی۲ | Modarresi 2 |
| 1 | 116 | اصلاح شده | Improved | مدرسی ۳ | Modarresi 3 |
| 1 | 109 | اصلاح شده | Improved | مدرسی ۴ | Modarresi 4 |
| 1 | 108 | اصلاح شده | Improved | مدرسی۵ | Modarresi 5 |
| 1 | 110 | اصلاح شده | Improved | مدرسی۶ | Modarresi 6 |
| 1 | 115 | اصلاح شده | Improved | مدرسی۷ | Modarresi 7 |
| 0 | 132 | اصلاح شده | Improved | مدرسی۸ | Modarresi 8 |
| 0 | 135 | محلی | Local | محمدی چپرسر | Mohammadi Chaparsar |
| 1 | 112 | اصلاح شده | Improved | نعمت | Nemat |
| 1 | 115 | اصلاح شده | Improved | راش | Rash |
| 1 | 118 | اصلاح شده | Improved | روشن ام | Roshan M |
| 1 | 116 | اصلاح شده | Improved | صالح | Saleh |
| 0 | 130 | محلی | Local | سنگ طارم | Sang Tarom |
| 1 | 110 | اصلاح شده | Improved | سپیدرود | Sepidrood |
| 1 | 110 | اصلاح شده | Improved | شفق | Shafagh |
| 0 | 150 | محلی | Local | شاه پسند | Shahpasand |
| 0 | 151 | محلی | Local | تی ۱۹۶ | T196 |
| 0 | 125 | اصلاح شده | Improved | تتپ | Tetep |
| 0 | 130 | اصلاح شده | Improved | تی اچ ۱ | TH1 |
| 1 | 110 | اصلاح شده | Improved | زنیت | Zenit |

+: نیمه پاکوتاهی -: غیر پاکوتاهی ۰: غیرپاکوتاهی: ۱

1:semi dwarf ۰:nonsemi dwarf +:semi dwarf -: Non-semi dwarf

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]

جدول ۳- درصدصحت طبقه‌بندی الگوی رگرسیون لجستیک، متغیرهای معادله، متغیرهای بیرون از معادله، خلاصه مدل
Table 3. Percentage accuracy of logistic regression model classification, equation variables, variables outside the equation, model summary

| درصد صحت پیش‌بینی Prediction accuracy percentage | ژنوتیپ Genotype: غیر پاکوتاه Non-Semi dwarf | ژنوتیپ Genotype: پاکوتاه Semi dwarf | درصد کل Overall Percentage | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0.100.0 | 240 | 026 | 100.0 | | | |
| | ضریب بتا Beta coefficient | خطای استاندارد Standard error (S.E.) | والد Wald | درجه آزادی df | معنی‌داری Sig. | Exp (B) |
| a | -4.493 | 398.015 | .000 | 1 | .991 | .011 |
| ضریب ثابت Constant | 546.414 | 4.839E4 | .000 | 1 | .991 | 2.017E237 |

| متغیرهای مستقل Independent variables | نمره Score | درجه آزادی df | معنی‌داری Sig. |
|---|---|---|---|
| Sd1 | 50.000 | 27 | .000 |

| مرحله Step | منهای دو لگاریتم لاکلیهود -2 Log likelihood | ضریب R کاکس و اسنل Cox & Snell R Square | ضریب R نگلکرک Nagelkerke R Square |
|---|---|---|---|
| 1 | .000[a] | .750 | 000.1 |

مکانیسم‌ها و ژن‌های کنترل کننده ارتفاع برنج بیش از هر محصول زراعی دیگر مورد بررسی قرار گرفته است (Liu et al., 2018).

جهش یافته‌های پاکوتاهی در گیاهان برای روشن ساختن فرآیندهای رشد و نمو بسیار مهم هستند هرچند این خصوصیت یک صفت مطلوب در اصلاح گیاهان است (Ashikari et al., 1999). ولی بیشتر جهش یافته‌های پاکوتاه برنج به‌دلیل همراه بودن با یک یا چند صفت نامطلوب مثل عقیمی قابل استفاده جهت به‌نژادی نیستند (Neeraja et al., 2009).

زمانیکه ژن‌های پاکوتاهی و عملکرد شناسایی شدند می‌توان نشانگرهای عملکردی را توسعه داد و این می‌تواند به‌منظور شناسایی ژنوتیپی در جهت اصلاح ارتفاع محصول یا به‌عنوان پایه‌ای برای انتخاب ژنوم استفاده شود (Liu et al., 2018).

از نظر فنوتیپی، جهش در ژن *sd1* در ارقام نیمه پاکوتاه به‌طور چشمگیری با کاهش ارتفاع گیاه یا طول ساقه مرتبط است که می‌تواند باعث افزایش مقاومت به خوابیدگی و افزایش شاخص برداشت شود (Peng et al., 1999).

در سال ۲۰۱۷ ارقام نیمه پاکوتاه ۸۰ درصد از سطح زیر کشت مزارع برنج لوئیزانا و ۵۵ درصد از سطح زیر کشت برنج آمریکا را به‌خود اختصاص داده‌اند (Salassi et al., 2018).

بررسی ارقام وحشی برای ژن *sd1* نشان داد که وجود آن باعث افزایش وزن کلی خوشه، تعداد انشعابات اولیه هر خوشه، تعداد دانه در هر خوشه و طول نسبی دانه‌ها و کاهش عرض دانه می‌شود (Jia et al., 2020).

آلل عملکردی *sd1* قابلیت افزایش زیست‌توده کل و همچنین مقاومت به خوابیدگی را دارا می‌باشد اگرچه ممکن است سبب حساسیت به خوابیدگی از نوع خمشی شود (Okuno et al., 2014).

تجزیه و تحلیل پیوستگی ژنی ثابت کرد که آلل *sd1* تنظیم‌کننده کلیدی برای ارتفاع گیاه علیرغم اپیستازی پیچیده است (Zhang et al., 2020). پیشنهاد شده است که مقاومت به خوابیدگی می‌تواند با مشارکت ژن *sd1* و مکان‌های ژنی ایجاد ساقه قویتر حاصل شود و با این دیدگاه، لاین‌های برنج با مقاومت عالی در برابر خوابیدگی و عملکرد بالای دانه به‌دست آمده است (Nomura et al., 2019).

نتایج Hu و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد که گیاهان انتخابی برای ژن *sd1* به‌خوبی دارای مکان ژنی موردنظر هستند که باعث کاهش ارتفاع گیاه به‌منظور مقاومت بهتر به خوابیدگی و در نتیجه سازگاری با شرایط استفاده از کود ازته زیاد و به‌دست آوردن شاخص برداشت بالا می‌شود (Hu et al., 2019).

نتایج ارزیابی مولکولی و تعیین ژنوتیپ ارقام مختلف برنج از نظر صفت نیمه پا کوتاهی نشان داد ۲۶ ژنوتیپ دارای آلل ژن *sd1* و ۲۴ ژنوتیپ فاقد آلل این ژن هستند که با نتایج آزمون فنوتیپی اندازه‌گیری ارتفاع بوته مطابقت داشت.

همچنین راینا و همکاران در سال ۲۰۱۹ توانستند با موفقیت ژن*sd1* را به رقم باسماتی منتقل کنند (Raina et al., 2019).

نشانگرهای عملکردی را می‌توان برای تثبیت آلل‌های مفید در جمعیت اصلاحی استفاده کرد (Varshney et al., 2005).

نتایج وانگ و همکاران نشان داد که هرمی کردن ژن‌های *sd1* و HTD1 ظرفیت بالقوه زیادی در افزایش عملکرد دانه ارقام جاپونیکا دارد (Wang et al., 2020).

## نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگر مولکولی *sd1* می‌تواند به‌خوبی در برنامه‌های اصلاحی به‌منظور بهره‌مندی از مزایای پاکوتاهی استفاده شود و بدین‌منظور غربالگری گیاهچه‌ها برای کاهش زمان اصلاحی پس از انجام تلاقی، با هدف حفظ گیاهان واجد این ژن و حذف گیاهان فاقد آن، برای پیشبرد برنامه‌های توسعه سریع نسل‌ها قابل انجام می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

از مسوول محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات برنج کشور سرکار خانم دکتر خزائی، کارشناس آزمایشگاه سرکار خانم مهندس جمالزاده، معاون محترم

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]
[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]

پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور جناب جناب آقای دکتر صیقلانی معاون محترم پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور و کارشناسان آزمایشگاه ژنومیکس پژوهشکده مذکور خانم مهندس جوادی و آقای مهندس پتکی در زمینه همکاری در اجرای این برنامه تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع

Ardakani, Z., & D'Amico, S. (2020). Improving food security in Iran: quantifying post-harvest rice losses. *Journal of Horticulture and Postharvest Research*, *3*(2), 183-194.

Ashikari, M., Sasaki, A., Ueguchi-Tanaka, M., Itoh, H., Nishimura, A., Datta, S., Ishiyama, K., Saito, T., Kobayashi, M., & Khush, G. S. (2002). Loss-of-function of a rice gibberellin biosynthetic gene, GA20 oxidase (GA20ox-2), led to the rice 'green revolution'. *Breeding science*, *52*(2), 143-150. https://doi.org/https://doi.org/10.1270/jsbbs.52.143

Ashikari, M., Wu, J., Yano, M., Sasaki, T., & Yoshimura, A. (1999). Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene Dwarf 1 encodes the α-subunit of GTP-binding protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *96*(18), 10284-10289.

Cordeiro, G. M., Christopher, M. J., Henry, R. J., & Reinke, R. F. (2002). Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence. *Molecular Breeding*, *9*, 245-250.

Dehghani, M., Mosaferi, F., & Alipour, V. (2016). Heavy Metals in the Imported and Iranian Rice Consumed in Hormozgan Province. *Journal of Health Sciences & Surveillance System*, *4*(3), 106-110.

Doyle, J. (1991). DNA protocols for plants. *Molecular techniques in taxonomy*, 283-293.

Gupta, P., Kumar, J., Mir, R., & Kumar, A. (2010). 4 Marker-assisted selection as a component of conventional plant breeding. *Plant breeding reviews*, *33*, 145.

Hu, X., Cui, Y., Dong, G., Feng, A., Wang, D., Zhao, C., Zhang, Y., Hu, J., Zeng, D., & Guo, L. (2019). Using CRISPR-Cas9 to generate semi-dwarf rice lines in elite landraces. *Scientific Reports*, *9*(1), 19096. https://doi.org/https://doi.org/10.1038/s41598-019-55757-9

Huang, J., Li, J., Zhou, J., Wang, L., Yang, S., Hurst, L. D., Li, W.-H., & Tian, D. (2018). Identifying a large number of high-yield genes in rice by pedigree analysis, whole-genome sequencing, and CRISPR-Cas9 gene knockout. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *115*(32), E7559-E7567.

Ishimaru, K., Togawa, E., Ookawa, T., Kashiwagi, T., Madoka, Y., & Hirotsu, N. (2008). New target for rice lodging resistance and its effect in a typhoon. *Planta*, *227*, 601-609.

Jia, X., Yu, L., Tang, M., Tian, D., Yang, S., Zhang, X., & Traw, M. B. (2020). Pleiotropic changes revealed by in situ recovery of the semi-dwarf gene sd1 in rice. *Journal of plant physiology*, *248*, 153141. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153141

Kage, U., Kumar, A., Dhokane, D., Karre, S., & Kushalappa, A. C. (2016). Functional molecular markers for crop improvement. *Critical reviews in biotechnology*, *36*(5), 917-930.

Kanafi Lesko Kelayeh, M., Bagheri, N., Babaeian Jelodar, N., & Ghajar Sepanlou, M. (2021). Effect of Cadmium Stress on Morphophysiological Traits of Rice Seedlings [Research]. *Journal of Crop Breeding*, *13*(37), 11-21 (In Persian). https://doi.org/10.52547/jcb.13.37.11

Khazaie, L. (2022). Genetic variation of some agronomic characteristics and grain quality traits of rice mutant genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 77-89 (In Persian).

Kono, M. (1995). Physiological aspects of lodging. In K. K. Matsuo, R. Ishii, K. Ishihara, and H. Hirata (Ed.), *Science of the Rice Plant, Vol. 2, Physiology 2* (pp. 971–982). Food and Agricultural Policy Research Centre.

Lau, W. C., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Puteh, A., Latif, M. A., & Ramli, A. (2015). Review of functional markers for improving cooking, eating, and the nutritional qualities of rice. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 832.

Liu, F., Wang, P., Zhang, X., Li, X., Yan, X., Fu, D., & Wu, G. (2018). The genetic and molecular basis of crop height based on a rice model. *Planta*, *247*, 1-26. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00425-017-2798-1

Mcharo, M., LaBonte, D., Mwanga, R., & Kriegner, A. (2005). Associating molecular markers with virus resistance to classify sweetpotato genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *130*(3), 355-359.

Mcharo, M., & LaBonte, D. R. (2010). Multivariate selection of AFLP markers associated with β-carotene in sweetpotatoes. *Euphytica*, *175*, 123-132.

McNally, K. L., Childs, K. L., Bohnert, R., Davidson, R. M., Zhao, K., Ulat, V. J., Zeller, G., Clark, R. M., Hoen, D. R., & Bureau, T. E. (2009). Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(30), 12273-12278.

Modarresi, M. (2023). Rice Breeding in Iran, Current Status and Future Perspective. *Plant Breeding and Biotechnology*, *11*(2), 97-104.

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]

Neeraja, C. N., Vemireddy, L. R., Malathi, S., & Siddiq, E. A. (2009). Identification of alternate dwarfing gene sources to widely used Dee-Gee-Woo-Gen allele of sd1 gene by molecular and biochemical assays in rice (Oryza sativa L.). *Electronic Journal of Biotechnology*, *12*(3), 7-8.

Nomura, T., Arakawa, N., Yamamoto, T., Ueda, T., Adachi, S., Yonemaru, J.-i., Abe, A., Takagi, H., Yokoyama, T., & Ookawa, T. (2019). Next generation long-culm rice with superior lodging resistance and high grain yield, Monster Rice 1. *PLoS One*, *14*(8), e0221424.

Okuno, A., Hirano, K., Asano, K., Takase, W., Masuda, R., Morinaka, Y., Ueguchi-Tanaka, M., Kitano, H., & Matsuoka, M. (2014). New approach to increasing rice lodging resistance and biomass yield through the use of high gibberellin producing varieties. *PLoS One*, *9*(2), e86870. https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal pone.0086870

Patra, B., Umakant, N., Roy, S., & Mohapatra, T. (2015). Genetic and genomic resources for grain cereals improvement. In: ICAR-NRRI.

Peng, J., Richards, D. E., Hartley, N. M., Murphy, G. P., Devos, K. M., Flintham, J. E., Beales, J., Fish, L. J., Worland, A. J., & Pelica, F. (1999). 'Green revolution'genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, *400*(6741), 256-261. https://doi.org/https://doi.org/10.1038/22307

Raina, M., Salgotra, R. K., Pandotra, P., Rathour, R., & Singh, K. (2019). Genetic enhancement for semi-dwarf and bacterial blight resistance with enhanced grain quality characteristics in traditional Basmati rice through marker-assisted selection. *Comptes rendus biologies*, *342*(5-6), 142-153.

Rutger, J., Moldenhauer, K., Gibbons, J., Anders, M., & Bryant, R. (2004). Registration of LGRU ef early flowering mutant of rice. *Crop Science*, *44*(4), 1498-1499.

Salassi, M., Linquist, B., & Tarpley, L. (2018). Proceedings of 37th Rice Technical Working Group Conference. Long Beach.

Salgotra, R. K., & Stewart Jr, C. N. (2020). Functional markers for precision plant breeding. *International journal of molecular sciences*, *21*(13), 4792. https://doi.org/https://doi:10.3390/ijms21134792

Sasaki, A., Ashikari, M., Ueguchi-Tanaka, M., Itoh, H., Nishimura, A., Swapan, D., Ishiyama, K., Saito, T., Kobayashi, M., & Khush, G. S. (2002). A mutant gibberellin-synthesis gene in rice. *Nature*, *416*(6882), 701-702.

Spielmeyer, W., Ellis, M. H., & Chandler, P. M. (2002). Semidwarf (sd-1),"green revolution" rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *99*(13), 9043-9048. https://doi.org/https://doi.org/10.1073/pnas.132266399

Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. (2005). Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends in Plant Science*, *10*(12), 621-630.

Wang, Y., Shang, L., Yu, H., Zeng, L., Hu, J., Ni, S., Rao, Y., Li, S., Chu, J., & Meng, X. (2020). A strigolactone biosynthesis gene contributed to the green revolution in rice. *Molecular plant*, *13*(6), 923-932. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.03.009

Xie, W., Wang, G., Yuan, M., Yao, W., Lyu, K., Zhao, H., Yang, M., Li, P., Zhang, X., & Yuan, J. (2015). Breeding signatures of rice improvement revealed by a genomic variation map from a large germplasm collection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*(39), E5411-E5419.

Yang, Y., Zhang, H., Xuan, N., Chen, G., Liu, X., Yao, F., & Ding, H. (2017). Identification of blast resistance genes in 358 rice germplasms (Oryza sativa L.) using functional molecular markers. *European Journal of Plant Pathology*, *148*, 567-576

Zhang, L.-P., Ge, X.-X., He, Z.-H., Wang, D.-S., Yan, J., Xia, X.-C., & Sutherland, M. W. (2005). Mapping QTLs for polyphenol oxidase activity in a DH population from common wheat. *Zuowu Xuebao*, *31*(1), 7-10.

Zhang, L., Bian, Z., Ma, B., Li, X., Zou, Y., Xie, D., Liu, J., Ren, Y., Zhang, C., & Wang, J. (2020). Exploration and selection of elite Sd1 alleles for rice design breeding. *Molecular Breeding*, *40*, 1-16. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11032-020-01161-5

[ Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29 ]

[ DOI: 10.61186/jcb.15.48.14 ]