

شناسایی لاین های اعاده کننده باروری در برنج برای سیتوپلاسم نرعقیم WA

Identification of fertility restorer lines in rice for WA-male sterile cytoplasm

عارف میرزاباباپور امیری^۱، غفار کیانی^{۲*}، سید کمال کاظمی تبار^۳

۱. دانش آموخته اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲. گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، دانشیار، (نگارنده مسئول)
۳. گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، دانشیار

تاریخ دریافت: ۱۳/۱۰/۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: ۱۵/۰۴/۱۴۰۰ - شناسانه برنمود رقمی: 10.22092/aj.2021.352995.1522

چکیده

میرزاباباپور، ع.، کیانی، غ.، کاظمی تبار، س.ک.، شناسایی لاین های اعاده کننده باروری در برنج برای سیتوپلاسم نرعقیم WA
نشریه پژوهش های کاربردی زراعی دوره ۳۴ - شماره ۲ - پایبند ۱۳۱ تابستان ۱۴۰۰ صفحه: ۲۸-۱۳

به منظور بررسی صفات زراعی ۱۶ ژنوتیپ جدید اعاده کننده باروری در برنج و همچنین ارزیابی ژنوم هسته ای آن ها، آزمایشی در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در طی سال های ۹۷ و ۹۸ انجام گرفت. در سال اول صفات زراعی ژنوتیپ های اعاده کننده باروری از جمله ارتفاع بوته، تعداد پنجه، طول خوشه، تعداد دانه، تعداد دانه پر، طول دانه، قطر دانه، وزن هزار دانه و عملکرد دانه اندازه گیری و این ژنوتیپ ها با پایه نرعقیم ندا A1 تلاقی داده شدند. در سال دوم هیبریدهای حاصل به همراه والدین خود در مزرعه کشت و قابلیت اعاده باروری لاین ها بررسی شد. در مرحله گل دهی، دانه های گردهی بوته های هیبرید با محلول یدیدیدور پتاسیم یک درصد رنگ آمیزی و درصد باروری آن ها مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان باروری خوشه آن ها نیز در مرحله رسیدگی ارزیابی شد. نتایج ارزیابی ها نشان داد که باروری دانه گرده و خوشه هیبریدهای NedaA/K₇، NedaA/K₁₂ و NedaA/K₁₆ بیش از ۸۰ درصد بوده است و مقادیر هتروزیس برای عملکرد دانه در این هیبریدها به ترتیب ۹۳/۴۷، ۹۸/۹۵ و ۲۶/۱۲ درصد بود. بنابراین با توجه به درصد باروری بالای دانه گرده و خوشه و نیز مقادیر بالای عملکرد، ۳ لاین K₇، K₁₂ و K₁₆ می توانند به عنوان منابع جدید اعاده کننده باروری در تکنولوژی تولید بذر هیبرید در برنج مورد استفاده قرار گیرند.

واژه های کلیدی: باروری خوشه، برنج هیبرید، صفات زراعی، لاین برگرداننده

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: gh.kiani@sanru.ac.ir

مقدمه

برنج غذای اصلی مردم ایران است که تقریباً توسط نصف جمعیت آسیا و جهان مصرف می شود و برخی از کشورها تا ۶۰ درصد از کالری مورد نیاز خود را از این گیاه تامین می کنند. برنج یک گیاه خودبارور است که وارثه های مختلف آن به صورت گسترده مورد استفاده قرار می گیرند و معرفی ارقام پر محصول نیمه پاکوتاه خبر از انقلاب سبز در برنج را می دهد (Dash *et al.*, 2018). بر اساس آمارها به دلیل افزایش جمعیت، میزان مصرف این محصول در ایران به گونه ای افزایش یافته است که تولیدات داخلی جوابگو نبوده و برای تامین این کمبود کشور ناچار به واردات و خروج ارز است (Tarang & Bakhshipour, 2015). سطح زیرکشت برنج در کشور ۸۰۰ هزار هکتار با تولید ۲ میلیون و ۶۰۰ هزار تن است. نیاز کلی کشور به برنج سفید سالیانه حدود سه میلیون تن می باشد و تولید داخلی حدود ۸۵ درصد نیاز کشور را تأمین می کند (Agricultural Statistics, 2019). با توجه به کاهش سطح زیر کشت، تنها راه حل این مشکل افزایش عملکرد در واحد سطح می باشد که اصلاح نباتات دو راه حل مناسب برای آن ارائه کرده است که یکی از آنها بهبود ویژگی های زراعی در گیاه و دیگری استفاده از هتروزیس می باشد (Mohammadi *et al.*, 2019). هتروزیس پدیده ای است که در هیبریدهای F_1 حاصل از تلاقی والد های متنوع، برتری هایی نسبت به والدین خود نشان می دهد (Saleem, 2008). با اینکه بهره برداری از هتروزیسیکی از مهم ترین کاربردهای علم ژنتیک در کشاورزی

است اما مکانیسم های ژنتیکی هتروزیس بطور دقیق شناسایی نشده است (Huang *et al.*, 2015). دو روش اصلیرای تولید برنج هیبرید سیستم سه لاین و سیستم دو لاین می باشد که این دو روش به دلیل استفاده از دو نوع مختلف از این لاین های نر عقیم با هم تفاوت دارند. سیستم سه لاین با استفاده از یک لاین نر عقیم سیتوپلاسمی (CMS) که تکثیر آن به وسیله یک لاین نگهدارنده صورت می گیرد، مدیریت می شود. معمولاً لاین نر عقیم از نظر ژنتیکی شباهت بسیار زیادی به لاین نگهدارنده دارد و فقط در محیط هایی که رفتار گل و گرده کنترل می شود، متفاوت است. در تولید هیبریدهای F_1 ، لاین CMS با یک لاین بازگرداننده باروری تلاقی داده می شود (Tan *et al.*, 2018). کمتر از پنج درصد از منابع فعلی ژرم پلاس می توانند به عنوان لاین های بازگرداننده باروری در سیستم سه لاین تولید بذور هیبرید مورد استفاده قرار گیرند که دستیابی به هیبریدهای جدید را دشوار می کند (Yuan, 1997; Huang *et al.*, 2014).

محققین ایرانی چهار رقم پاکوتاه اصلاح شده نعمت، ندا، دشت و آمل ۳ و سه رقم محلی چمپا، سنگ طارم و رشتی صدری را با لاین نر عقیم IR58025A تلاقی دادند. نتایج نشان داد که ارقام طارم محلی و رشتی صدری با توجه به عقیمی نسبی ۳۰-۶۰ درصد به عنوان رقم نگهدارنده باروری تشخیص داده نشدند. در حالی که ارقام نعمت، ندا، دشت، آمل ۳ و چمپا با پنجه زیاد و ارتفاع مناسب و همچنین عملکرد بیشتر، به عنوان نگهدارنده نر عقیمی مورد شناسایی قرار گرفتند (Nematzadeh & Sattari,

هیبرید بدست آوردند. نتایج حاصل نشان داد بین ژنوتیپ‌ها برای کلیه صفات مورد بررسی اختلاف بسیار معنی داری وجود داشت و در بین ۲۰ هیبرید بدست آمده، ۶ هیبرید با اثر ترکیب پذیری خصوصی مثبت برای عملکرد یافت شد که بالاترین مقدار آن به ترتیب هیبرید های BRR113A/BRR114R و IR73328A/ BRR113R بودند (Akteer et al., 2010).

اهداف این پژوهش بررسی لاین‌های جدید اعاده کننده باروری از نظر ویژگی‌های مهم زراعی، تعیین درصد باروری دانه گرده، تعیین فواصل ژنتیکی و ارزیابی میزان هتروزیس هیبریدهای حاصل بوده است تا پس از ارزیابی‌های تکمیلی دیگر نظیر پایداری و سازگاری در ایران مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش از اردیبهشت سال ۱۳۹۷ تا شهریور ماه ۱۳۹۸ در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۲ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۱۴ متر بالاتر از سطح آب‌های آزاد انجام شد. مواد اصلاحی به کار رفته در این پژوهش شامل ۱۶ لاین جدید اعاده کننده باروری (اصلاح شده از طریق روش شجره ای در پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان) به عنوان والد پدری و لاین نرعیتم سیتوپلاسمی ندا A به عنوان والد مادری و نیز لاین نگهدارنده باروری آن یا ندا B بوده‌اند. برای حفظ لاین نرعیتم سیتوپلاسمی ندا A، این لاین در هر سال به طور مصنوعی با لاین اعاده کننده ندا B تلاقی داده شد.

پس از هفت نسل تلاقی برگشتی این ۵ رقم به لاینهای CMS تبدیل شده اند و ویژگی-های آلوگامی آنها مورد مطالعه قرار گرفته است (Nematzadehet al., 2006).

در پژوهشی ۱۹ تلاقی بین لاین IR58025A که یک لاین نرعیتم سیتوپلاسمی از IRR1 می‌باشد با ۱۹ رقم پر محصول از کشور لائوس انجام دادند، نتایج مربوط به باروری گرده و سنبلیچه نشان داد که هیچیک از ۱۹ هیبرید حاصل، باروری و یا عقیمی کامل نداشتند در نتیجه این ارقام هیچ توانایی برای اعاده کامل باروری و یا نگهداری لاین نرعیتم IR58025A از خود نشان ندادند (Xangsayasane et al., 2010).

محقق دیگری با تلاقی ۴ لاین نرعیتم سیتوپلاسمی و ۵ لاین بازگرداننده باروری به روش لاین×تستر، ۲۰ هیبرید F₁ تولید کرد. F₁های حاصل از هیبریدهای CNTA10/ CNTA10/ CNTLR80140-14-1-1-1 و SPRLR77034PSL17-1-1-1 به ترتیب با هتروزیس ۴۴/۵ و ۸۲ درصد، بالاترین هتروزیس را برای عملکرد داشتند (Watanesk, 1993).

در تحقیقی سه لاین نرعیتم سیتوپلاسمی، ۸ تستر و تلاقی‌های حاصل از آنها را مورد بررسی قرار دادند، لاین‌های SGM35، GMS33 و تستر IR36 ترکیب شونده‌های خوبی برای عملکرد دانه بودند. در بین F₁ها نیز ۴ هیبرید مناسب ترین کارایی را برای عملکرد دانه و هتروزیس از خود نشان دادند (Perraju & Sharma, 1999).

در مطالعه ای ۵ لاین نرعیتم و ۵ لاین اعاده کننده باروری را با یکدیگر تلاقی دادند و ۲۰

برای کلیه صفات زراعی مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین ژنوتیپ های والدین مورد نظر با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۱ درصد صورت گرفت (جدول ۳). لاین های K14، K3، K4 و K11 به ترتیب، از بالاترین میانگین ارتفاع برخوردار بودند که این صفت برای والد های پدری (گرده دهنده) به عنوان ژنوتیپ های بازگرداننده ی باروری یک ویژگی مثبت می باشد. علاوه بر ۴ ژنوتیپ فوق، میانگین ارتفاع بوته سایر لاین های مورد نظر از ارتفاع رقم NedaA (۹۳/۱۶ سانتیمتر) بیشتر بوده است. از نظر تعداد پنجه، رستورهای K₄، K₇ و K₁ به ترتیب بیشترین تعداد پنجه بارور را به خود اختصاص دادند و ژنوتیپ K₄ در صفت طول خوشه نیز از سایر ژنوتیپ ها برتری داشت. لاین های K₁₆، K₁₂ و K₄ از بیشترین میانگین دانه پر در خوشه برخوردار بودند. ژنوتیپ های K₁ و K₁₆ از طول شلتوک بالاتری نسبت به سایر ژنوتیپ ها (بیش از ۱۱ میلی متر) برخوردار بودند. این ویژگی از صفات مهم بازار پسندی در کشور ایران محسوب می شود. بالاترین وزن هزار دانه به ترتیب به ژنوتیپ های K₁₂، K₄، K₃ و K₂ اختصاص داشت. ژنوتیپ های K₄، K₁₆ و K₅ از بالاترین عملکرد تک بوته در بین سایر لاین ها برخوردار بودند.

نتایج حاصل از تجزیه خوشه ای به روش Ward نشان داد که ادغام گروه ها در فاصله ۵ واحد موجب گروه بندی ژنوتیپ ها در ۲ شاخه اصلی با خصوصیات درون گروهی مشابه شد (شکل ۱). برای بررسی بهتر این گروه بندی،

در اولین سال زراعی ۱۶ لاین بازگرداننده باروری به همراه لاین نرعیتم سیتوپلاسمی ندا A و لاین نگهدارنده آن، در خزانه با پوشش نایلونی که طبق عرف منطقه ساخته شده بود، بذریاشی شدند. این لاینها از تلاقی پژوهش / IR58110 در نسل F₇ و از طریق روش شجره ای در پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان اصلاح شده اند (جدول ۱). در مرحله گلدهی تمامی لاین های بازگرداننده باروری با پایه مادری ندا A تلاقی داده شدند. از بین لاین های بازگرداننده موجود لاین های K3، K5، K6، K7، K12، K15، K16 با والد ندا A تلاقی موفق داشته و تعداد بذر هیبرید بیشتری تولید کردند. تعداد ۷ هیبرید به همراه والدین برای ارزیابی دانه بندی خوشه و باروری گرده در سال دوم کشت شدند. پس از گلدهی به منظور بررسی درصد باروری از محلول یدید یدور پتاسیم یک درصد برای رنگ آمیزی دانه گرده استفاده شد. برای تهیه این محلول ۲ گرم KI در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد سپس ۱ گرم I₂ به آن اضافه و با آب مقطر به حجم ۳۰۰ میلی لیتر رسانده شد (Gao *et al*, 2011). برای ارزیابی تنوع ژنوتیپها از تجزیه واریانس و برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد با توسط نرم افزار SPSS انجام شد و برای تعیین قرابت ژنوتیپ های مورد بررسی و گروه بندی آنها، تجزیه کلاستر به روش Ward صورت گرفت و نمودار دندوگرام آن رسم شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت بین ژنوتیپ های مختلف مورد مطالعه

مطلوبیت لاین‌های اعاده کننده باروری K_7 ، K_{12} و K_{16} برای تلاقی با ندا A بوده است. در اصلاح- نباتات کلاسیک همین شیوه را برای شناسایی لاینهای اعاده کننده باروری به کار می‌برند بدین نحو که از تلاقی آزمون ارقام با لاینهای CMS و ارزیابی نتاج F_1 از حیث باروری دانه گرده و خوشه، لاین‌هایی که نتاج آنها باروری خوشه و دانه گرده بیش از ۸۰٪ نشان دهند به عنوان اعاده کننده باروری در نظر گرفته می‌شوند (Eidi et al., 2015).

ویژگی‌های زراعی هیبریدهای امیدبخش در جدول ۶ آمده است. ارتفاع بوته در هیبرید NedaA/ K_7 برابر با ۱۲۶/۳۳ سانتی متر می‌باشد و مقادیر این صفت در هیبریدهای NedaA/ K_{12} و NedaA/ K_{16} بترتیب ۱۳۸/۳۳ و ۱۲۹ سانتیمتر می‌باشد. ارتفاع کمتر، نشان دهنده توانایی بهتر آنها در کود پذیری و تحمل به خوابیدگی (ورس) است. هر سه ژنوتیپ از نظر صفت تعداد پنجه بارور رشد چشم گیری نسبت به والدین پدری خود داشتند و در این بین NedaA/ K_7 بیشترین تعداد پنجه بارور را به خود اختصاص داد. طول خوشه هر ۳ هیبرید نسبت به لاین‌های اعاده کننده باروری خود رشد داشت. هیبریدهای NedaA/ K_7 ، NedaA/ K_{16} و NedaA/ K_{12} به ترتیب با درصد دانه پر نسبت به کل دانه ۸۸، ۸۳ و ۸۰ درصد به عنوان ژنوتیپ‌های دارای بالاترین باروری خوشه شناخته شدند. عملکرد این هیبریدها به ترتیب برابر با ۱۲/۴۲، ۱۱/۴۶ و ۸/۴۶ تن در هکتار بدست آمده است (جدول ۶). صفت‌های تعداد پنجه، طول خوشه و تعداد دانه پر با عملکرد دانه رابطه مستقیم دارند.

درصد انحراف میانگین کلاسترها از میانگین کل صفات مورفولوژیک ارزیابی شد که می‌تواند نشان دهنده تنوع ژنتیکی بین لاین‌های اعاده کننده باروری باشد (جدول ۴). گروه اول ۱۱ ژنوتیپ (۶۸/۷۵ درصد) را در خود جای داد که از نظر همه‌ی صفات به جز صفت قطر دانه از میانگین کمتر بود. بنابراین ژنوتیپ‌های موجود در این گروه از قطر دانه بیشتری برخوردار هستند. ۵ ژنوتیپ (۳۱/۲۵ درصد) در کلاستر دوم قرار گرفتند. لاین‌های این گروه از لحاظ همه‌ی صفات کمی (به جز قطر دانه) بیشتر از میانگین کل بودند بنابراین ژنوتیپ‌های موجود در این با ویژگی‌های عملکرد بالا و قطر دانه باریک- تر می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی کاربرد قابل توجهی داشته باشند. دو ژنوتیپ K_{12} و K_{16} به عنوان لاین‌های اعاده کننده قوی شناسایی شده در این پژوهش در تلاقی با لاین نر عقیم NedaA نیز در این گروه قرار داشتند.

درصد باروریدانه گرده هیبریدها که به وسیله محلول یدید یدور پتاسیم یک درصد رنگ آمیزی و محاسبه شد، از ۴۱/۷۱ تا ۹۵/۳۵ درصد متغیر بود و با توجه به گروه بندی درصد باروری دانه‌های گرده، درصد باروری صفر نشانه عقیمی کامل، ۱ الی ۳۰ درصد عقیمی نسبی، ۳۰ الی ۶۰ درصد باروری نسبی و بالاتر از ۶۰ درصد باروری کامل را نشان می‌دهد. عملکرد بدست آمده از هیبریدها و باروری خوشه آنها، با درصد باروری دانه گرده‌ی آنها کاملاً مطابقت داشت (جدول ۵). هیبریدهای NedaA/، NedaA/ K_7 ، NedaA/ K_{12} و NedaA/ K_{16} دارای درصد باروری دانه گرده بیش از ۸۰ درصد بودند که نشان دهنده

از ۱۱ میلی متر بود. این ویژگی از صفات مهم بازار پسندی در کشور ایران محسوب می شود. ژنوتیپهای K_3 ، K_4 ، K_{12} و K_2 بالاترین وزن هزار دانه را داشتند. ژنوتیپهای K_4 ، K_{16} و K_5 از بالاترین عملکرد تک بوته در بین سایر لاین ها برخوردار بودند.

تجزیه خوشه های ژنوتیپ ها را در ۲ خوشه اصلی با خصوصیات درون گروهی مشابه قرار داد. از تجزیه کلاستر می توان به عنوان یک ابزار جهت انتخاب لاین های والدینی در برنامه های دورگ گیری و بهره وری از پدیده هتروزیس استفاده کرد (Kiani & Nematzadeh, 2013).

لاین های موجود در خوشه دوم به ویژه K_{12} و K_{16} از لحاظ اکثر صفات بالاتر از میانگین کل بودند بنابراین توصیه می شود از آنها در برنامه های تلاقی با لاین نر عقیم NedaA استفاده شود.

میزان باروریدانه گرده هیبریدها با استفاده از محلول یدید یدور پتاسیم یک درصد ارزیابی شد و هیبریدهای NedaA/ K_7 ، NedaA/ K_{12} و NedaA/ K_{16} دارای درصد باروری دانه گرده بیش از ۸۰ درصد بودند که نشان دهنده مطلوبیت لاین های اعاده کننده باروری K_7 ، K_{12} و K_{16} برای تلاقی با ندا A بوده است. در مطالعه بررسی اثر خشکی بر زنده مانی دانه گرده در گندم میزان عقیمی از ۱/۱ الی ۹/۱ درصد در شرایط نرمال و ۵/۷ الی ۱۱/۷ درصد در شرایط تنش گزارش شده است (Lonbani & Arzani, 2011).

هیبرید های NedaA/ K_7 ، NedaA/ K_{16} و NedaA/ K_{12} با درصد دانه پر بیش از ۸۰ درصد به عنوان ژنوتیپ های دارای بالاترین

همه هیبریدهای امیدبخش از نظر صفت طول دانه از والد های پدری خود پیشی گرفتند که نشان دهنده بهبود کیفی این ژنوتیپ ها نسبت به والدین آن ها می باشد. بالاترین وزن هزار دانه در هیبرید NedaA/ K_{16} و بیشترین عملکرد در هیبرید NedaA/ K_7 مشاهده شد. ژنوتیپهای NedaA/ K_{12} و NedaA/ K_7 به ترتیب هتروزیس ۹۳/۴۷ و ۹۸/۹۵ درصد نسبت به والد برتر و ژنوتیپ NedaA/ K_{16} هتروزیس ۲۶/۱۲ درصد را نسبت به متوسط والدین از خود نشان دادند (جدول ۶).

بحث

تفاوت بین ژنوتیپ های مورد مطالعه برای تمامی صفات زراعی مورد بررسی بسیار معنی دار بود که حاکی از وجود تنوع ژنتیکی مناسبی می باشد. نتایج مشابه ای در زمینه تنوع ژنتیکی لاین های والدینی برنج هیبرید توسط محققین دیگری نیز گزارش شده است (Thippeswamy *et al.*, 2016; Elshenawy *et al.*, 2018).

با توجه به مقایسه میانگین لاین های K_3 ، K_4 و K_{11} ارتفاع بیشتری نسبت به رقم NedaA (۹۳/۱۶ سانتیمتر) داشتند که این ویژگی برای والد گرده دهنده در سیستم تولید بذر هیبرید یک ویژگی مثبت می باشد. لاین های K_4 ، K_7 و K_{11} دارای تعداد پنجه بارور بیشتر، K_4 از طول خوشه بیشتری و K_{12} ، K_{16} و K_4 از دانه پر در خوشه بیشتری برخوردار بودند. صفات تعداد پنجه بارور، طول خوشه و تعداد دانه پر را به عنوان موثر ترین صفات زراعی بر عملکرد معرفی گردیده است (Bakhshipour *et al.*, 2012). طول دانه در ژنوتیپ های K_1 و K_{16} بیش

در کشور و نیز سایر لاین‌های نرعقیم وارداتی بررسی و هیبریدهای امیدبخش حاصل از آنها از نظر پایداری عملکرد و سازگاری در سالها و مکانهای مختلف ارزیابی شوند تا در برنامه‌های آتی تولید برنج هیبرید در کشور مورد استفاده قرار گیرند.

باروری خوشه شناخته شدند. در مطالعه ای (Mohammadi et al., 2019) هتروزیس والد برتر برای ۳ هیبرید بالای ۱۰ درصد گزارش شده است که عبارتند از ندا A/IR68061 (۱۲/۷۱٪)، ندا IR50A/ (۱۷/۴۳٪) و نعمت A/IR50 (۱۲/۰۶٪). همچنین در مطالعه باقری و بابائیان جلودار (Bagheri & Babaeian-Jelodar, 2010) بالاترین هتروزیس (۱۰۶/۶۰٪) در تلاقی IR68899A × Poya مشاهده شده است.

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که ۳ لاین اعاده کننده باروری K_7 ، K_{12} و K_{16} با توجه به ویژگی‌های عملکردی مطلوب و درصد باروری دانه گرده و خوشه هیبریدهای حاصل از آنها، به عنوان لاین‌های بازگرداننده باروری مناسب برای ندا A شناخته شدند و می‌توانند در تکنولوژی تولید بذر هیبرید بسیار موثر بوده و به عنوان منابع جدید اعاده کننده باروری در سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی (WA) Wild Abortive مورد استفاده قرار گیرند. توسعه تکنولوژی هیبرید در محصولات زراعی با استفاده از سیستم سه لاینی وقتی امکانپذیر است که لاین-های مطلوب اعاده کننده باروری وجود داشته باشند. این پروژه تحقیقاتی نشان دهنده موفقیت تولید و اصلاح لاین‌های اعاده کننده باروری در کشور است. از این لاینها مستقیماً در برنامه‌های تولید بذر هیبرید و یا برای انتقال ژنهای اعاده کننده به سایر ارقام و لاین‌های بومی میتوان از طریق برنامه‌های اصلاحی اقدام نمود. در ادامه پیشنهاد می‌شود هیبریدهای حاصل از تلاقی این لاینهای جدید اعاده کننده باروری اصلاح شده در داخل کشور با لاین‌های نرعقیم موجود

جدول ۱- لاین ها و هیبریدهای مورد بررسی در این آزمایش

Table 1. The lines and hybrids investigated in this experiment

شماره ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	منشاء و شجره	شماره	نام ژنوتیپ	منشاء و شجره
Genotype number	Genotype name	Origin and pedigree	ژنوتیپ Genotype number	Genotype name	Origin and pedigree
1	K1	GABIT, Pajooohesh/IR58110	13	K13	GABIT, Pajooohesh/IR60819
2	K2	GABIT, Pajooohesh/IR58110	14	K14	GABIT, Pajooohesh/IR60819
3	K3	GABIT, Pajooohesh/IR58110	15	K15	GABIT, Pajooohesh/IR60819
4	K4	GABIT, Pajooohesh/IR58110	16	K16	GABIT, Pajooohesh/IR60819
5	K5	GABIT, Pajooohesh/IR58110	17	NedaA/K3	
6	K6	GABIT, Pajooohesh/IR58110	18	NedaA/K5	
7	K7	GABIT, Pajooohesh/IR58110	19	Neda/K6	
8	K8	GABIT, Pajooohesh/IR58110	20	NedaA/K7	
9	K9	GABIT, Pajooohesh/IR60819	21	NedaA/K12	
10	K10	GABIT, Pajooohesh/IR60819	22	NedaA/K15	
11	K11	GABIT, Pajooohesh/IR60819	23	NedaA/K16	
12	K12	GABIT, Pajooohesh/IR60819			

GABIT: پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان، ساری، ایران

GABIT: Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari, Iran

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات زراعی لاین‌های مورد مطالعه

Table 2. Analysis of variance for the agronomic traits in the studied lines

منابع تغییر Sources of variation	درجه آزادی Degree of freedom	ارتفاع (سانتی‌متر) Height (cm)	تعداد پنجه بارور Number of fertile tiller	طول خوشه (سانتی‌متر) Panicle (cm) length	تعداد دانه Number of grains	تعداد دانه پر Number of filled grains	طول دانه (میلی‌متر) Grain length (mm)	قطر دانه (میلی‌متر) Grain diameter (mm)	وزن ۱۰۰۰ دانه (گرم) 1000-grain weight (g)	عملکرد دانه (گرم) Grain yield (g)
تکرار Replication	2	13.27	4.19	0.197	3.77	236.33	0.008	0.023	0.318	72.58
تیمار Replication	15	1146.97**	67.68**	27.83**	4193.06**	3628.84**	1.008**	0.1**	49.28**	980.04**
Treatments	30	16.16	2.12	1.56	539.15	315.22	0.104	0.018	0.217	13.87
اشتباه Error										
ضریب تغییرات (درصد) Coefficient of variation (%)		2.92	5.24	4.74	13.62	13.06	3.09	5.05	1.83	5.21

** معنی دار در سطح ۱ درصد

**Significant at the 1% level

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات زراعی لاین های مورد مطالعه

Table 3. Mean comparison for the agronomic traits in the studied lines

لاین ها Lines	ارتفاع (سانتی متر) Height (cm)	تعداد پنجه بارور Number of fertile tiller	طول خوشه (سانتی متر) Panicle length (cm)	تعداد دانه Number of grains	تعداد دانه پر Number of filled grains	طول دانه (میلی متر) Grain length (mm)	قطر دانه (میلی متر) Grain diameter(mm)	وزن دانه ۱۰۰۰ (گرم) 1000- grain weight (g)	عملکرد دانه (گرم) Grain yield (g)
K1	139.67 ^{cd}	24 ^h	30.33 ^a	167 ^{bc}	108.67 ^{fg}	11.2 ^a	2.67 ^{bcd}	27.92 ^c	56 ^g
K2	129.33 ^e	23.33 ^h	24.17 ^{ef}	164 ^{bc}	133.33 ^{def}	10.7 ^{abcd}	2.73 ^{abcd}	29.11 ^b	64.67 ^f
K3	159.33 ^b	32.67 ^b	25.43 ^{de}	177.33 ^{bc}	146 ^{cde}	10.93 ^{abc}	2.7 ^{abcd}	29.51 ^b	85 ^e
K4	156.33 ^b	37 ^a	30.43 ^a	206 ^{ab}	170.33 ^{bc}	10.87 ^{abc}	2.77 ^{abcd}	28.81 ^b	107.33 ^a
K5	137.67 ^d	31.67 ^{bc}	29.8 ^{ab}	241 ^a	154.33 ^{cd}	10.43 ^{bcdef}	2.3 ^e	26.73 ^d	91 ^{bc}
K6	116.67 ^{gh}	30 ^{cd}	27.7 ^{bc}	151.33 ^c	122.33 ^{defg}	10.07 ^{efg}	2.87 ^{ab}	27.60 ^c	77.67 ^d
K7	113 ^h	33 ^b	28.33 ^{abc}	166.33 ^{bc}	117.33 ^{efg}	10.33 ^{cdefg}	2.67 ^{bcd}	23.62 ^g	71.33 ^{de}
K8	112 ^h	27.33 ^{efg}	22.53 ^f	102.33 ^d	90.67 ^g	10.43 ^{bcdef}	2.83 ^{abc}	27.95 ^c	53.33 ^{gh}
K9	119 ^{gh}	25.67 ^{fgh}	24.53 ^{ef}	135 ^{cd}	113.67 ^{efg}	10.03 ^{efg}	2.6 ^{cd}	22.28 ^{hi}	46 ⁱ
K10	122 ^{fg}	20.67 ⁱ	23.07 ^f	165 ^{bc}	144.33 ^{cde}	10.10 ^{defg}	2.57 ^d	25.78 ^e	48 ^{hi}
K11	146 ^c	31.33 ^{bc}	26.87 ^{cd}	143 ^{cd}	128.67 ^{def}	10.87 ^{abc}	2.83 ^{abc}	31.23 ^a	87 ^c
K12	127.33 ^{ef}	19.67 ⁱ	23.87 ^{ef}	228.33 ^a	199.67 ^{ab}	9.83 ^{fg}	2.3 ^e	21.64 ⁱ	64 ^f
K13	140 ^{cd}	29.67 ^{cde}	20.27 ^g	143.33 ^{cd}	109.33 ^{fg}	9.8 ^g	2.93 ^a	22.08 ⁱ	69.33 ^{ef}
K14	185.33 ^a	25 ^{gh}	28.17 ^{abc}	147.67 ^c	94 ^g	9.93 ^h	2.53 ^{de}	15.11 ^j	72 ^{de}
K15	145 ^{cd}	26 ^{fgh}	28.37 ^{abc}	166.33 ^{bc}	109.67 ^{fg}	10.53 ^{bcde}	2.53 ^{de}	24.68 ^f	55.33 ^g
K16	144 ^{cd}	28 ^{def}	28.33 ^{abc}	224.67 ^a	209.33 ^a	11.03 ^{ab}	2.67 ^{bcd}	22.91 ^{gh}	96.67 ^b

جدول ۴- میانگین و درصد انحراف از میانگین کل (داخل پرانتز) برای صفات مختلف اعاده کننده‌ها در گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر

Table 4. Mean and percentage of deviation from total mean (in parenthesis) for different restorer characteristics in the clusters derived from cluster analysis

خوشه	نام ژنوتیپ	ارتفاع (سانتی متر)	تعداد پنجه بارور	طول خوشه (سانتی متر)	تعداد دانه	تعداد دانه پر	طول دانه (میلی متر)	قطر دانه (میلی متر)	وزن دانه (گرم)	عملکرد دانه (گرم)			
Cluster	Genotype name	Height (cm)	Number of fertile tiller	Panicule length (cm)	Number of grains	Number of filled grains	Grain length (mm)	Grain diameter(mm)	1000-grain weight (g)	Grain yield (g)			
1	K1, K15, K11, K13, K6, K7, K2, K10, K14, K8, K9	133.45	26.91	25.85	150.12	117.73	10.36	2.71	25.21	63.70			
		(-2.62)	(-3.24)	(-2.05)	(-11.97)	(-13.38)	(-0.77)	(+1.88)	(-0.79)	(-12.31)			
		2	K5, K4, K3, K16, K12	144.93	29.80	27.57	215.47	175.87	10.62	2.55	25.92	88.8	
				(+5.67)	(+7.16)	(+4.47)	(+26.35)	(+29.39)	(+0.18)	(-4.14)	(+1.77)	(+24.13)	
				میانگین کل	137.04	27.81	26.39	170.54	135.92	10.44	2.66	25.44	71.54
				Total mean									

جدول ۵- وضعیت باوروی دانه گرده و خوشه در تلاقی های نندا با لاین های کنده باوروی

Table 5. Fertility status of pollen and panicle in crosses of NedaA with 7 fertility restoring lines

شماره	تلاقی ها	باوروی دانه گرده (درصد)	درصد باوروی خوشه
Number	Crosses	Pollen viability (%)	Fertility percentage of panicle
1	NedaA/K3	42	35
2	NedaA/K5	50	26
3	NedaA/K6	51	26
4	NedaA/K7	85	88
5	NedaA/K12	95	80
6	NedaA/K15	61	27
7	NedaA/K16	83	83

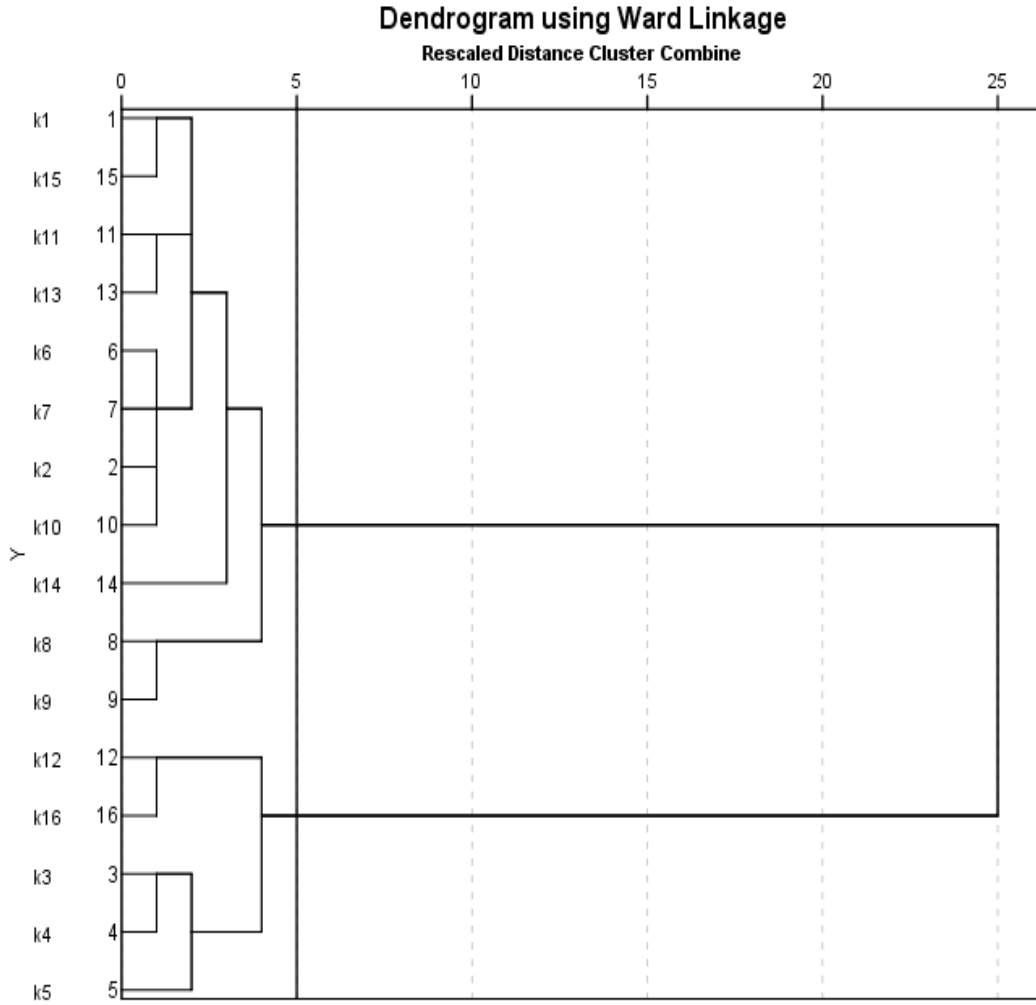
جدول ۶- متوسط وضعیت زراعی هیبرید های F₁ امید بخش (باوروی دانه گرده و خوشه بیش از ۸۰ درصد) در این مطالعه

Table 6. Average agronomic performance of promising F₁ hybrids (pollen and panicle fertility exceeding 80%) in the study

هیبریدها/ لاین های	ارتفاع (سانتی متر)	تعداد پیچه باورر	طول خوشه (سانتی متر)	تعداد دانه	تعداد دانه پر	طول دانه (میلی متر)	قطر دانه (میلی متر)	وزن ۱۰۰۰ دانه (گرم)	عملکرد دانه (تن/هکتار)	هتروزیس عملکرد براساس والد برتر (درصد)	هتروزیس عملکرد براساس متوسط والدین (درصد)
Hybrids/ Inbred Lines	Height (cm)	Number of fertile tiller	Panicle length (cm)	Number of grains	Number of filled grains	Grain length (mm)	Grain diameter(mm)	1000-grain weight (g)	Grain yield (t/ha)	BP Yield Heterosis (%)	MP Yield Heterosis (%)
NedaA/K7	126.33 ^b	51.33 ^a	32.33 ^a	179 ^a	157 ^b	11.10 ^a	2.83 ^a	26.08 ^b	12.42 ^a	93.47	115.69
NedaA/K12	138.33 ^a	41 ^b	27.43 ^b	207.33 ^a	165.33 ^b	10.93 ^a	2.77 ^a	28.44 ^b	11.46 ^a	98.95	111.10
NedaA/K16	129 ^b	35.33 ^c	29.43 ^b	166.67 ^b	138.33 ^b	11.67 ^a	2.77 ^a	29.05 ^a	8.46 ^c	-2.76	26.12
لاین های اینترد											
Inbred Lines											
Neda	100 ^d	20 ^e	26 ^e	124 ^e	87 ^e	9.95 ^b	1.98 ^b	30 ^a	5.01 ^e		
K7	113 ^c	33 ^e	28.33 ^b	166.33 ^b	117.33 ^b	10.33 ^b	2.67 ^a	23.62 ^c	6.42 ^d		
K12	127.33 ^b	19.67 ^e	23.87 ^c	228.33 ^a	199.67 ^a	9.83 ^b	2.3 ^b	21.64 ^c	5.76 ^d		
K16	144 ^a	28 ^d	28.33 ^b	224.67 ^a	209.33 ^a	11.03 ^a	2.67 ^a	22.91 ^c	8.70 ^c		

BP: Best parent heterosis, MP: Mid-parent heterosis

BP: هتروزیس براساس والد برتر، MP: هتروزیس براساس متوسط والدین



شکل ۱- گروه بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس ویژگی‌های زراعی با استفاده از روش وارد (WARD)
Figure 1. Classification of the studied genotypes according to the agronomic traits using the Ward method

References

- Agricultural Statistics, Volume 1, Crops, Crop Year 2019. Ministry of Jihad Agriculture, Deputy of Planning and Economy, Information and Communication Technology Center.
- Akter, A., Hasan, M.J., Begum, H., Kulsum, M.U., and Hossain, M.K. 2010. Combining ability analysis in rice (*Oryza sativa* L.). *Bangladesh Journal of Plant Breeding and Genetics*, 23(2):7-14.
- Bagheri, N. A., and Babaeian-Jelodar, N.A. 2010. Heterosis and combining ability analysis for yield and related- yield traits in hybrid rice. *International Journal of Biology*, 2(2): 222 – 231.
- Bakhshipour, S., Gazanchian, A., Mohaddesi, A., Nahvi, M., and Razeghi-Jadid, R. 2012. Study the relationship between agronomic and morphological traits in the promising rice lines and their grouping by multivariate statistical methods. *Journal of Agroecology*, 7(4). (In Persian with English Abstract).
- Dash, A.K., Samal, R., Gundimeda, J.N.R., Subudhi, H.N., and Ravi, N.R. 2018. Bioprospecting for fertility restoration genes in wild relatives and land races of rice from different geographic regions. *Plant Genetic Resources*, 16(1):89-93.
- Eidi Kohnaki, M., Kiani, G., and Nematzadeh, G. 2015. Morphological and molecular selection of fertility restorer gene (s) in segregating populations of rice. *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)*, 38(2): 89-98.
- Elshenawy, M.M., Anis, G.B., Elgamal, W.H., and Ramadan, E.A.E. 2018. Genetic basis of combining ability for various quantitative traits using CMS lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Contemporary Agriculture*, 67(2):125-135.
- Gao, L., Xia, Z., Jiang, G., Peng, H., Zhao, X., and Zhai, W. 2011. Generation of marker-free, bacterial blight-resistant transgenic sterile line and hybrid rice with *Xa21*. *Plant Breeding*, 130(4):438-443.
- Huang, J.Z., Zhi-Guo, E., Zhang, H.L., and Shu, Q.Y. 2014. Workable male sterility systems for hybrid rice: genetics, biochemistry, molecular biology, and utilization. *Rice*, 7(1):13.

- Huang, X., Yang, S., Gong, J., Zhao, Y., Feng, Q., Gong, H., Li, W., Zhan, Q., Cheng, B., Xia, J., and Chen, N. 2015. Genomic analysis of hybrid rice varieties reveals numerous superior alleles that contribute to heterosis. *Nature Communications*, 6:6258.
- Kiani, G., and Nematzadeh, G.A. 2013. Genetic diversity of fertility restoring lines in rice based on morphological characteristics. *Applied Field Crops Research (Pajouhesh & Sazandegi)*, 25(4):122-130. (In Persian with English Abstract).
- Lonbani, M., and Arzani, A. 2011. Morpho-physiological traits associated with terminal drought-stress tolerance in triticale and wheat. *Agronomy Research*, 9(1-2): 315-329.
- Mohammadi, O., Kiani, G., Bagheri., N. 2019. Study of combining ability of rice cytoplasmic male sterility (CMS) lines for hybrid seed production. *Plant Production Technology*, 19(1):53-65. (In Persian with English Abstract).
- Nematzadeh, G.A., Ali, A.J., Sattari, M., Valizadeh, A., Alinejad, E., and Nouri, M.Z. 2006. Relationship 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.
- Nematzadeh, G.A., and Sattari, M. 2003. A study of nucleus genome of some high yielding rice (*Oryza sativa* L.) varieties for application in hybrid rice technology. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 34(1):213-219. (In Persian with English Abstract).
- Perraju, P., and Sarma, N.P. 1999. Combining ability studies in rice. *Oryza*, 36(3):248-249.
- Saleem, M.Y. 2008. Genetic analysis of basmati rice (*Oryza sativa* L.). Ph. D. Dissertation, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan.
- Tan, Y., Sun, X., Fang, B., Yu, D., Sun, Z., Wang, W., Sheng, X., Yin, X., Liu, L., Zhang, Y., and Duan, M. 2018. Conversion of a rice CMS maintainer into a photo-or thermo-sensitive genetic male sterile line. *Molecular Breeding*, 38(5):56.
- Tarang, A., and Bakhshipour, S. 2015. Yield and agronomic traits of hybrid rice promising lines and cultivars. *Agroecology Journal*, 11(3):11-21. (In Persian

with English Abstract).

- Thippeswamy, S., Chandramohan, Y., Srinivas, B., and Padmaja, D. 2016. Selection of diverse parental lines for heterotic hybrid development in rice (*Oryza sativa* L.). *Sabrao Journal of Breeding & Genetics*, 48(3).
- Watanesk, O., 1993. Heterosis and combining ability evaluation of cytoplasmic male sterile (A) lines and restorer (R) lines. *International Rice Research Notes*, 10:5-6.
- Xangsayasane, P., Xie, F., Hernandez, J.E., and Boirromeo, T.H. 2010. Hybrid rice heterosis and genetic diversity of IRRI and Lao rice. *Field Crops Research*, 117(1):18-23.

Identification of fertility restorer lines in rice for WA-male sterile cytoplasm

Aref Mirzababapour Amiri¹, Ghaffar Kiani^{2*}, Seyed Kamal Kazemitabar³

1. Former MSc Student, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University .
2. Department of Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Associate Professor ,(Corresponding author)
3. Department of Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Associate Professor.

Received: January 2021 Accepted: July 2021- DOI: 10.22092/aj.2021.352995.1522

Extended Abstract

Mirzababapour Amiri, A., Kiani, Gh.,Kazemitabar ., Identification of fertility restorer lines in rice for WA-male sterile cytoplasm
Applied Research in Field Crops Vol 34, No. 1, 2021 4-6: 13-28(in Persian)

Introduction

Rice is the staple food consumed by almost half of the population in Asia and the world. Rice is a self-fertile plant with various varieties. Due to the decrease in the area where rice is cultivated, there is a great need to increase yield performance in rice per unit area. Heterosis is a phenomenon that reveals advantages over its parents in F_1 hybrids resulting from the crossbreeding of various parents (Saleem, 2008). The two main methods for producing hybrid rice are the three-line system and the two-line system. These two methods are different due to the use of two different types of male sterile lines. In the production of F_1 hybrids, CMS lines are crossed with fertility restorer lines. The objectives of this study were to evaluate the new fertility restorer lines in terms of important crop characteristics and determine the fertility percentage of pollen grains and evaluate the heterosis rate of the resulting hybrids.

Materials and Methods

The research materials used in this study included 16 new restorer lines as
Email address of the corresponding author: gh.kiani@sanru.ac.ir

paternal parents and NedaA cytoplasmic male sterility lines as maternal parent as well as its fertility maintainer lines NedaB. In the first year, the agronomic characteristics including plant height (cm), number of fertile tiller, panicle length (cm), number of grains, number of filled grains, grain length (millimeters), grain diameter (millimeters), weight of one thousand grains (grams) and grain yield (grams) were recorded and at the flowering stage, all fertility restorer lines were crossed with NedaA CMS line. Among the available hybrids, 7 F₁ genotypes were cultivated with their parents in the second year. After flowering, iodine-potassium iodide (I₂/KI) solution was used to perform fertility assessment of pollen grains in F₁ hybrids (Gao *et al.*, 2011). At the maturity stage, seed setting performance of F₁ genotypes was recorded. Analysis of variance and mean comparisons were carried out using Duncan test using SPSS software. Grouping of genotypes was done using cluster analysis through Ward method.

Results and Discussion

Mean comparison of genotypes showed that K14, K3, K4 and K11 lines had the highest average height, respectively, which was a positive feature for paternal parents (pollinators) as restorer genotypes. In terms of number of fertile tiller, K4, K7 and K1 restorers accounted for the largest number of fertile tillers, respectively, and K4 genotype was superior to other genotypes in terms of panicle length. Researchers identified the fertile tillers, panicle length, and number of filled grains as the most contributing traits to yield. Lines K16, K12 and K4 had the highest average grain length per panicle. This feature is one of the important traits of marketing in Iran. Lines K12, K4, K3 and K2 had the highest weight of one thousand grains, respectively. Cluster analysis classified the genotypes into two main categories (Figure 1). The genotypes in same group were more genetically related than the genotypes in other branches, hence, cluster analysis can be used as a tool to select parental lines in hybridization programs (Kiani & Nematzadeh, 2013). The first group included 11 genotypes (68.75%) that were below average in terms of all traits except grain diameter. 5 genotypes (31.25%) were placed in the second cluster. The K12 and K16 genotypes were included in this group as two successful parents in cross with the NedaA male sterile genome.

The fertility rate of hybrid pollen grains ranged from 41.71 to 95.35 percent. NedaA/K7, NedaA/K12 and NedaA/K16 hybrids had more than 80% fertility rate, which indicated the suitability of K7, K12 and K16 restorer lines for crossing with Neda A.

All the promising hybrids outperformed their paternal parents in terms of grain length. The highest 1000 grain weight was observed in NedaA/K16 hybrid and the highest yield was observed in NedaA/K7. Heterobeltiosis of the NedaA/K7 and NedaA/K12 genotypes were 93.47% and 98.95%, respectively and the NedaA/K16 genotype showed 26.22% of heterosis.

Conclusion

Three genotypes (K7, K12 and K16) were found to be desirable fertility restorer lines for NedaA due to their beneficial characteristics as well as representing more than 80 percent fertility percentage of pollen grains and seed setting in their panicles. These lines could be used as new sources of fertility restoration for WA cytoplasmic sterility system and promote hybrid seed technology in Iran.

Keywords: Agronomic traits, Hybrid rice, Panicle fertility, Restorer line

References

- Kiani, G., and Nematzadeh, G.A. 2013. Genetic diversity of fertility restoring lines in rice based on morphological characteristics. *Applied Field Crops Research (Pajouhesh & Sazandegi)*, 25(4):122-130. (In Persian with English Abstract).
- Gao, L., Xia, Z., Jiang, G., Peng, H., Zhao, X., and Zhai, W. 2011. Generation of marker-free, bacterial blight-resistant transgenic sterile line and hybrid rice with Xa21. *Plant Breeding*, 130(4):438-443.
- Saleem, M.Y. 2008. Genetic analysis of basmati rice (*Oryza sativa* L.). Ph. D. Dissertation, Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan.