Plant Production Technology/ Volume 25/ Issu 2/ Pages 49-67/ Autumn and Winter 2026
https://doi.org/10.22084/ppt.2025.30662.2153

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Yield and Grain Quality Traits and Genotypes and Detection of Fertility Restoration Genes in Hybrid Rice

Mahdikhani[1], H., Nematzadeh[2*], Gh. A., Bagheri[3], N. and Afkhamiqadi[4], A.

1, 2 and 3. M.Sc. Graduate, Professor and Associate Professor, Respectively, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
4. Ph.D. Graduate, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
*Corresponding Author Email: gh.nematzadeh@sanru.ac.ir

Received: 2025/03/12 Accepted: 2025/08/10

Introduction
Given the escalating global population, dwindling agricultural land, and severe water scarcity, there is an urgent need to enhance crop yield per unit area. Consequently, the adoption of innovative methods to boost rice production has become in dispensable. Relying solely on low-yielding native varieties is no longer feasible. Hybrid rice technology has proven to be highly effective in increasing rice yield. This study evaluated 34 rice genotypes using two SSR molecular markers linked to the restorer genes *Rf3* and *Rf4*.

Materials and Methods
In this study, 34 F_1 genotypes (resulting from crosses between two genetic male-sterile lines, Jelodar A and Neda A, and 13 tenth-generation mutant lines, including Dast, Nemat, Pazhuhesh, Sepidrood, and Damsiah, as well as four foreign restorer lines) were cultivated in the research farm of the Tabarestan Agricultural Genetics and Biotechnology Research Center from 2018 to 2019 in a randomized complete block design with three replications. Superior hybrids with high performance were selected and evaluated for their physicochemical properties. Two SSR markers linked to the main genes *Rf3* (marker RM 3148) and *Rf4* (marker RM 171) were used to identify restorer genes. Grain quality traits, including amylose content, gelatinization temperature, grain elongation after cooking, gel consistency, grain size and shape, and rice aroma after cooking, were measured.

Results
Results of the mean comparison of morphological traits of the progenies showed that the highest fertility and yield belonged to hybrids H33, H30, H29, H28, and H27, which were the result of crosses (H28: IR 68078-15-2-1-2-2-R/Neda A), (H27: IR 68078-15-2-1-2-2-R/Jelodar A), (H29: IR 65622-151-1-2-2-2-R/Jelodar A), (H30: IR 65622-151-1-2-2-2-R/Neda A), and (H33: NSIC RC 434/Jelodar A), respectively. The results of the mean comparison showed a significant difference in all traits, and hybrid H29 (3.423.33) had the highest aroma among the check varieties. The dendrogram obtained from cluster analysis showed that hybrid H33, along with the Fajar quality variety, was placed in the first group and was recognized as the best hybrid with superior quality in terms of grain length after cooking (12.15), breakage rate (4.64), and aroma (5.922.00). The SSR molecular markers RM 171 and RM 3148, linked to the restorer genes *Rf4* and *Rf3* for the selection of superior hybrids, showed that the RM 3148 marker for hybrids resulting from crosses between the parental varieties IR 68078-15-2-1-2-2-R, IR 65622-151-1-2-2-2-R, and IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R with the male-sterile line Jelodar A had a banding pattern similar to the restorer check. Hybrids H27, H29, and H33 also had both banding patterns, i.e., they were heterozygous, and as a result, this marker probably had the *Rf3rf3* gene. The RM 171 marker showed the probable presence of the *Rf4* gene in varieties IR 68078-15-2-1-2-2-R and IR 65622-151-1-2-2-2-R, and their hybrids also expressed this gene in a heterozygous manner.

Conclusion
Of the identified restorer varieties, including IR 68078-15-2-1-2-2-R, IR 65622-151-1-2-2-2-R, and IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R, can be used in hybrid rice breeding programs to achieve high-yielding progenies.

Keywords: Cooking quality, Hybrid rice, Molecular markers, Restorer gene.

Citations: Mahdikhani, H., Nematzadeh, Gh. A., Bagheri, N. and Afkhamiqadi, A. (2026). Yield and Grain Quality Traits and Genotypes and Detection of Fertility Restoration Genes in Hybrid Rice, *Plant Production Technology*, 25(2), 51-70. https://doi.org/10.22084/ppt.2025.30662.2153
© 2025 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Online ISSN: 2476-5651 **Print ISSN:** 2476-6321

فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و پنجم/ شمارهٔ دوم/ صفحات ۴۹-۶۷/ پاییز و زمستان ۱۴۰۴
https://doi.org/10.22084/ppt.2025.30662.2153

ارزیابی عملکرد، کیفیت دانه و ردیابی ژن‌های برگرداننده باروری در دورگ‌های برنج

Yield and Grain Quality Traits and Genotypes and Detection of Fertility Restoration Genes in Hybrid Rice

حمیده مهدیخانی[۱]، قربانعلی نعمت‌زاده[۲*]، نادعلی باقری[۳] و عمار افخمی قادی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۹

(مقاله پژوهشی)

چکیده

باتوجه به افزایش رشد جمعیت ایران و کاهش زمین‌های زیرکشت و کمبود شدید آب بدون تردید باید تولید در واحد سطح افزایش یابد. بنابراین، استفاده از روش‌های نوین، جهت افزایش تولید برنج، الزامی است. تامین کمبود برنج از طریق ارقام بومی که عملکرد پایینی دارند، امکان‌پذیر نیست. تکنولوژی برنج دورگ در افزایش عملکرد برنج موفقیت‌آمیز بوده است. پژوهش حاضر باهدف ارزیابی مقدار عملکرد و کیفیت دانه ۳۴ تا از دورگ‌های برنج و جهت ردیابی ژن‌های برگرداننده باروری در آن‌ها با کمک دو نشانگر ریز ماهواره‌ای همبسته با ژن‌های برگرداننده باروری *Rf3* و *Rf4* انجام شد. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. در ابتدا دورگ‌های با عملکرد بالا گزینش شدند سپس برای صفات فیزیکی و شیمیایی دانه، مقایسه و ارزیابی صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی F_1های حاصل از تلاقی لاین‌های نرعقیم جلودار A و ندا A با لاین‌های پدری نشان داد که در تمامی صفات مورد بررسی اختلاف بسیار معنی‌داری وجود داشت و بیانگر تنوع فراوان بین F_1های مورد ارزیابی بود. مقایسه میانگین صفات زراعی نتاج نشان داد که براساس میزان باروری و عملکرد دانه، به ترتیب دورگ‌های H33، H30، H29، H28 و H27 گزینش شدند. نتایج الگوی باندی دو نشانگر حاکی از آن بود که ژنوتیپ‌های IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2-R و NSIC RC 434 دارای ژن‌های برگردانندهباروری بودند و به تولید نتاج با عملکرد بالا منجر شدند. بنابراین، پژوهشگران در برنامه‌های تولید و بهبود برنج دورگ می‌توانند این ژنوتیپ‌ها را برای آزمون و ارزیابی‌های بیشتر مورد بررسی قرار دهند و از آنجایی که لاین های مورد مطالعه وارداتی هستند، لازم است برای تطبیق آن‌ها و همچنین با استفاده از آن‌ها در تلاقی‌ها تلاش‌هایی در جهت تولید و انتشار دورگ‌های جدید برنج شود.

واژه‌های کلیدی: برنج هیبرید، ژن‌های برگرداننده باروری، نشانگرهای مولکولی، کیفیت پخت

ارجاع به مقاله: مهدیخانی، ح.، نعمت‌زاده، ق. ع. و افخمی قادی، ع. (۱۴۰۴). ارزیابی عملکرد، کیفیت دانه و ردیابی ژن‌های برگرداننده باروری در دورگ‌های برنج، *مجله فنآوری تولیدات گیاهی*، ۲۵(۲)، ۵۱-۷۰. https://doi.org/10.22084/ppt.2025.30662.2153/

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Commons Creative License Attribution (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.

شاپا الکترونیکی: ۲۴۷۶-۵۶۵۱ **شاپا چاپی:** ۲۴۷۶-۶۳۲۱

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۴. دانش‌آموخته دکتری، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

*: نویسنده مسئول Email: gh.nematzadeh@sanru.ac.ir

۱. مقدمه

برنج غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان است (Ferreira *et al*., 2017). رشد جمعیت به ویژه در کشورهای مصرف کننده برنج، با سرعت بیشتری روبه افزایش است و این امر موجب افزایش تقاضا برای غذا شده است (Krishnalatha and Sharma, 2012). محدودیت‌های ناشی از تخریب محیط زیست در گسترش زمین‌های زراعی، منجر به کاهش عرضه محصولات در آینده نزدیک خواهد شد؛ بنابراین، تولید برنج دورگ به‌عنوان یک راهکار کلیدی در تأمین عرضه جهانی غذا مطرح می‌شود (Zhou *et al*., 2016). عملکرد برنج دورگ به میزان ۱۰ تا ۲۰ درصد بیشتر از ارقام پر محصول رایج است (Wang *et al*., 2024). در برنامه‌های تولید برنج دورگ از والدینی استفاده می‌شود که حداکثر تنوع ژنتیکی را دارند تا حداکثر هتروزیس و قدرت دورگ را در تولید دانه در F_1 مشاهده کنند (Rajendran *et al*., 2012). هتروزیس پدیده‌ای است که در آن دورگ نسبت به والدین، برتری نشان می‌دهد و دارای صفات اقتصادی برتری هستند که از همه مهم‌تر، افزایش عملکرد دانه است (Chen *et al*., 2018)؛ بنابراین می‌توان اصلاح برنج را به‌عنوان یکی از راه‌های امیدوارکننده برای افزایش تولید در واحد سطح در نظر قرار داد (Sheeba *et al*., 2009). بهره‌وری محصولات کشاورزی در چند دهه اخیر به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است که تا حد زیادی به‌دلیل توسعه ارقام جدید با عملکرد بالا بوده است با این‌حال، استفاده از آن هنوز محدود به چند محصول مانند ذرت و برنج است و به توسعه سیستم‌های تولید بذر دورگ، بادوام تجاری بستگی دارد (Nematzadeh *et al*., 2006).

از طرفی اساس گزینش در برنامه به‌نژادی گیاهی، بررسی صفت یا صفات مورد نظر است که با استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌توان مسیر اصلاح را کوتاه و دقیق‌تر نمود (Ghareyazie, 1997). استفاده از نشانگرهای ریزماوره‌ای[1] به دلیل دقت و سرعت بالا نسبت به روش‌های اصلاح سنتی، می‌تواند هزینه‌ها را کاهش دهد (Stromberg *et al*., 1994) و دیگر نیاز به آزمون نتاج نسل‌ها نیست و بوته‌های دارای ژن‌های برگرداننده باروری در همان مراحل اولیه رشد، شناسایی و انتخاب می‌شوند و در نتیجه اصلاح با سرعت بیشتری انجام می‌شود و به همین دلیل این نشانگرها موجب توجه بسیاری از اصلاحگران قرار گرفتند (Nematzadeh *et al*., 2004). برای تولید برنج دورگ علاوه‌بر انتخاب یک نشانگر مناسب به یک سیستم نرعقیمی مناسب نیز نیاز هست. سیستم نرعقیمی ژنتیکی – سیتوپلاسمی[2] و برگرداننده باروری به نام سیستم سه لاینی می‌تواند مناسب باشد بلاخص که در این سیستم امکان بازیابی لاین نرعقیمی ژنتیکی – سیتوپلاسمی نیز وجود دارد (Nematzadeh *et al*., 2006; Wang *et al*., 2018). در مطالعه‌ای که توسط (Nematzadeh and Kiani, 2013) انجام شد، تلاقی بین لاین نرعقیم سیتوپلاسمی ندا A در گیاه برنج با سه لاین برگرداننده باروری DN-32-6، DN-33-1 و DN-33-18 نشان داد که تلاقی ندا A با ژنوتیپ DN-33-18 دارای بیش از ۸۰ درصد باروری دانه گرده در نسل F_1 بود. نتایج بررسی‌های مولکولی در جمعیت F_2، با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای شامل RM258، RM171، RM591 و RM3148، وجود ژن‌های *Rf3* و *Rf4* را در والد DN-33-18 تأیید کردند.

باتوجه به اهمیت کیفیت در کنار افزایش عملکرد برنج، در سطح جهانی، تقاضا برای مصرف برنج معطر و با دانه‌های با کیفیت افزایش یافته است. عطر، یکی از شاخص‌هایی است که ویژگی‌های کیفی برنج را تعیین می‌کند. مطلوبیت دانه و محبوبیت ارقام معطر برنج در میان مصرف‌کنندگان، منجرب افزایش قیمت این محصول در بازار نسبت به ارقام غیرمعطر شده است. براساس عطر، دانه‌های برنج به چهار دسته طبقه‌بندی می‌شوند: (غیرمعطر، کمی معطر، متوسط و قوی (Hui *et al*., 2022). کیفیت دانه در حال حاضر یک مشکل عمده در تولید برنج پرمحصول در ایران و بسیاری دیگر از مناطق تولید برنج در جهان است (Oladi *et al*., 2014). سه عامل در کیفیت پخت برنج موثر است که شامل مقدار آمیلوز[3] درجه حرارت ژلاتینی شدن[4] و غلظت ژل[5] می‌باشد (Oladi *et al*., 2017). در ایران برنج‌های دارای کیفیت مطلوب حد متوسطی از پارامترهای ذکر شده را دارند (Zhou *et al*.,

1. Simple Sequence Repeat

2. Cytoplasmic Genetic Male Sterility
3. Amylose Content
4. Gelatinization Temperature
5. Gel Consistency

2016). به بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی هفت رقم از برنج دورگ پرداختند و گزارش دادند میزان آمیلوز از ۱۵/۶درصد تا ۲۷/۳ درصد متغیر بود. در تحقیقی که توسط (Dela Cruz and Khush, 2000) انجام شد واریته‌های برنج را براساس میزان آمیلوز به برنج واکسی صفر تا دو درصد، بسیار کم آمیلوز سه تا نه درصد، کم آمیلوز ۱۰ تا ۱۹ درصد، متوسط آمیلوز ۲۰ تا ۲۵ درصد و برنج های با آمیلوز بالا بیش از ۲۵ درصد طبقه‌بندی کردند. میزان آمیلوز در برنج پارامتر اصلی کیفیت پخت و خوراک است و تعیین‌کننده میزان افزایش حجم و قدرت جذب آب می‌باشد (Juliano, 1971). مقدار کم آمیلوز در برنج باعث چسبنده و لعاب‌دار شدن برنج بعد پخت می‌شود و برای اینکه انبساط حجمی پیدا نکند در صورتی که مقدار بالای آمیلوز موجب می‌شود که برنج بعد پخت سفت و خشک شود بنابراین بهترین میزان آن حد متوسط است که در این حالت برنج بعد پخت، نرم و مرطوب است و پس از سرد شدن سفت نمی‌شود (Nematzadeh *et al*., 2011).

این پژوهش به شناسایی و ارزیابی لاین‌های موتانت و امیدبخش برنج، به‌ویژه لاین‌های دارای ژن‌های مرتبط با نرعقیمی و ژن‌های برگرداننده باروری، پرداخته است. اهداف اصلی این تحقیق اندازه‌گیری و مقایسه عملکرد زراعی ژنوتیپ‌های دورگ ازجمله ویژگی‌هایی چون عملکرد دانه و درصد باروری، ارزیابی کیفیت دانه با آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی، شناسایی لاین‌های نرعقیم و برگرداننده باروری با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و بررسی ارتباط بین صفات زراعی و مولکولی با روش‌های آماری مناسب است.

۲. مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان طی سال‌های ۱۳۹۹ – ۱۳۹۸ اجرا شد. مواد گیاهی مورد استفاده در این مطالعه در (جدول ۱) ارائه شده است. در این مطالعه از ۱۹ ژنوتیپ برنج شامل ۱۳ لاین موتانت نسل دهم (M10) به‌همراه چهار ژنوتیپ برگرداننده باروری از مرکز بین‌المللی تحقیقات برنج[1] و دو رقم نگهدارنده نرعقیمی ندا و جلودار (والد مادری) جهت شناسایی منابع جدید لاین‌های برگرداننده باروری و نگهدارنده نرعقیمی استفاده شد. همچنین به‌منظور بررسی صفات فیزیکی و شیمیایی شش لاین دورگ برنج حاصل از تلاقی دو لاین نرعقیم ژنتیکی – سیتوپلاسمی جلودار A و ندا A (والد مادری) با سه لاین برگرداننده باروری خارجی شامل R68078-15-2-1-2-2- IR، R65622-151-1-2-2-2-IR و R86403-5-5-2-1-1-1-1-1 IR، به همراه دو رقم شاهد نعمت و فجر، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. لاین های موتانت (دشت– نعمت– پژوهش– سپیدرود– دمسیاه –آمل۳) از طریق پرتودهی با دوز ۲۰۰ گری اشعه گاما از منبع کبالت بعد از ده نسل خودگشنی با روش بالک تک بذر و روش شجره‌ای براساس خصوصیات مطلوب مورفولوژیکی و زراعی گزینش شدند. ۱۷ والد منتخب برای تولید مجموعه‌ای از دورگ‌های پیشنهادی با هر یک از دو لاین نرعقیم ژنتیکی – سیتوپلاسمی تلاقی داده شد و به این ترتیب ۳۴ تلاقی به همراه دو والد ندا و جلودار برای مطالعه حاضر فراهم شد. در سال زراعی اول بذور ارقام والدینی بعد از ضد عفونی با قارچ‌کش کربوکسین‌تیرام، جوانه‌دار و به خزانه انتقال داده شد. پس از آنکه ارتفاع بوته‌ها به ۲۰ – ۲۵ سانتی‌متر رسید تقریباً ۲۵ – ۳۰ روز بعد از بذرپاشی، همزمان با پنجه‌دهی گیاه (پس از چهار برگی شدن) نشاءها به زمین اصلی منتقل و به صورت تک بوته کاشته شدند. در شروع گلدهی، از لاین‌های نرعقیم ژنتیکی – سیتوپلاسمی، ارزیابی میزان عقیمی دانه گرده صورت گرفت. بدین‌صورت که سه گلچه از سه خوشه از هر لاین نرعقیم برای شناسایی میزان عقیمی انتخاب شدند. آزمون تست دانه گرده با محلول یدید یدور پتاسیم یک درصد به منظور مشخص نمودن عقیمی کامل دانه گرده صورت گرفت. عقیمی دانه گرده از لحاظ شکل و اندازه و همچنین از لحاظ رنگ آمیزی مشخص شدند. دانه‌ی بارور با مورفولوژی کروی و تیره رنگ و دانه‌های عقیم نیز به شکل چروکیده بدون رنگ خود را نشان دادند. بعد از تأیید عقیمی لاین‌های نرعقیم مورد مطالعه چند بوته از هر کدام از دو لاین نرعقیم که یک سوم برخی از خوشه‌ها از غلاف بیرون آمده بودند از مزرعه انتخاب شدند و در گلخانه نگهداری شدند. سه خوشه از بوته‌هایی که نوک خوشه‌ها از غلاف بیرون آمده بودند انتخاب شدند و همزمان در ساعت ۹ – ۸ صبح، از والدین پدری که دو سوم خوشه‌های آن از غلاف بیرون آمده بودند انتخاب و به اتاق گرده‌افشانی

1. International Rice Research Institute

منتقل شدند و در زمان مناسب (۱۲ – ۱٤ ظهر) گرده‌های لاین پدری بر روی خوشه‌های والد مادری گرده افشانی شدند. ۲۵ روز تا یک ماه پس از تلاقی، خوشه‌ها برداشت و بذرها درون یخچال (چهار درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. در سال زراعی دوم تمامی F_1های حاصل به‌همراه والدین در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه کشت شدند. در نهایت صفات زراعی و مورفولوژیکی شامل میزان عقیمی و باروری دانه گرده، تعداد روز تا ۵۰ درصد گلدهی، تعداد روز تا رسیدگی، ارتفاع بوته، تعداد پنجه بارور، طول خوشه، تعداد کل دانه، وزن هزار دانه، عقیمی و باروری خوشه و عملکرد دانه اندازه‌گیری شد (IRRI, 2013).

جهت تجزیه مولکولی، در ساعات اولیه صبح (۸ – ۱۰) زمانی که فعالیت‌های گیاهی به حداقل می‌رسند، از هر ژنوتیپ تعداد پنج برگ نمونه برداری شد و سپس از هر ژنوتیپ پنج برگ سالم و جوان انتخاب و به آزمایشگاه منتقل و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد سپس استخراج DNA به روشCTAB (Borges *et al.*, 2009) با کمی تغییرات از نمونه‌های برگی که در زمان حداکثر پنجه‌دهی از بوته‌ها برداشته شده بودند، انجام شد و تکثیر قطعات DNA با روش PCR انجام شد و همچنین کمیت و کیفیت DNA به روش اسپکتروفتومتری براساس جذب UV^2 و با تابش اشعه فلوروسانت و الکتروفورز ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفت. از نشانگرهای ریزماهواره جهت ردیابی ژن‌های برگرداننده باروری استفاده شد و تجزیه و تحلیل لینکاژها انجام و PCR با توجه به پروفایل دمایی اختصاصی هر نشانگر اجرا و در ادامه محصول PCR روی الکتروفورز ژل آگارز چهار درصد بارگذاری شد، سپس ژل با استفاده از اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه ژل داک[1] عکس‌برداری شد. از سه نشانگر ریزماوره همبسته با دو ژن اصلی *Rf3* شامل نشانگرهای RM 3148 و ژن *Rf4* همبسته با نشانگر RM 171 برای شناسایی ژن‌های برگرداننده باروری در برنج استفاده شد.

جهت بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی دانه دورگ‌ها (H27,H28 ,H29 ,H30 ,H33 ,H34) که عملکرد بالایی داشتند به‌همراه دو رقم شاهد نعمت و فجر در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار ارزیابی شد. دو رقم جلودار و ندا نیز به‌عنوان لاین‌های نرعقیم ژنتیکی-سیتوپلاسمی در اندازه‌گیری صفات کیفی بکار گرفته شدند. صفات کیفیت دانه شامل میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینی شدن، قوام ژل، طول و عرض دانه، طویل شدن دانه بعد پخت، میزان ری‌آمدن، میزان عطر برنج در آزمایشگاه کنترل و کیفیت برنج اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور ابتدا رطوبت دانه به وسیله دستگاه رطوبت سنج بذر اندازه گیری شد و پس از رساندن به رطوبت ۱۳ تا ۱٤ درصد به‌وسیله دستگاه پوست‌کن آزمایشگاهی به برنج قهوه‌ای و سپس با استفاده از دستگاه سفیدکن آزمایشگاهی به برنج سفید تبدیل و اندازه گیری انجام شد. بعد از جداسازی دانه‌های سالم از شکسته، برنج‌های سفید سالم، قبل پخت با کولیس و بعد پخت نیز اندازه گیری شد تا درجه ری‌آمدن تعیین شود. پس از سفید کردن دانه برنج توسط آسیاب برای اندازه گیری. صفت ری آمدن بعد پخت، برنج‌های سفید سالم به روش (Shafi and Azeez., 1966) اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی میزان آمیلوز از روش جولیانو و ویلارئال استفاده شد و در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ٦۲۰ نانومتر اندازه گیری صورت گرفت (Juliano and Villareal, 1993). برای اندازه‌گیری درجه حرارت ژلاتینی شدن برنج از روش لیتل و همکاران (Little *et al.*, 1958) استفاده شد که در نهایت با استفاده از دستگاه انکوباتور در دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد نمونه‌ها با توجه به شکل دانه نمره‌دهی شدند و براساس میزان قابلیت انحلال در محلول پتاس و ژلاتینی شدن دانه اندازه‌گیری شدند (Mohteshmi *et al.*, 1998) براساس این طبقه‌بندی، با بالارفتن دمای ژلاتینی شدن زمان پخت آن نیز طولانی‌تر می‌شود. طول دانه بعد پخت، روی کاغذ میلی‌متری اندازه گیری شد و پس از آن میزان ری آمدن ارزیابی شد. اندازه گیری میزان عطر برنج به روش سود و صدیق (Sood and Siddiq, 1978) انجام شد و عطر برنج از طریق بوییدن دانه‌های برنج بعد پخت توسط رقم‌های فجر و نعمت به‌عنوان شاهد معطر و غیرمعطر اندازه‌گیری شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و تجزیه کلاستر به روش حداقل واریانس Ward صورت گرفت و تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱٦ انجام شد.

1. Gel Document

Table 1: Names and pedigree of paternal and maternal rice genotypes (cytoplasmic sterile lines) used in this study

Code	Rice genotypes	Pedigree	Panicle fertility	Number of grains per	1000- Grain weight	Grain yield (kg/ha)
1	P10-88–37	Nemat mutant	83.00	161.45	21.57	5470
2	P8-7-2-1-7-3-1-1	Domsiah mutant	78.67	193.00	25.87	5750
3	P8-7-2-1-4-2-1-1	Domsiah mutant	92.67	97.56	25.32	5750
4	P8-3-2-1-1-1-1	Domsiah mutant	81.00	141.89	22.46	4840
5	P9-7-6-3-1-3-1	Fajr mutant	91.67	135.11	25.22	5610
6	P9-8-1-1-1	Fajr mutant	78.33	137.22	23.04	6410
7	P9-7-1-1-1-1	Fajr mutant	77.00	152.22	23.83	5610
8	P11-6-2-1-1-1-1	Sepidroudmutant	90.00	116.89	30.43	6840
9	P12-5-3-3-2-2-1	Amol3 mutant	87.67	142.89	25.93	7320
10	P12-5-3-3-2-1-1	Amol3 mutant	81.33	174.11	23.29	7800
11	P14-1	Dasht mutant	69.33	215.78	22.68	2220

P8: Damsiah, P9: Fajr, P11: Sepidroud, P12: Amol 3, P14: Dasht, P15: Pajouhesh, P10: Nemat

Table 1 continued: Names and pedigree of paternal and maternal rice genotypes (cytoplasmic sterile lines) used in this study

Code	Rice genotypes	Pedigree	Panicle fertility	Number of grains per panicle	1000-Grain weight (g)	Grain yield (kg/ha)
12	P15-6	Pajouhesh mutan	84.67	156.67	27.50	6520
13	P15-2	Pajouhesh mutant	87.67	122.33	30.17	9240
14	IR68078-15-2-1-2-2-R	IRRI restorer lines	66.00	202.45	21.62	5990
15	IR65622-151-1-2-2-2R	IRRI restorer lines	65.33	220.22	20.82	8660
16	IR86403-5-5-2-1-1-1-1-1R	IRRI restorer lines	54.67	218.22	25.59	8250
17	NSIC RC 434	IRRI restorer lines	67.33	155.22	26.95	4650
18	Jelodar	Tarom Dilmani/Sang Tarom	87.33	161.33	22.29	6930
19	Neda	Hassan Saraei/Sang Tarem/Amol 3	78.33	145.33	28.06	8200

P8: Damsiah, P9: Fajr, P11: Sepidroud, P12: Amol 3, P14: Dasht, P15: Pajouhesh, P10: Nemat

Table 2: SSR primers used in molecular assessment of rice genotypes

SSR Markers		Primer	Chromosomal location	Fertility restorer genes	Reference
RM 3148	Forward Reverse	GACTATTGCTCGAACACTTTG TTGTCTTGCTTTGGTATTTGC	1	*Rf3*	(McCouch *et al*. 2002) (Jahani *et al*. 2014)
RM 171	Forward Reverse	AACGCGAGGACACGTACTTAC ACGAGATACGTACGCCTTTG	10	*Rf4*	(Bazrkar *et al*. 2008) (Lu *et al*. 2005)

۳. نتایج و بحث

نتایج تجزیه‌وتحلیل واریانس F_1های حاصل از تلاقی دو لاین نرعقیم (ندا A و جلودار A) با ۱۷ لاین پدری نشان داد (جدول ۳) که در همه صفات، اختلاف معنی‌داری وجود دارد که بیانگر تنوع بین ژنوتیپ‌های مورد ارزیابی بود. تفاوت معنی‌دار مشاهده شده در تجزیه‌وتحلیل واریانس در همه صفات نشان‌دهنده سطح بالای تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های ارزیابی‌شده بود که در برنامه‌های اصلاحی برنج دورگ بسیار مهم است چراکه به اصلاح‌کنندگان این امکان را می‌دهد تا ژنوتیپ‌هایی را با ویژگی‌های مطلوب مانند عملکرد بالا، مقاومت به بیماری یا سازگاری با محیط گزینش کنند و شانس ایجاد دورگ‌های برتر را بهبود بخشند از طرفی برای تنوع ژنتیکی بین لاین‌های والدینی در جهت تولید هتروزیس ضروری است، جایی که دورگ‌ها در مقایسه با والدین خود صفات برتری نشان می‌دهند (Govindaraj *et al*., 2015; Xu, 2010). نتایج حاصل از تحقیق (Satheeshkumar *et al*.,

2016) برای ارزیابی میزان هتروزیس و عملکرد مشخص نمود که در تلاقی ADT 43 × AURC 22، کمترین مقدار عملکرد دانه در بوته مشاهده شد در این میان دورگ‌های AURC 14 × TRY 1 و ADT 4 × AURC 10 به‌عنوان هیبریدهای برتر شناخته شدند.

(Baloch Zahi *et al.*, 2015) در شناسایی والدین مناسب جهت تولید ارقام دورگ اذعان داشتند مهم‌ترین گام در هر برنامه اصلاحی به‌ویژه تولید برنج دورگ انتخاب والدین مناسب است و طی مطالعه‌ای که با هدف گزینش والدین مناسب جهت تولید برنج دورگ انجام شد به این نتیجه رسیدند که در بین لاین‌ها، لاین L1 با متوسط ۳٤/۷۵ گرم دانه در بوته از سایر لاین‌ها برتر بود.

مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی نتایج F_1 برنج (جدول ٤) نشان داد که دامنه تغییرات تعداد روز تا ۱۰۰ درصدگلدهی و تعداد روز تا رسیدگی به‌ترتیب ۱۸، ۳۶/۳۳ روز بود. دورگ H4 با ۹۱ روز، زودرس‌ترین و دوره رسیدگی مابقی ژنوتیپ‌ها از ۱۱٦ تا ۱۲۷ روز بود. ارتفاع بوته نتاج F_1 برنج از۹۹ تا ۱٤۹/٦۷ سانتی‌متر متغیر بود. تعداد پنجه‌های بارور نتاج F_1 برنج از ۸/٦۷ (H25) تا ۳۰/۲۹ (H32) متغیر بود که نشان دهنده تنوع در تعداد پنجه بود. بلندترین طول خوشه مربوط به دورگ H12 با ۳۳/۲۲ سانتی‌متر و بیشترین تعداد دانه پر در خوشه متعلق به تلاقی‌های H28، H34، H27، H30 و H29 (به ترتیب با تعداد ۱٦۱/۱۷۷،۸۹/۲، ۱۵۵/۱۷، ۱٤٦/۷۸ و ۱٤۱ دانه در خوشه) بود که دو دورگ H28 و H34 دارای بیشترین تعداد کل دانه نیز بودند. طول دانه شلتوک نتاج F_1 از ۹/٦ تا ۱۱/۲۷ میلی‌مترمتغیر بود.

بیشترین میزان باروری خوشه متعلق به H28 (۸۳/٦۹)، H27 (۸۳/۳۰)، H30 (۸۲/۰۵) و H29 (۸۱/۲۱) بود. بیشترین وزن هزار دانه متعلق به H4 با ۲۹/۸۷ گرم بود. بیشترین میزان عملکرد دورگ‌ها به ترتیب H30 (۱۱۹٤٤/٤)، H27 (9647.5)، H28 (۹۰٤٤/۳)، H29 (۸۷۰۱/۳) بودند که دلیل آن داشتن تعداد پنجه بارور، تعداد خوشه بارور، وزن هزار دانه و باروری خوشه بالا بود. این دورگ‌ها به عنوان برترین دورگ‌ها به همراه والدین‌شان انتخاب شدند. در مطالعه‌ای مشابه بر روی ژنوتیپ‌های برنج دیم در جنوب غربی اتیوپی که توسط (Tiruneh *et al.*, 2019) انجام شد حاکی از تفاوت‌های معنی‌داری بین میانگین ژنوتیپ‌ها برای بیشتر صفات مورفولوژیکی موردبررسی بود. این صفات شامل ارتفاع گیاه، طول پانیکول (خوشه)، طول ساقه، تعداد دانه پر در خوشه، تعداد روز تا رسیدگی، تعداد روز تا گلدهی، شاخص برداشت و عملکرد دانه بودند. این یافته به‌وضوح بیانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل‌توجه در جمعیت موردمطالعه بوده است. این مطالعه همچنین با استفاده از تجزیه‌وتحلیل خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها را به شش گروه مجزا تقسیم نمود که نشان‌دهنده فاصله ژنتیکی بالا بین آن‌هاست. کلیت نتایج بیانگر آن است که ژنوتیپ‌های مختلف، میانگین‌های متفاوتی را نشان دادند. این تفاوت‌ها زمینه را برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر براساس میانگین مطلوب هر صفت فراهم می‌کند و این تنوع، اساس و پتانسیل لازم برای پیشرفت در برنامه‌های اصلاح نژاد است.

(Pishnamazzadeh Emami *et al.*, 2020) با ارزیابی صفات زراعی گیاه برنج بیان داشتند که صفاتی نظیر تعداد خوشه، تعداد دانه در خوشه و وزن هزار دانه برعملکرد نهایی دانه تأثیرگذار است و می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های تعیین عملکرد دانه محسوب شوند.

(Vojdan *et al.*, 2014) مطالعه‌ای در سال ۲۰۱٤ انجام دادند که در طی آن، نتایج تجزیه واریانس تفاوت بسیار معنی‌داری را برای لاین‌ها در تمام صفات نشان داد لذا بین لاین‌ها تنوع ژنتیکی وسیعی برای تمامی صفات وجود داشت. کمترین ضریب تغییرات (CV) مربوط به صفت ارتفاع بوته (۳/۱۱ درصد) و بیشترین ضریب تغییرات مربوط به صفت تعداد پنجه (۱۱/۷۹درصد) بود.

همچنین طی نتایج مقایسه میانگین لاین‌های موردبررسی، لاین‌های M6-N-16 (۸۲٦/۸۵ گرم) و M6-N-37 (۸۲۱/۵۰ گرم) مشترکاً بالاترین عملکرد و لاین F6-7 (۱۷٦/۸۱ گرم) پایین‌ترین مقدار این صفت را در میان لاین‌های مورد بررسی نشان داد. بالابودن این صفت می‌تواند ناشی از بالابودن صفاتی همچون تعداد پنجه بارور، تعداد کل دانه، تعداد دانه پر در خوشه و برخی صفات دیگر مرتبط با عملکرد باشد (Vejdan *et al.*, 2014).

Table 3: Analysis of variance for morphological traits of studied genotypes respectively

S.O.V.	df	Plant height (cm)	Number fertile Tiller	Days to100% flowering	Days to maturity	Panicle length(cm)
Genotype	35	606.63**	38.31**	65.55**	133.63**	10.86**
Block	2	16.09	7.70*	35.03**	22.11**	0.25
Error	70	7.91	1.91	0.03	0.34	1.26
CV	-	11.28	8.35	5.15	5.54	7.04

* and ** significantly different at the 1% and 5% probability levels

Table 3 continued: Analysis of variance for morphological traits of studied genotypes respectively

S.O.V.	df	Number of Filled grains	Number of unfilled grains	Number of seeds/panicles	Grain length (mm)	Grain Width (mm)
Genotype	35	8212.92**	6949.48**	879.74**	0.83**	0.05**
Block	2	2.46	352.58	427.21**	0.23**	0.00n.s
Error	70	66.63	179.27	143.88	0.07	0.00
CV	-	31.29	13.34	12.10	4.09	5.61

* and ** significantly different at the 1% and 5% probability levels

Table 3 continued: Analysis of variance for morphological traits of studied genotypes respectively

S.O.V.	df	Length to width (mm)	1000-Grain weight (g)	Seed density	% Fertility percentage of pollen	% Panicle fertility
Genotype	35	0.05**	14.76**	0.82**	28.21	2558.24**
Block	2	0.11n.s	4.42*	0.32	8.16	32.14
Error	70	0.03	1.38	0.2	10.19	33.44
CV	-	7.81	8.61	11.60	30.10	38.83

* and ** significantly different at the 1% and 5% probability levels

Table 4: Mean comparison of morphological traits of F1s obtained from the crosses of the male sterile lines A and Neda A with the paternal lines

F1	H1	H2	H3	H4	H5
Crosses	Jelodar A /P14-1	Neda A/ P14-1	Jelodar /A P15-2	Neda A/ P15-2	Jelodar A/ P15-6
Plant height (cm)	117.67g-k	100.67l-m	126fg	112k	122f-j
Day to 100% flowering	94.00f	944.72f-n f	86k	84l	56k
Day to maturity	120g	120g	121.33fg	91i	124cd
Panicle length (cm)	31.42a-e	31.02a-f	29.78a-h	29.27b-h	29.18c-h
Number of filled grains	7.33n	48.50jih	64.33ghi	105ed	12.50mn
Number of unfilled grains	184.89o	117.33g-i	96.33d-i	47.66abc	132.17i-n
Total seed	192.22abc	165.33b-f	160.33b-f	152.67c-f	144.67ef
Grain length (mm)	11.27a	10.73abc	10.99ab	10.47a-f	10.47a-f
Grain width (mm)	1.95jkl	2.04e-l	2.13a-i	2.25abc	2.22a-d
Length to width (mm)	5.78a	5.27a-e	5.16b-f	4.65g-n	4.72f-n

Means followed by the same letter are not significantly different statistical

Table 4 continued: Mean comparison of morphological traits of F_1s obtained from the crosses of the male sterile lines A and Neda A with the paternal lines

F1	H6	H7	H8	H9	H10
Crosses	Neda A/ P15-6	jelodar A/ P10-88-37	Neda A/ P10-88-37	Jelodar A/ P8-3-2-1-1-1-1	Neda A /P8-3-2-1-1-1-1
Plant height (cm)	110.67k	113.5jk	99m	139.67b-e	143.5a-d
Day to 100% flowering	86k	89i	88j	86k	99c
Day to maturity	116.67h	122ef	127ab	127ab	127ab
Panicle length (cm)	32.56abc	27.53f-i	27.61f-i	32.11a-d	32.94ab
Number of filled grains	97.44f	9.33n	26.11n-j	9.11n	0.67n
Number of unfilled grains	85.56c-h	157l-o	129.11h-m	147.89no	180.11o
Total seed	183a-e	166.33b-f	155.22b-f	184a-e	180.78 a-e
Grain length (mm)	10.18b-f	10.31b-f	10.07c-f	10.40a-f	10.59a-e
Grain width (mm)	2.27abc	1.88l	2.20a-e	2.05d-l	2.25ab
Length to width (mm)	4.49n-j	5.50abc	4.57h-n	5.08b-g	4.71f-n

Means followed by the same letter are not significantly different statistical

Table 4 continued: Mean comparison of morphological traits of F_1s obtained from the crosses of the male sterile lines A and Neda A with the paternal lines

F_1	H11	H12	H13	H14	H15
Crosses	Jelodar A/ P8-7-2-1-4-2-1-1	Neda A/ P8-7-2-1-4-2-1-1	Jelodar A/ P8-7-2-1-7-3-1-1	P8-7-2-1-7-3-1-1/Neda A	Jelodar A/ P9-7-1-1-1-1
Plant height (cm)	146.67abc	143.33a-d	149.67a	147.67ab	117.33g-k
Day to 100% flowering	94f	98d	90h	94f	91g
Day to maturity	127ab	127ab	116h	127ab	127ab
Panicle length (cm)	32.26a-f	32.22a	32.11a-d	31.67a-e	29.27b-h
Number of filled grains	42.22i-l	48.55hij	101.78de	73.83fgh	14.89lmn
Number of unfilled grains	134.11i-n	113.89f-l	75.22b-g	104.67e-k	141.67j-o
Total seed	176.33a-e	162.44b-f	177a-e	178.5a-e	156.56b-f
Grain length (mm)	9.78def	9.60f	10.52a-e	9.76e-f	10.59a-e
Grain width (mm)	2.15a-i	2.24abc	2.13a-i	2.21a-d	2.01h-i
Length to width (mm)	4.55i-n	4.29n	4.94d-k	4.4lmn	5.34a-e

Means followed by the same letter are not significantly different statistical

Table 4 continued: Mean comparison of morphological traits of F_1s obtained from the crosses of the male sterile lines A and Neda A with the paternal lines

F_1	H16	H17	H18	H19	H20
Crosses	Neda A/ P9-7-1-1-1-1	Jelodar A/ P9-7-6-3-1-3-1	Neda A/ P9-7-6-3-1-3-1	Jelodar A/ P9-8-1-1-1	Neda A/ P9-8-1-1-1
Plant height (cm)	109.67kl	141.33a-d	124f-i	124f-i	118g-k
Day to 100% flowering	86k	90h	90h	90h	90h
Day to maturity	127ab	120g	117h	122ef	127ab
Panicle length (cm)	30.08a-h	30.33a-g	30.06a-h	29.89a-h	29.28b-h
Number of filled grains	45.44ijk	109.33de	111.83de	37.17i-m	20.44k-n
Number of unfilled grains	101.67d-j	58.83a-d	45abc	143j-o	151.33l-o
Total seed	147.11def	168.17b-e	156.83b-f	180a-e	171.78a-e
Grain length (mm)	10.70abc	10.67abc	10.57a-e	10.50a-e	10.38 a-f
Grain width (mm)	2.17a-h	2i-l	2.17a-h	1.89jkl	2.05d-k
Length to width (mm)	4.92d-k	5.34a-d	4.87d-l	5.56ab	5.05b-i

Means followed by the same letter are not significantly different statisti

Table 4 continued: Mean comparison of morphological traits of F_1s obtained from the crosses of the male sterile lines A and Neda A with the paternal lines

F_1	H21	H22	H23	H24	H25	H26
Crosses	Jelodar A/ P11-6-2-1-1-1-1	Neda A/ P11-6-2-1-1-1-1	Jelodar A/ P12-5-3-3-2-1-1	Neda A/ P12-5-3-3-2-1-1	Jelodar A/ P12-5-3-3-2-2-1	Neda A/ P12-5-3-3-2-2-1
Plant height (cm)	125fgh	2.14a-i	114jk	110k	115ijk	111k
Day to 100% flowering	90h	94f	90h	90h	90h	90h
Day to maturity	127ab	127ab	127ab	116.67h	121fg	123.33de
Panicle length (cm)	29.40b-h	28.67d-i	28.20e-i	25.06i	28.80d-h	30.23a-g
Number of filled grains	7.22n	44.34ijk	64.78ghi	84.67efg	5.45n	50.22hij
Number of unfilled grains	164.44mno	101d-j	84.56c-h	65.33-e	147.89k-o	114.78l-f
Total seed	171.67a-e	145.33e-f	146.33e-f	150def	153.33c-f	165b-f
Grain length (mm)	10.74abc	10.06c-f	10.27b-f	10.48a-f	10.66a-d	10.29b-f
Grain width (mm)	2.14a-i	2.20a-e	2.03f-i	2.24abc	2.18a-g	2.07c-j
Length to width	5.03c-i	4.57h-n	5.06b-h	4.69f-n	4.89d-l	4.97d-j

Means followed by the same letter are not significantly different statistical

Table 4 continued: Mean comparison of morphological traits of F_1s obtained from the crosses of the male sterile lines A and Neda A with the paternal lines

F_1	H27	H28	H29	H30
Crosses	Jelodar A/ IR68078-15-2-1-2-2-R	Neda A/ IR68078-15-2-1-2-2-R	Jelodar A/ IR65622-151-1-2-2-2-R	Neda A/ IR65622-151-1-2-2-2-R
Plant height (cm)	136de	121.33g-j	137cde	111.67k
Day to 100% flowering	97e	97e	97e	97e
Day to maturity	125.67abc	127ab	125.33bc	127ab
Panicle length (cm)	29.24b-h	31.27a-f	29.87a-h	26.37hi
Number of filled grains	177.20ab	177.20 ab	146.78bc	146.78bc
Number of unfilled grains	31.33abc	80c-g	35ab	32ab
Total seed	186.5a-d	211.67a	173.67a-e	178.78a-e
Grain length (mm)	10.09c-f	9.73e-f	10.07c-f	10.09c-f
Grain width (mm)	2.26ab	2.23abc	2.01g-l	2.10b-j
Length to width	4.47j-n	4.36mn	5.01c-i	4.80e-m

Means followed by the same letter are not significantly different statistical

Table 4 continued: Mean comparison of morphological traits of F_1s obtained from the crosses of the male sterile lines A and Neda A with the paternal lines

F_1	H31	H32	H33	H34
Crosses	JelodarA/ NSICRC434	NedaA/ NSICRC434	Jelodar A/ IR86403-5-5-2-1-1-1-1-1R	Neda A/ IR86403-5-5-2-1-1-1-1-1R
Plant height (cm)	1130.67ef	115.67ijk	126.33fg	116h-k
Day to100% flowering	98d	101b	90h	102a
Day to maturity	125cd	127ab	117h	127ab
Panicle length (cm)	31.27a-f	30.29a-g	26.79ghi	28.72d-i
Number of filled grains	57.17ghi	97.56def	118.78dc	177.20 ab
Number of unfilled grains	70.67b-f	74b-g	23.89a	32.00 ab
Total seed	127.83f	171.56b-e	144.22e-f	193.89e-f
Grain length (mm)	10.55a-e	10.20b-f	10.54a-e	10.49a-f
Grain width (mm)	2.19a-f	2.29abc	2.20a-e	2.28a
Length to width	4.82e-m	4.45k-n	4.79e-n	4.59g-n

Means followed by the same letter are not significantly different statistical

٤. نتایج حاصل از تجزیه مولکولی ژن‌های برگرداننده باروری (*Rf3* و *Rf4*) برای لاین‌های برنج دورگ

نتایج نشانگر RM 3148 دردورگ‌های حاصل از تلاقی ارقام پدری IR 68078-15-2-1-2-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2-R و IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R با لاین نرعقیم جلودار A (شکل ۱) چندشکلی واضحی را بین ژنوتیپ‌های شاهد جلودار A و IR 67924R نشان داد. احتمالاً هر دو رقم شاهد دارای ژن *Rf3* هستند. ارقام پدری IR 68078-15-2-1-2-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R دارای الگوی نواری مشابه شاهد برگرداننده باروری بودند و دورگ‌های حاصل شامل H27، H29 و H33 نیز دارای هر دو الگوی نواری یعنی هتروزیگوت و براساس این نشانگر احتمالاً دارای ژن *Rf3rf3* بودند. (Kiani, 2012) در شناسائی ارقام برگرداننده و نگهدارنده باروری در برنج با استفاده از نشانگر ریزماهواره (RM 3148، RM 258 و RM 171) گزارش دادند که ارقام هاشمی، سپیدرود و دیلمانی دارای ژن برگرداننده باروری *Rf3* بودند و پیشنهاد دادند که می‌توان از آنها در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی برنج دورگ در کشور استفاده کرد. در مطالعه‌ای که توسط (Kiani *et al.*, 2018) با هدف اعتبارسنجی نشانگرهای ریزماهواره مرتبط با ژن‌های *Rf* برای تشخیص لاین‌های برگرداننده و نگهدارنده باروری در نوع نرعقیمی ژنتیکی - سیتوپلاسمی (WA) انجام شد. دوازده نشانگر ریزماهواره که گزارش شده بود با ژن‌های *Rf* مرتبط هستند، موردبررسی قرار گرفتند و مشخص شد سه نشانگر شامل RM 258، RM 171 و RM 3148 با ژن‌های *Rf* مرتبط هستند. همچنین در مطالعه‌ای که توسط (Kiani, 2017) جهت شناسایی ارقام برگرداننده باروری و نگهدارنده باروری در برنج با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای صورت گرفت نشان داد در لاین‌هایی که در نتاج آنها باروری خوشه و دانه گرده بیش از ۸۰ درصد مشاهده شده است را می‌توان به عنوان لاین‌های برگرداننده باروری در نظر گرفت.

(Revathi *et al.* 2020) برای انتقال ژن *Rf3* به رقم Swarna که دارای ژن *Rf4* بود از نشانگرهای مختلفی همچون RM 3148 برای تشخیص ژن *Rf3* در جمعیت حاصل از تلاقی استفاده نمودند. (Kiani, 2015) پژوهشی در سال ۲۰۱۵ انجام داد. این مطالعه با هدف اعتبارسنجی نشانگرهای ریزماهواره‌ای همبسته با ژن‌های *Rf* و استفاده از انتخاب به کمک نشانگر برای تشخیص لاین‌های برگرداننده باروری در سیستم نرعقیمی ژنتیکی - سیتوپلاسمی نوع WA انجام شد. ۱۲ نشانگر ریزماهواره که همبستگی آنها با ژن‌های *Rf* گزارش شده بود، موردارزیابی قرار گرفت. از بین آنها سه نشانگر RM 171،258 RM و RM 3148 با ژن‌های *Rf* همبسته بودند و نتایج نشان داد که از این نشانگرها برای غربال‌گری ژنوتیپ‌ها به‌منظور شناسایی لاین‌های برگرداننده باروری در برنامه‌های اصلاح برنج دورگ می‌توان استفاده کرد. در تحقیقی که توسط (Jing *et al.*, 2001) در سال ۲۰۰۱ انجام شد. در نتیجه تلاقی لاین نرعقیم Zhenshan 97A با دو لاین برگرداننده باروری IR 24 و IR 64 برای مکان یابی ژن برگرداننده باروری استفاده شد. آنها صفت برگرداننده باروری را دو ژنی پیوسته روی کروموزوم ۱۰ مکان‌یابی نمودند و دریافتند که مکان *Rf* در IR 24 توسط نشانگر RM 171 (OSR33) روی بازوی بلند کروموزوم ۱۰ با فاصله ژنتیکی ۷/۳ سانتی مورگان قرار دارد.

در مطالعه‌ای که توسط (Eidi-Kohnakii *et al.*, 2015) انجام شد بیان داشتند که تلفیق روش‌های کلاسیک اصلاح نبات و انتخاب مبتنی بر نشانگرهای مولکولی، سرعت تولید لاین‌های جدید اصلاحی را افزایش می‌دهد اما محدودیت ارقام مناسب برگرداننده باروری، تعداد کم لاین‌های موثر و سازگار و پایه محدود ژنتیکی آن‌ها، از مشکلات اساسی در تولید برنج هیبرید به‌شمار می‌رود و با بررسی‌های مولکولی که بر روی لاین‌ها و ژنوتیپ‌های گزینش شده انجام شد، چهار نشانگر ریزماهواره همبسته با ژن‌های *Rf* شامل RM 171، RM 3148، RM 1 و RM 258 الگوی نواری مناسبی را از نظر ژن‌های برگرداننده باروری ارائه نمودند و مشخص شد که لاین‌های R5، R7، R9، R28 و R45 به‌عنوان لاین‌های دارای پتانسیل مناسب جهت برگردانندگی باروری هستند.

در مطالعه‌ای که توسط (Rajendran *et al.*, 2012) در رابطه با تجزیه‌وتحلیل تنوع ژنتیکی ۱۲ لاین تجاری با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره انجام شد که از میان ۱۰۰ نشانگر استفاده شده، ٦٢ نشانگر، چند شکلی نشان دادند و بیشتر این نشانگرها برای تشخیص دورگ، مناسب بودند و برنج دورگ تجاری 2-KRH توسط نشانگرهای ویژه‌ای چون KMR-3، RM 297، RM 442، RM 541، RM 584، RM 107 و

نشانگرهای خاصی چون RM 529، RM 489، RM 589، RM 533و RM 182 شناسایی شد. همچنین تجزیه‌وتحلیل خوشه‌ای نشان داد. فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های نگهدارنده و برگداننده باروری ۲۲ درصد است و نتایج حاکی از وجود تنوع ژنتیکی سطح پایین بین رده‌های والدینی برنج دورگ تجاری است، که نشان می‌دهد برای ایجاد حداکثر هتروزیس در برنامه تولید برنج دورگ، به تنوع در پایه ژنتیکی نیاز است

در بررسی (Singh *et al.*, 2004) از غربال ۱۰۰ لاین اصلاحی با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهواره شامل RM 6100 و RM 10313 لینک با ژن‌های *Rf3* و *Rf4*، مشخص شد تعداد ٦١ لاین دارای هر دو ژن برگرداننده باروری بودند، از این تعداد ۱۸ لاین گزینش و با شش لاین نرعقیم ژنتیکی-سیتوپلاسمی شامل APMS6A, Pusa A5, IR 58025, IR 68897, IR 79156 and IR 68888 تلاقی داده شدند ودورگ‌های حاصل شامل APMS6A X GQ-86, IR 79156A X IR-55778R, APMS 6A X VG-269 IR 68888A X BR-827-35 دارای بیش از ۹۰ درصـــد باروری سنـــبلچه بودند، به‌علاوه نتایج این تحقیق نشان داد که توانایی برگردانندگی باروری برای لاین‌های نرعقیم ژنتیکی – سیتوپلاسمی‌های مختلف، متفاوت بود، بنابراین لاین‌های نرعقیم ژنتیکی – سیتوپلاسمی نقش مهمی در رسیدن به هتروزیس بالاتر بر عهده دارند.

در تحقیقی که توسط (Pervaiz *et al.*, 2010) تنوع ژنتیکی صفات زراعی با استفاده از نشانگرهای ریز ماهواره در مزارع برنج پاکستان انجام شد که در آن تنوع ژنتیکی با استفاده از ۳۰۵ نشانگر و ۷۵ نوع ژنوتیپ اندازه‌گیری شد. از بین نشانگرهای مورد استفاده، ۱٤۲ آلل در ۳۲ جایگاه نشانگر ریزماهواره‌ای چندشکلی نشان دادند. درحالی‌که سه جایگاه ژنی مونومورف بودند. تعداد آلل‌های شناسایی شده توسط هر نشانگر بین ۲ – ۱۳ با میانگین ٤/٤ متغیر بود. تفاوت اندازه بین کوچکترین و بزرگترین آلل‌ها از bp ۱۱ تا bp ۷۱ متغیر بود. محتوای اطلاعات چند شکلی در نه مکان ریز ماهواره‌ای از ۰/۱۲٤ تا ۰/۸۳٦ متغیر و میانگین آن ۰/٥٦۹ بود. نشانگرهای RM 70و RM 72 مکان‌های برنج را بر اساس تعداد روز تا گلدهی تقسیم کردند. دندروگرام مبتنی بر چندشکلی کل میکروماهواره‌ای ۷۵ ژنوتیپ را به چهار خوشه اصلی با ضریب تشابه ۰/٤۰ تقسیم‌بندی کرد، انواع مختلف صفات مورفولوژیکی مانند: معطر بودن، بلند بودن ارتفاع بوته و دیررس بودن آن، کوتاه‌بودن ارتفاع بوته و زودرسی آن را از یک دیگر متمایز کردند استنباط می‌شود که سرزمین‌های پاکستان دارای پایه‌های ژنتیکی متنوعی هستند و می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی آینده استفاده کرد. نشانگرهای DNA توسعه‌یافته به شناسایی ژنوتیپ، آزمایش خلوص و محافظت از انواع گیاهان کمک می‌کنند.

در سال ۲۰۱۲ مطالعه ای که توسط (Rajendran *et al.*, 2012) در مورد تجزیه‌وتحلیل تنوع ژنتیکی ۱۲ لاین تجاری با استفاده از نشانگر توالی‌های ساده تکراری انجام شد که از میان ۱۰۰ نشانگر استفاده شده، ٦۲ نشانگر، چند شکلی نشان دادند و بیشتر این نشانگرها برای تشخیص دورگ، مناسب بودند و برنج دورگ تجاری 2-KRH توسط نشانگرهای ویژه‌ای چون KM R-3، RM 297، RM 442، RM 541، RM 584، RM 107 و نشانگرهای خاصی چون RM 529، RM 489، RM 589، RM 533 و RM 182 شناسایی شد. همچنین تجزیه و تحلیل خوشه‌ای نشان داد. فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های نگهدارنده و برگداننده باروری ۲۲ درصد است و نتایج حاکی از وجود تنوع ژنتیکی سطح پایین بین رده‌های والدینی برنج دورگ تجاری بود، که نشان داد برای ایجاد حداکثر هتروزیس در برنامه تولید برنج دورگ، به تنوع در پایه ژنتیکی نیاز است.

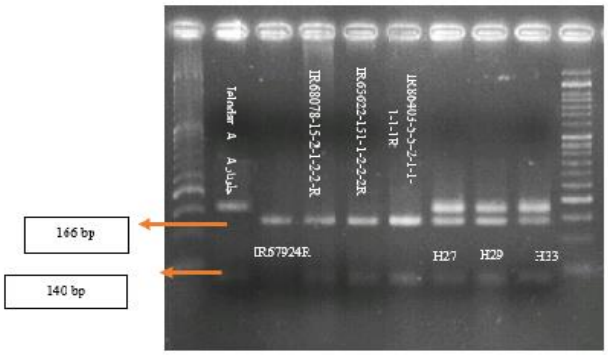

Fig. 1: RM 3148 marker band pattern for parent cultivars and rice hybrids obtained by crossing with sterile male Jelodar A line

نتایج حاصل از نشانگر RM 3148 (شکل ۲)، چندشکلی واضحی را در میان ژنوتیپ‌های شاهد نرعقیم ندا A و برگرداننده باروری IR 67924R نشان داد. براین اساس رقم شاهد نرعقیم ندا A و رقم شاهد بین‌المللی IR 67924R احتمالا دارای ژن *Rf3* بودند و ارقام والدینی و دورگ‌های حاصل الگوی نواری مشابه الگوی نواری شاهد نرعقیم داشتند.

(Nematzadeh and Kiani., 2010) در مطالعه تجزیه ژن‌های برگرداننده باروری برای نرعقیمی ژنتیکی – سیتوپلاسمی نوع WA درلاین DN-33-18، با تلاقی رقم نرعقیم ندا A با سه لاین اصلاح شده با استفاده از نشانگر MR 3148، تلاقی ندا با لاین DN33-18 را با بیش از۸۰ درصد باروری دانه گرده گزارش دادند.

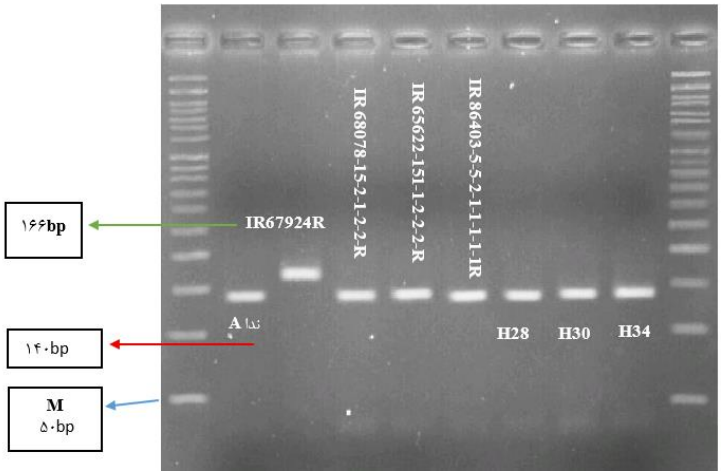

Fig. 2: Band pattern of RM 3148 marker for parental rice cultivars and hybrids resulting from crossing with sterile Neda A line

نشانگر RM 171 در فاصله‌ی ۶/۳ سانتی‌مورگان و پیوسته با ژن *Rf4*، قرار داشت (Nematzadeh and Kiani., 2012). چندشکلی ایجاد شده با نشانگر RM 171 بین لاین نرعقیم جلودار A و لاین شاهد IR 67924R و سه لاین والدینی IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R به همراه سه دورگ حاصل از تلاقی لاین‌های والدینی و جلودار A نشان داد که ارقام IR 68078-15-2-1-2-2-R و IR 65622-151-1-2-2-2-R احتمالا دارای ژن *Rf4* بودند و دورگ‌های آن‌ها نیز به صورت هتروزیگوت این ژن را بروز دادند و رقم IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R الگوی نواری مشابه الگوی نواری جلودار نشان داد (شکل ۳).

چندشکلی ایجاد شده با نشانگر RM 171 بین لاین نرعقیم ندا A و لاین شاهدIR 67924R و سه لاین والدینی IR 65622-151-1-2-2-2-R، IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R به‌همراه سه دورگ حاصل از تلاقی لاین‌های والدینی و ندا A نشان داد که رقم IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R الگوی نواری مشابه با الگوی نواری IR 67924R نشان داد (شکل ٤). در مطالعه Kiani, 2012 در اعتبار سنجی نشانگرهای SSR برای تشخیص ژن‌های برگرداننده باروری *Rf* در

ژنوتیپ‌های برنج، رقم ندا به عنوان نگهدارنده عقیمی گزارش شد.

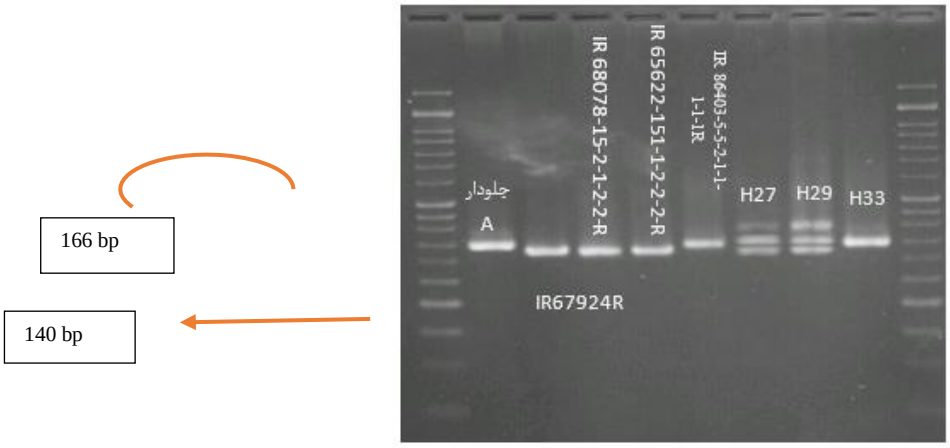

Fig. 3: Polymorphism created with RM 171 marker between front sterile male line A and control line IR 67924R and three parent lines IR 65622-151-1-2-2-2-R, IR 68078-15-2-1-2-2 -R, IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R with three hybrids obtained by crossing of parental lines and Jelodar A

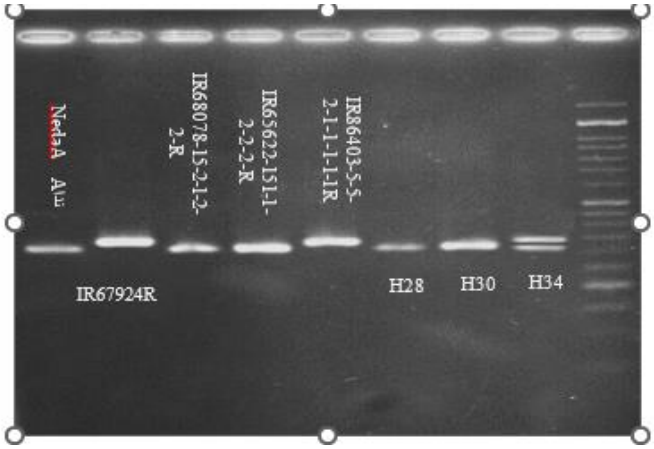

Fig. 4: Polymorphism of RM 171 marker between Neda A line and control line IR67924R and three parental lines IR 65622-151-1-2-2-2R, IR 68078-15-2-1-2- 2-R, IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R along with three hybrids resulting from crossing of parental lines and Neda A

۵. مقایسه میانگین صفات فیزیکی و شیمیایی دانه دورگ‌های گزینش‌شده برنج

نتایج مقایسه میانگین (جدول ٤) نشان داد که دورگ H27 بیشترین میزان راندمان تبدیل (٦٦/٥١) را داشت که البته دو شاهد نعمت و ندا نیز دارای راندمان تبدیل بالایی (٦٥/١٠ درصد و ٦٤/٨٢ درصد) بودند. شاهد فجر که به عنوان رقم شاهد کیفی در تجزیه فیزیکی و شیمیایی بکار رفت با ٥٤/٧٣ درصد راندمان تبدیل، جزء ارقام با راندمان تبدیل پایین در این مطالعه بود. بلندترین طول دانه قبل پخت (٨/١٦) مربوط به رقم شاهد نعمت بود و بلندترین طول دانه بعد پخت متعلق به دورگ‌های H33 (١٢/١٥) و H27 (١١/٠٧) بود و رقم مادری این دورگ‌های (جلودار = ١١/٠٧) نیز دارای طول دانه بلندی بود. البته دورگ H27 (٢/٤٥) کوتاه‌ترین عرض دانه قبل پخت را نیز داشت. بلندترین طول دانه بعد پخت (12/15 میلی‌متر) مربوط به دورگ H33 بود و دو رقم شاهد فجر و نعمت در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. دورگ H33 (٤/٦٤) بعد از فجر (٤/٧٠)، بیشترین میزان ری‌آمدن را نیز داشت. دورگ‌های H29 (٣/٣٣) و H27 (٣/٠٠) بیشترین میزان عطر را در بین دورگ‌ها انتخاب شده و ارقام والدینی و شاهد داشتند و جزء معطرترین دورگ‌ها ثبت شدند. رقم ندا به‌عنوان رقم شاهد در این مطالعه فاقد عطر(١/٠٠) بود. درجه حرارت ژلاتینی‌شدن دورگ‌ها از ٣/٣٨ تا ٥/٩٢ متغیر بود که مقدار آن‌ها از ارقام شاهد فجر (GT=٦/٧٥) و نعمت (GT=٦/٥٠) کمتر بود. میزان آمیلوز دورگ‌های H30، H33 و H27 بین ١٩/٢٦ تا ٢٢/٩٦ متغیر بود که این دورگ‌ها از نظر آمیلوز در گروه رقم فجر قرار گرفتند. Ramezanpour *et al*., 2013 بیان کردند که لاین ٢٢٣ کیفیت بالایی داشته است و به دلیل میزان آمیلوز متوسط (٢٢/٢٨) و دمای ژالتینی ژلاتینی شدن متوسط

(نمره ٤/٦٣) بود و از نظر عطر با دورگ بهار۱ اختلاف معنی‌داری نداشت.

دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر (شکل ٦) دورگ‌ها را به پنج گروه مجزا تقسیم بندی کرد که دورگ H33 به همراه رقم کیفی فجر در گروه اول قرار گرفتند. اینطور می‌توان بیان کرد که این دورگ با رقم کیفی فجر از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و مطلوبیت کیفی، تشابه داشتند و به عنوان بهترین دورگ کیفی شناخته شد. دورگ H28 و H30 به همراه رقم شاهد ندا در گروه دوم قرار گرفتند. والد مادری این دو دورگ رقم نرعقیم ندا بود و همچنین از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی نیز شبیه به والد خود بودند. رقم نعمت و جلودار به‌همراه دورگ‌های H34 و H29 در گروه سوم و دو رقم والدینی IR 68078-15-2-1-2-2-R و IR 65622-151-1-2-2-R در گروه چهار و دورگ H27 و رقم والدینی IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R نیز در گروه پنجم از تجزیه کلاستر قرار گرفتند. در مطالعه Nematzadeh *et al*., 2014 گروه‌بندی براساس صفات زراعی و مورفولوژیکی اندازه‌گیری‌شده ارقام شاهد را به سه گروه تقسیم کرد. ارقام اصلاح شده کیفی شامل ارقام فجر و قائم در گروه اول، ارقام محلی شاهد در گروه دوم و ارقام اصلاح شده پرمحصول شامل ندا و نعمت در گروه سوم قرار گرفتند و طبق نمودار دندوگرام شباهت ژنتیکی بین دو رقم ندا و نعمت وجود داشت.

Table 5: The results of comparing the average physicochemical traits of the best selected hybrids of rice along with parental and control cultivars

Genotype code	Grain length before baking	Grain width before baking	Length after cooking	Elongatio
Jelodar	7.26 b	1.92 efg	11.07 de	3.81 bc
Neda	7.51 c	1.95 dg	10.83 ef	3.32 c
IR 68078-15-2-1-2-2-R	6.71 c	2.06 cd	10.53 f	3.82 bc
IR65622-151-1-2-2-2-R	6.65 c	1.91 fgh	11.26 cde	4.61 a
IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R	6.68 b	2.33 b	11.01 def	4.33 ab
H27	7.44 bc	2.45 a	11.07 de	3.63 bc
H28	7.10 b	2.03 cde	10.75 ef	3.64 bc
H29	7.22 b	1.80 h	10.84 ef	3.62 bc
H30	7.3 b	2.03 cf	11.45 bcd	4.15 ab
H33	7.51 b	1.96 dg	12.15 a	4.64 a
H34	7.42 b	2.09 c	11.66 abc	4.24 ab
Fajr (Control)	7.23 b	1.91 fgh	11.93 ab	4.70 a
Nemat (Control)	8.15 a	1.86 gh	11.93 ab	3.78 bc

In each column, the averages that have at least one letter in common are not significantly different based on Duncan's multiple range test at the five percent probability level. *: These traits are rank type and group comparisons were not done

Table 5: continued The results of comparing the average physicochemical traits of the best selected hybrids of rice along with parental and control cultivars

Genotype code	Elongatio	The aroma of rice	Milling rate	Amylose content
Jelodar	3.81 bc	2.00	61.76d	24.50
Neda	3.32 c	1.00	64.82b	23.90
IR 68078-15-2-1-2-2-R	3.82 bc	2.00	48.54h	26.06
IR65622-151-1-2-2-2-R	4.61 a	2.67	47.32i	27.86
IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R	4.33 ab	2.00	62.96c	25.57
H27	3.63 bc	3.00	66.51a	22.96
H28	3.64 bc	1.00	58.95d	24.02
H29	3.62 bc	3.33	61.75 d	23.68
H30	4.15 ab	1.67	64.62b	19.26
H33	4.64 a	2.00	63.50c	20.67
H34	4.24 ab	2.00	57.10 f	27.18
Fajr (Control)	4.70 a	2.00	54.73 g	20.07
Nemat (Control)	3.78 bc	2.00	65.1 b	25.37

In each column, the averages that have at least one letter in common are not significantly different based on Duncan's multiple range test at the five percent probability level. *: These traits are rank type and group comparisons were not done

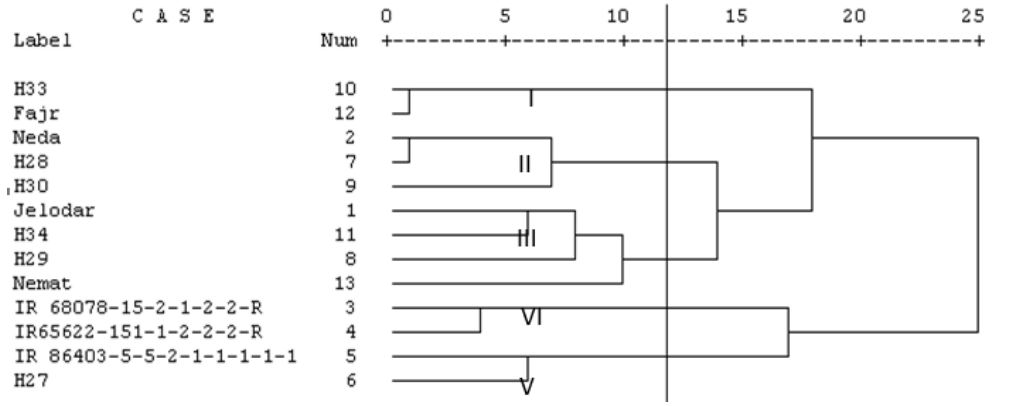

Fig. 6: Dendrogram resulting from cluster analysis of physicochemical traits of selected superior rice hybrids (Cophentic coefficient: 0.91)

٦. نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه حاکی از آن است که از میان ژنوتیپ‌های برنج، بهترین برگرداننده باروری با ویژگی‌های زراعی مطلوب شامل سه لاین IR 8640-3-5-5-2-1-1-1-1-1R، IR 65622-151-1-2-2-2R و IR 68078-15-2-1-2-2-R بودند که به دلیل داشتن تعداد پنجه بارور، تعداد خوشه بارور، وزن هزاردانه و باروری بالای خوشه انتخاب شدند. بیشترین میزان عملکرد دورگ‌ها به‌ترتیب مربوط به H33 (٧١٦٣/٧)، H30 (١١٩٤٤/٤)، H29 (٨٧٠١/٣))، H28 (٩٠٤٤/٣) و H27 (٩٦٤٧/٥) بودند که به دلیل بیشترین تعداد پنجه بارور، تعداد خوشه بارور، وزن هزاردانه و باروری بالای خوشه انتخاب شدند و سرانجام این دورگ‌ها به همراه والدینشان برای ارزیابی خصوصیات کیفی انتخاب شدند. نتایج حاصل از نشانگر RM 3148 برای دورگ‌های حاصل از تلاقی ارقام پدری IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 65622-151-1-2-2-2R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R با لاین نرعقیم جلودار A نشان داد که ارقام پدری الگوی نواری مشابه شاهد برگرداننده باروری داشتند ودورگ‌های حاصل (H27، H29 و H33) از تلاقی (IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R/ Jelodar ,IR 65622-151-1-2-2-2R/Jelodar IR 68078-15-2-1-2-2-R/Jelodar 2) نیز دارای هر دو الگوی نواری یعنی هتروزیگوت بودند و براساس این نشانگر احتمالا دارای ژن *Rf3rf3* بودند. نتایج مربوط به نشانگر RM 171 نشان داد که ژنوتیپ‌های IR 68078-15-2-1-2-2R و IR 65622-151-1-2-2-2R دارای ژن *Rf4* بودند و دورگ‌های آن‌ها نیز به‌صورت هتروزیگوت این ژن را بروز دادند. بهترین رقم برگرداننده باروری برای نرعقیم ندا A لاین IR 65622-15-1-1-2-2-2-R، برای نرعقیم جلودار A لاین‌های IR 68078-15-2-1-2-2-R، IR 86403-5-5-2-1-1-1-1-1R بودند. از نتایج این تحقیق می‌توان در برنامه تولید برنج دورگ استفاده کرد. نتایج مقایسه میانگین صفات فیزیکی و شیمیایی دورگ‌های انتخاب شده برنج به‌همراه ارقام والدینی و شاهد نشان داد که دورگ H27 (٦٦/٥١) بیشترین میزان راندمان تبدیل را داشت. از بین ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ‌های H27 (٣/٠٠) و H29 (٣/٣٣) بیشترین میزان عطر را داشتند و ژنوتیپ H27 علاوه بر عملکرد قابل‌قبول، دارای عطر و طعم بالایی نیز بود.

لاین‌های نرعقیم ایرانی نظیر جلودار A و ندا A در این مطالعه بیشترین هتروزیس و عملکرد را با لاین‌های برگرداننده باروری خارجی شامل H27، H28، H29، H30، H33، H34 داشتند و دورگ‌هایی نظیر H10 (٦/٦٧) و H21 (٥٥/٤١) کمترین عملکرد را داشتند لذا این لاین‌های نابارور، برگرداننده باروری مناسبی برای لاین‌های نرعقیم نبودند.از جمله نقاط قوت این مطالعه را می‌توان به شناسایی ژنوتیپ‌های برتر اشاره کرد که نتایج به‌وضوح نشان داد کدام لاین‌ها بهترین ویژگی‌های زراعی را دارند، که می‌تواند به انتخاب مؤثر در برنامه‌های اصلاح نژاد کمک کند و استفاده از نشانگرهای مولکولی شامل (نشانگرهای RM 3148 و RM 171) برای شناسایی ژنوتیپ‌ها و تعیین ژن‌های مربوط به باروری، اعتبار علمی بالایی به مطالعه می‌بخشد و عملکرد بالای دورگ‌های شناسایی‌شده می‌تواند به افزایش تولید برنج کمک کند. همچنین ارزیابی خصوصیات کیفی در نتایج نشان می‌دهد توجه به کیفیت محصول (عطر و طعم) در کنار عملکرد برای

بازار مصرف مهم است و بنابراین ادامه مراحل بعدی تحقیق و تولید ارقام جدید، نشان‌دهنده یک رویکرد جامع و آینده‌نگر برای کشور هست.

از نقاط ضعف این مطالعه شامل محدودیت در تنوع ژنوتیپ‌ها است. عدم مقایسه کافی با سایر مطالعات که به دلیل در اختیار نبودن تحقیقات مشابه بوده است و نیاز به تأیید نتایج در شرایط مختلف دارد تا نتایج در شرایط مختلف زراعی و اقلیمی تأیید شود تا قابلیت تعمیم آن‌ها افزایش یابد. در این مطالعه، پیشنهاد می‌شود. ابتدا لاین‌های برگرداننده باروری با استفاده از سایر نشانگرهای مولکولی نیز شناسایی شوند، سپس لاین‌های نرعقیم از طریق تلاقی‌های برگشتی با F_1 های دارای عقیمی کامل که در این تحقیق شناسایی شدند، تولید شوند. همچنین، بهترین دورگ‌های شناسایی شده در این مطالعه ثبت و معرفی و در نهایت، ارقام جدید از طریق خالص‌سازی نسل‌های پیشرفته تلاقی‌های مطلوب A×R تولید شوند.

۷. منابع

Azeez, M. and Shafi, M. (1966). Quality in rice. *West Pakistan Technical Bulletin, 13*, 50.

Baloch Zahi, A., Kiani, G. Bagheri, N. (2015). Identification of suitable parents for production of hybrid rice varieties through evaluation of combining ability and heterosis *Applied Agricultural Research, 28*(4), 140-148.[In persion].

Borges, A., Rosa, M. S., Recchia, G. H., Queiroz-Silva, J. R. D., Bressan, E. D. A. and Veasey, E. A. (2009). CTAB methods for DNA extraction of sweetpotato for microsatellite analysis. *Scientia Agricola, 66*, 529-534.

Chen, L., Bian, J., Shi, S., Yu, J., Khanzada, H., Wassan, G. M., Peng, X., Zhu, Ch., Luo, X., Tong, Sh., Yang, X., Yong, SH., Yu, Q. and Fu, H. (2018). Genetic analysis for the grain number heterosis of a super-hybrid rice WFYT025 combination using RNA-Seq. *Rice, 11*(1): 37.

Chen, F. Y., Yuan, Q., Li, Z. He, S. (2007). Proteomic analysis of rice plasma membrane reveals proteins involved in early defense response to bacterial blight. *Proteomics, 7*(9), 1529-1539.

De la Cruz, N., Kumar, I., Kaushik, R. P.and Khush, G. S. (1989). Effect of temperature during grain development on stability of cooking quality component in rice. *Japanese Journal of Breeding, 39*, 299-306.

Doyle, J. J.and Doyle, J. L. A. (1987). Rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin, 19*, 11-15.

Eidi Kohnaki, M., Kiani, G. and Nematzadeh, G. A. (2015). Morphological and molecular selection of fertility restorer gene(s) in segregating populations of rice. *The Plant Production (Scientific Journal of Agriculture), 38*(2), 89 -98. [In Persian].

Ferreira, A. R., Oliveira, J., Pathania, S., Almeida, A. S. and Brites, C. (2017). Rice quality profiling to classify germplasm in breeding programs. *Journal of Cereal Science, 76*, 17-27. gene in inbred parental lines.

Ghareyazie, B. (1997). The application of DNA markers in plant breeding. In *Proceedings of the Fourth Congress on Agriculture and Plant Breeding* (pp. 162-200). Isfahan University of Technology. [In Persian].

Govindaraj, M., Vetriventhan, M. and Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International, 2015*, 431487.

Govindaraj, M., Vetriventhan, M.and Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: An overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International.*

Hui, S., Li, H., Mawia, A. M., Zhou, L., Cai, J., Ahmad, S. and Hu, P. (2022)**.** Production of aromatic three-line hybrid rice using novel alleles of BADH2. *Plant biotechnology journal, 20*(1), 59-74.

International Rice Research Institute (IRRI). (2013). *Standard Evaluation System for rice* (5th ed.). (p. 65). International Rice Research Institute.

Juliano, B. O. and Villareal, C. P. (1993). *Grain quality evaluation of world rices*. International Rice Research Institute.

Juliano, B. O. (1971). Rice*: Chemistry and Technology*. The American Association of Cereal Chemists, Inc.

Kiani, G. (2015). Identification of cultivars that restore and maintain fertility in rice using SSR markers. *Plant Products (Scientific Journal of Agriculture), 40*(1), 81-87.

Kiani, G. (2018). Identification of fertility restoring and maintenance cultivars in rice using SSR marker. *Journal of Plant Production, 40*(1):.81-86. [In Persian]. https://doi.org/10.22055/ppd.2016.12363.

Kiani, G. (2012). Character association and path coefficient analysis of yieldcomponents in rice varieties. *Research on Crops, 13*(2), 552-555

Kiani, G. (2017). Identification of restoring fertility and maintainer rice varieties using SSR marker. *The Plant Production. Scientific Journal of Agriculture, 40*(1), 81-87.

Krishnalatha, S. and Sharma, D. (2012). Identification of maintainers and restorers for WA and Kalinga sources of CMS lines in rice (*Oryza sativa* L.). *Electronic Journal of Plant Breeding, 3*(4), 949-951.

Little, R., Hilder, G. B., Dawson, E. H. and Elsie, H. (1958). Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. *Cereal Chemistry, 35*, 111-126.

Mohtashami, R., Nematzadeh, G. A., Asadi, M. T. and Tavasoli Larijani, F. (1998). Determination of rice quality traits and analysis of genotypic and phenotypic correlation coefficients of these quality traits using path analysis. *In Abstracts of the Fifth Iranian Congress of Crop Science and Plant Breeding*. Karaj, Iran. [In Persian].

Nematzadeh, G. A. .and Kiani, G. (2010). Genetic analysis of fertility restoration genes for WAtype cytoplasmic male sterility in Iranian restorer rice line DN-33-18. *African Journal of Biotechnology*, 9(38), 6273-6277.

Nematzadeh, G. A. and Kiani, G. (2012). Tagging of fertility-restoring genes in Iranian restorer rice promising line DN-33-18. *Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, *94*, 95-103. [In Persian].

Nematzadeh, G. A., Oladi, M., Kiani, G. and Hajipour, A. (2011). Modification and introducing a new variety of upright rice in the classic way. *Research Paper on Plant Breeding*, **(3)**7, 44-52. [In Persian].

Nematzadeh, G. A. and Kiani, G. H. (2013). Genetic diversity of fertility restoring lines in rice based on morphological characteristics. *Agronomy Journal* (*Pajouhesh and Sazandegi)*, *26*(2), 122-130. [In Persian].

Nematzadeh, G. A., Huang, N. and Khush, G. S. (2004). Mapping the gene for aroma in rice (*Oryza sativa* L.) by bulk segregant analysis via RAPD markers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *6*(3), 131-138.

Nematzadeh, G. A., Jauhar, A. A., 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. [In Persian].

Nematzadeh, G. A., Oladi, M., Hashemi, R., Afkhami, A. and Rezaei, M. (2014). Screening of rice promising lines from multiple cross using agro-morphological traits. *Iranian Journal of Plant Breeding and Seed Science*, *6*(14), 15-26. [In Persian].

Nematzadeh, G. A., Oladi, M., Kiani, G. and Hajipour, A. (2011). Modification and introducing a new variety of upright rice in the classic way. *Research in Plant Breeding, 3*(7), 44-52. [In Persian].

Oladi, M., Emami, M. and Gholizadeh, A. (2017). Technical instructions of rice quality control laboratory.

Oladi, M., Nematzadeh, G. A. and Afkhami, A. (2014). Analysis of the physicochemical properties and grain yield of some rice promising lines from multiple crosses. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2*(2), 769-774. [In Persian].

Pervaiz, Z. H., Rabbani, M. A., Khaliq, I., Pearce, S. R. and Malik, S. A. (2010). Genetic diversity associated with agronomic traits using microsatellite markers in Pakistani rice landraces. *Electronic Journal of Biotechnology, 13*(3), 4-5. [In Persian].

Pishnamazzadeh Emami, R., Ebadi, A. A., Mohebalipour, N., Nourafcan, H. and Ajali, J. (2020). Grouping rice recombinant inbred lines using cluster and principal component analysis methods. *Cereal Research, 10*(1), 1-17 [In Persian].

Rajendran, N., Mukherjee, L., Reddy, K. K. and Shashidhar, H. E. (2012). DNA fingerprinting and estimation of genetic diversity among hybrid rice parental lines (*Oryza sativa* L.) using simple sequence repeats (SSR) markers. *Journal of Plant Breeding and Crop Science, 4*(11), 169-174.

Ramezanpour, A., Pirdashti, H., Abdollahi Mobarhan, S. and Bahari Saravi, S. H. (2013). Investigation of the quality traits and their relationship with grain yield in promising lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 26*(3), 8-16. [In Persian].

Revathi, S. and Arumugam Pilai, M. (2016). In vitro screening for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). *Electronic Journal of Plant Breeding, 7*(2), 91-95.

Sheeba, N. K., Viraktamath, B. C., Sivaramakrishnan, S., Gangashetti, M., Gangshetti, M. G., Khera, P. and Sundaram, R. M. (2009). Validation of molecular marker linked to fertility restorer gene(s) for WA-CMS lines of rice. *Euphytica, 167*, 217-227.

Singh, R. K., Sharma, R. K., Singh, A. K., Singh, V. P., Singh, N. K., Tiwari, S. P. and Mohapatra, T. (2004). Suitability of mapped sequence tagged microsatellite site markers for establishing distinctness, uniformity and stability in aromatic rice. *Euphytica, 139*(2), 135-143.

Sood, B. C. and Siddiq, E. A. (1978). A rapid technique for scent determinations in rice. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, *38*, 268-271.

Stromberg, L. D., Dudley, J. W. and Rufener, G. K. (1994). Comparing conventional early generation selection with molecular marker assisted selection in maize. *Crop Science*, 34(5), 1221-1225.

Satheeshkumar, P., Saravanan, K. and Sabesan, T. (2016). Studies on heterobeltiosis and standard heterosis for yield and yield component traits in rice (*Oryza sativa* L.) grown in irrigated saline low land of Tamilnadu, India. *Plant Archives*, 16(2), 642-646.

Takita, T. (1995). Development of a super high yielding *japonica/indica* hybrid.*Sci*, 14, 274.

Tiruneh, A., Gebrselassie, W. and Tesfaye, A. (2019). Genetic diversity study on upland rice (*Oryza sativa* L.) genotypes based on morphological traits in Southwestern Ethiopia. *Asian Journal of Crop Science, 11*(1), 17-24.

Vojdan, R. (2014). *Investigating fertility restoring genes in promising rice mutant lines through quantitative and molecular traits (SSR)*. Master's thesis, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources. [In Persian].

Xu, Y. (2010). *Molecular plant breeding*. CABI.

Zhou, H., He, M., Li, J., Chen, L., Huang, Z., Zheng, S. and Zhuang, C. (2016). Development of commercial thermos sensitive genic male sterile Rrice accelerates hybrid rice breeding using the CRISPR/Cas9-mediated TMS5 editing system. *Scientific Reports, 6*(1), 1-12.

Wang, C., Wang, Z., Cai, Y., Zhu, Z., Yu, D., Hong, L. and Han, B. (2024). A higher-yield hybrid rice is achieved by assimilating a dominant heterotic gene in inbred parental lines. *Plant Biotechnology Journal*, *22*(6), 1669-1680.

Wang, H. and Deng, X. W. (2018). Development of the third-generation hybrid rice in China. Genomics, *Proteomics & Bioinformatics, 16*(6), 393-396.