

Genetic and phenotypic screening of rice genotypes using a functional marker linked to the *SCM2* gene

Smaeil Talebi Kouyakh¹, Bahram Maleki Zanjani¹, Mostafa Modarresi^{*2}, Alireza Tarang²

1. Department of Production and Plant Genrtic, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

*Corresponding Author Email: m.modaresi@areeo.ac.ir

Abstract

Introduction: With the rapid growth of the global population and the increasing constraints on water and soil resources, achieving sustainable food security-particularly for strategic crops such as rice has emerged as one of the major challenges in agricultural development. Stem lodging is a critical limiting factor affecting grain yield and quality in many local and improved rice cultivars, significantly reducing harvest efficiency and yield loss. Enhancing culm diameter represents one of the most effective genetic strategies for improving lodging resistance, and the identification of genes and alleles influencing this trait can play a pivotal role in enhancing breeding efficiency. In this context, the STRONG CULM2 (*SCM2*) gene has attracted considerable attention due to its pleiotropic effects on increasing culm diameter, spikelet number, and lodging resistance. The objective of this study was to identify and classify rice genotypes based on the presence or absence of the *SCM2* allele and to evaluate the efficiency of a functional molecular marker associated with this gene for screening genotypes for culm diameter.

Materials and Methods: For this purpose, 50 rice genotypes, including local, improved, and imported cultivars from the rice germplasm collection of the Rice Research Institute of Iran, were evaluated in a randomized complete block design with three replications under field conditions in 2021-2022 growing season. Culm diameter was measured 20 days after the onset of flowering at the fourth internode. For molecular evaluation, genomic DNA was extracted from young leaves, and genotypes were screened using a specific functional marker linked to the *SCM2* gene. Molecular data were scored based on the presence or absence of the relevant gene allele, and independent t test, cluster analysis, and mean comparison were applied to analyze the association between phenotypic and molecular data.

Results: The results showed that the *SCM2* molecular marker effectively segregated the studied genotypes into two distinct groups: Genotypes carrying *SCM2* gene allele, which had a larger culm diameter, and genotypes lacking the *SCM2* allele, which had a smaller culm diameter. Of the 50 genotypes, 31 possessed the *SCM2* allele, while 19 did not. Phenotypic evaluations showed strong consistency with molecular data, and independent t test analysis confirmed a positive and significant relationship between the presence of the *SCM2* allele and increased culm diameter, with the statistical model showing over 95% prediction accuracy, indicating the marker's appropriate precision and efficiency. Additionally, the dendrogram derived from cluster analysis revealed a strong correlation between allele presence and culm diameter, with genotypes clustering logically according to allelic status and phenotypic values.

Conclusion: Overall, the results demonstrate that the *SCM2* functional marker is a precise, efficient, and reliable tool for the rapid screening of rice genotypes for culm diameter. Its integration into breeding programs can accelerate the identification of superior genotypes, reduce time and costs associated with breeding, and enhance selection efficiency in early generations, thereby contributing significantly to the development of high-yielding, lodging-resistant cultivars through advanced breeding techniques.

Keywords: Rice Culm Lodging, Screening, Culm Diameter, Molecular Marker

Received: 08-12-2025

Accepted: 01-02-2026

Citation: Talebi Kouyakh, S., Maleki Zanjani, B., Modarresi, M., & Bagheri, A. (2025). Evaluation of some rice hybrids improved of cytoplasmic genetic male sterility for agronomic and physicochemical traits. *Plant Production and Genetics*, 6(2), 175-188. <https://doi.org/10.22034/plant.2026.145069.1185>

Copyrights:

Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.



تولید و ژنتیک گیاهی

<https://doi.org/10.22034/plant.2026.145069.1185>

غربالگری ژنتیکی و فنوتیپی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از نشانگر عملکردی مرتبط با ژن *SCM2*

اسمعیل طالبی کویخی^۱، بهرام ملکی زنجانی^۱، مصطفی مدرسی^{۲*}، علیرضا ترنگ^۲

۱. گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲. موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی، رشت، ایران

*ایمیل نویسنده مسئول: m.modaresi@areeo.ac.ir

چکیده

مقدمه: با افزایش جمعیت جهانی و محدودیت روز افزون منابع آب و خاک، تأمین پایدار غذا به‌ویژه در مورد محصولات راهبردی نظیر برنج، به یکی از چالش‌های اساسی توسعه کشاورزی تبدیل شده است. خوابیدگی ساقه از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد و کیفیت دانه در بسیاری از ارقام محلی و اصلاح‌شده برنج محسوب می‌شود و نقش تعیین‌کننده‌ای در کاهش کارایی برداشت و افت عملکرد دارد. افزایش قطر ساقه به‌عنوان یکی از مؤثرترین راهکارهای ژنتیکی برای افزایش مقاومت به خوابیدگی شناخته می‌شود و شناسایی ژن‌ها و آلل‌های مؤثر بر این صفت، می‌تواند نقش مهمی در بهبود کارایی برنامه‌های به‌نژادی ایفا کند. در این راستا، ژن *SCM2* (*STRONG CULM2*) به‌دلیل اثرات پلیوتروپیک خود بر افزایش قطر ساقه، تعداد سنبلچه‌ها و مقاومت به خوابیدگی، به‌عنوان یکی از ژن‌های کلیدی مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این پژوهش، شناسایی و تفکیک ژنوتیپ‌های برنج براساس حضور یا عدم حضور آلل مطلوب ژن *SCM2* و بررسی کارایی نشانگر مولکولی عملکردی مرتبط با این ژن در غربالگری ژنوتیپ‌ها برای صفت قطر ساقه بود.

مواد و روش‌ها: بدین منظور، ۵۰ ژنوتیپ برنج شامل ژنوتیپ‌های محلی، اصلاح‌شده و وارداتی از کلکسیون مؤسسه تحقیقات برنج کشور در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در شرایط مزرعه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. اندازه‌گیری قطر ساقه ۲۰ روز پس از آغاز گلدهی و در میانگرمه چهارم انجام شد. به‌منظور ارزیابی مولکولی، DNA ژنومی از برگ‌های جوان استخراج و غربالگری ژنوتیپ‌ها با استفاده از یک نشانگر عملکردی اختصاصی مرتبط با ژن *SCM2* انجام گرفت. داده‌های مولکولی به‌صورت حضور یا عدم حضور آلل ژن مربوطه، امتیازدهی شدند و برای تحلیل ارتباط بین داده‌های فنوتیپی و مولکولی از آزمون t مستقل، تجزیه کلاستر و مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج: نتایج نشان داد که نشانگر مولکولی *SCM2* توانست ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را به‌طور واضح به دو گروه شامل ژنوتیپ‌های واجد آلل ژن *SCM2* با قطر ساقه بیشتر و ژنوتیپ‌های فاقد *SCM2* با قطر ساقه کمتر تفکیک نماید. از مجموع ۵۰ ژنوتیپ، ۳۱ ژنوتیپ دارای آلل *SCM2* و ۱۹ ژنوتیپ فاقد این آلل بودند. نتایج ارزیابی فنوتیپی با داده‌های مولکولی همخوانی بالایی داشت و تحلیل آزمون t مستقل وجود رابطه مثبت و معنی‌دار بین حضور آلل ژن *SCM2* و افزایش قطر ساقه را تأیید کرد، به‌طوری‌که مدل آماری با درصد صحت پیش‌بینی بیش از ۹۵ درصد، از دقت و کارایی مناسب نشانگر حکایت داشت. همچنین دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای، همبستگی معنی‌داری بین حضور آلل ژن و صفت قطر ساقه را نشان داد و ژنوتیپ‌ها به‌صورت منطبق با وضعیت آللی و مقادیر فنوتیپی در خوشه‌های مجزا قرار گرفتند. **نتیجه‌گیری:** در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که نشانگر مولکولی عملکردی *SCM2* ابزاری دقیق، کارآمد و قابل اعتماد برای غربالگری سریع ژنوتیپ‌های برنج از نظر صفت قطر ساقه است. استفاده از این نشانگر در برنامه‌های به‌نژادی می‌تواند با تسریع فرآیند شناسایی ژنوتیپ‌های مطلوب، کاهش زمان و هزینه به‌نژادی و افزایش کارایی انتخاب در نسل‌های اولیه، نقش مؤثری در توسعه ارقام پرمحصول و مقاوم به خوابیدگی با استفاده از تکنیک‌های به‌نژادی سریع ایفا نماید.

کلید واژگان: خوابیدگی ساقه برنج، غربالگری، قطر ساقه، نشانگر مولکولی

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۱۷

منبع: طالبی کویخی، ا.، ملکی زنجانی، ب.، مدرسی، م.، و ترنگ، ع. (۱۴۰۴). غربالگری ژنتیکی و فنوتیپی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از نشانگر عملکردی مرتبط با ژن *SCM2* مجله تولید و ژنتیک گیاهی، ۶ (۲)، ۱۷۵-۱۸۸. <https://doi.org/10.22034/plant.2026.145069.1185>



مقدمه

با استناد به روند کنونی رشد جمعیت، پیش‌بینی می‌شود جمعیت جهان تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۹ میلیارد نفر برسد و در نتیجه، تقاضا برای غذا بیشتر خواهد شد و لزوم تسریع در افزایش تولید مواد غذایی را بیش از پیش آشکار می‌سازد (Rahman et al., 2016). در این مسیر، افزایش پایدار ظرفیت تولید غلات دانه‌ریز از جمله گندم، برنج و جو، یک ضرورت راهبردی برای تأمین امنیت غذایی جهان محسوب می‌شود (Sakuma & Schnurbusch., 2020). برای پاسخ به تقاضای رو به گسترش برنج در پی افزایش جمعیت، به‌کارگیری و توسعه تنوع ژنتیکی در فرآورده‌های به‌نژادی اجتناب‌ناپذیر است؛ امری که بر مدیریت پایدار و استفاده متوازن از منابع ژنتیکی استوار است (Rachana et al., 2019). عملکرد دانه به‌عنوان یک صفت کمی، تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی متعددی از جمله خصوصیات ژنتیکی هر ژنوتیپ و واکنش آن به عوامل محیطی قرار دارد (Zhao et al., 2021; Mohtashami et al., 2023). یکی از عوامل جلوگیری از نقصان عملکرد، قطر ساقه است (Zhao et al., 2021). در شرایط کنونی، با تشدید تغییرات اقلیمی، پدیده خوابیدگی (ورس) در گیاهان زراعی به یک معضل مهم و جدی در کشاورزی تبدیل شده است (Zhao et al., 2021). خوابیدگی (Lodging) از شایع‌ترین و متداول‌ترین عوامل تهدیدکننده است که به‌طور مستقیم بر بازدهی محصولات، کاهش کیفیت و عملکرد دانه و کارایی برداشت در برنج و سایر محصولات زراعی تأثیر منفی بر جای می‌گذارد (Zhao et al., 2021; Chigira et al., 2020). از سوی دیگر خوابیدگی یکی از چالش‌های اساسی در توسعه ارقام پرمحصول محسوب می‌شود (Zhao et al., 2021). یکی از علل اصلی خوابیدگی در برنج، شکستن میانگره‌های تحتانی ساقه، به‌ویژه میانگره چهارم است که منجر به خم‌شدن و افتادن افقی بخش فوقانی ساقه و خوشه می‌شود (Girija et al., 2017). میزان مقاومت و استحکام میانگره‌های پایینی ساقه، به‌همراه طول ساقه، از عوامل تعیین‌کننده در تمایل گیاه به خوابیدگی محسوب می‌شود (Girija et al., 2017). امروزه تمرکز تحقیقات متخصصان به‌نژادی برنج، بر توسعه ارقام نیمه‌بلند و پابلند با عملکرد

بالا است، اما چالش اصلی که در این مسیر نمایان می‌شود خوابیدگی می‌باشد (Yang et al., 2023). از جمله شاخص‌های مهم در به‌نژادی برنج برای گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به خوابیدگی، می‌توان به قطر و ضخامت ساقه، طول میانگره چهارم، استحکام ساقه، درصد خوابیدگی و مقاومت خمشی اشاره کرد. استحکام ساقه که یکی از معیارهای کلیدی در انتخاب ارقام مقاوم به خوابیدگی برنج است، مستقیماً تحت تأثیر قطر ساقه، عرض دیواره و تراکم مواد سازنده آن قرار دارد. در مجموع، عواملی همچون کاهش میزان خم‌شدن، افزایش قطر و استحکام ساقه و توسعه پوشش غلاف برگ بیشتر، موجب ایجاد مقاومت و تحمل یک وارسته در برابر خوابیدگی می‌شوند (Girija et al., 2017).

مقاومت در برابر خوابیدگی یک صفت کمی پیچیده است که حاصل برهم‌کنش عوامل زراعی و ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه می‌باشد (Yadav et al., 2017). به‌طور بالقوه بهبود مقاومت به خوابیدگی و مولفه‌های آن می‌تواند تأثیر معکوس بر افزایش عملکرد داشته باشد (Rashid et al., 2022). یک راه‌حل نویدبخش برای رفع این چالش، شناسایی آللهایی است که همزمان با افزایش مقاومت به خوابیدگی، فاقد اثرات منفی بر عملکرد هستند یا حتی اثر مثبت بر عملکرد دارند (Meng et al., 2021). ایکدا و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که ژن *APO1* سرعت تکثیر سلولی را در مریستم گل آذین تنظیم می‌کند (Ikeda et al., 2009). این آلل به‌طور موثری تعداد سنبلچه‌ها را افزایش و تعداد خوشه در هر گیاه را کاهش می‌دهد که نتیجه آن تأثیر منفی یا کاهش عملکرد است (Ookawa et al., 2010). ژن *SCM2* مشابه با ژن *APO1* می‌باشد. با این تفاوت که این ژن به‌دلیل جهشی که باعث درج ۹/۵ کیلو باز در ناحیه بالادست ژن *APO1* ایجاد شده شناسایی شد که آن ژنی بود که قبلاً برای کنترل ساختار خوشه گزارش شده بود (Ookawa et al., 2010). آلل ژن *SCM2* گزینه مناسب‌تری برای به‌نژادی گیاهی برنج محسوب می‌شود، چرا که برخلاف آلل *APO1*، تعداد سنبلچه‌ها را افزایش داده و در عین حال، تعداد خوشه‌ها را

را تسهیل کرده‌اند و بسیاری از ژن‌های ساختاری مکان‌های ژنی صفات کمی که در عملکرد برنج موثر هستند با این فناوری‌ها شناسایی شده‌اند (Ikeda et al., 2013).

اصلاح دقیق روشی در به‌نژادی گیاهان است که در آن صفت فنوتیپی مطلوب به‌صورت مستقیم و با بهره‌گیری از یک نشانگر عملکرد (Functional Markers) که منشا آن از ناحیه ژنومی پیوسته با ژن هدف بوده و از آن مشتق شده است شناسایی می‌شود (Conner., 2004). نشانگرهای عملکردی شناسایی و غربالگری مؤثر و سریع ژرم‌پلاسما را برای تنوع آلی با دقت زیاد امکان پذیر می‌کنند چرا که در معرض نوترکیبی قرار ندارند (Salgotra & Stewart Jr, 2020). با توجه به اینکه با برخی نشانگرهای تصادفی امکان شناسایی چندشکلی در ژن گیرنده وجود ندارد، نشانگرهای طراحی شده برای آلل‌های خاص ژنی، دقیق‌تر و مؤثرتر از نشانگرهای تصادفی اطراف ژن هدف عمل می‌کنند (Kim et al., 2016). نشانگرهای مولکولی عملکردی به‌دلیل عدم تأثیرپذیری از عوامل محیطی بر صفات، مستقیماً با تنوع تحت کنترل ژن‌ها مرتبط هستند و به‌طور مستقیم به تنوع حاصل از ژن‌ها می‌پردازند. این نشانگرها، به‌عنوان ابزار کارآمدی برای سنجش تنوع ژنتیکی، تشریح روابط ژنتیکی در داخل و بین گونه‌ها، شناسایی گوناگونی ژنتیکی و تسهیل بهره‌وری از منابع ژنتیکی گیاهی نقش دارند (Rachana et al., 2019). نشانگرهای عملکردی همواره بصورت اختصاصی با ژن‌های کنترل کننده صفات خاص مرتبط هستند (He & Park, 2015). چرا که در برنامه‌های به‌نژادی، انتخاب ارقام منحصر به فرد که حاوی صفت موردنظر در یک جمعیت در حال تفرق هستند بسیار مهم است. از آنجائیکه داده‌های مربوط به صفات دانه معمولاً پس از برداشت ثبت می‌شوند، منجر به از دست‌دادن یک فصل می‌شود. و اگر به‌نژادگران بتوانند آنرا به‌طور مؤثرتر در مراحل اولیه انتخاب کنند علاوه بر صرفه‌جویی در زمان و هزینه، سرعت برنامه اصلاحی نیز افزایش می‌یابد (He & Park, 2015). بنابراین بهتر است از نشانگرهای عملکردی استفاده کرد.

از مزیت‌های استفاده از نشانگرهای مولکولی نیاز به مقدار کم نمونه، تجزیه و تحلیل با دقت و صحت زیاد و شناسایی

حفظ کرده و کاهش نمی‌دهد (Ookawa et al., 2010). ژن *SCM2* که بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره شش برنج قرار دارد سبب افزایش قطر ساقه و در نتیجه افزایش تعداد سنبلچه‌ها به‌دلیل اثرات پلیوتروپیک این ژن می‌شود (Yadav et al., 2017; Ookawa et al., 2016; Ookawa et al., 2010; Hirano et al., 2017). علاوه بر این، ژن *SCM2* با تنظیم توسعه آوندی و اولین شاخه خوشه، بر عملکرد، شاخص برداشت و افزایش مقاومت به خوابیدگی تأثیر می‌گذارد (Terao et al., 2010). این ژن که در تنظیم قطر و مورفولوژی ساقه نقش دارد، این کار را با کدکردن پروتئین دومین جعبه‌اف (f BOX) انجام می‌دهد (Ookawa et al., 2010).

اصلاح سنتی برنج وابسته به استفاده‌ی گسترده از کودها و کشت ارقام نیمه‌پاکوتاه است (Girija et al., 2017). در روش‌های کلاسیک به‌منظور شناسایی تنوع ژنتیکی بین گروه‌های گیاهی، به خصوصیات مورفولوژیکی متکی بودند که این خصوصیات نیز متأثر از عوامل محیطی هستند (Rachana et al., 2019). اساس اصلاح گیاهان به روش سنتی انتخاب فنوتیپی ژنوتیپ‌های برتر است (Salgotra & Stewart Jr, 2020). معایبی همچون زمانبر و پر هزینه‌بودن اصلاح نباتات به شیوه سنتی و مرسوم همراه با کارایی پایین آن، موجب عدم امکان انتخاب گیاهان برتر در روش گسترش سریع نسل‌ها می‌شود (Lau et al., 2015). ارزیابی فنوتیپی مقاومت به خوابیدگی، مستلزم برآورد ظاهری، محاسبه اندازه‌گیری دیداری در لاین‌های اصلاحی و نیز بررسی تنوع ژنتیکی است که این تنوع در نسل‌های اولیه بسیار زیاد است (Merugumala et al., 2019). اصلاح ارقام جهت مقاومت به خوابیدگی با روش‌های معمول و متداول به‌دلیل ویژگی‌های ساختاری ساقه و عوامل آب و هوایی بسیار دشوار است. پس به‌ناچار در حال حاضر بهره‌گیری از روش‌های مولکولی تنها راهکار مؤثر در رفع این چالش می‌باشد (Merugumala et al., 2019). مهمترین مزیت روش‌های مولکولی سرعت و دقت آنها نسبت به سایر روش‌ها است (Liu et al., 2022). فناوری‌های نوین، شناسایی ژن‌های دخیل در صفات کمی

استفاده شد. (جدول ۱). بذور هر ژنوتیپ جداگانه و پس از ضدعفونی در تاریخ ۲۰ فروردین در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در خزانه مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات برنج کشور واقع در رشت (عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۳۶ دقیقه شرقی) بذرپاشی شده و نشاهای ۲۵ روزه به مزرعه تحقیقاتی و در شرایط کشت غرقابی منتقل گردید. فاصله بوته ها در مزرعه از یکدیگر ۲۰ در ۲۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. ابعاد کرت ها شش متر مربع (۳×۲) متر در نظر گرفته شد. نمونه های برگي مورد نیاز برای آزمایش های مولکولی، از برگ های جوان گیاهچه های دوهفته ای در مرحله رویشی تهیه و بلافاصله به فریزر با دمای ۸۰- درجه سلسیوس منتقل و نگهداری شدند. لازم به ذکر است که عنبربو و عنبربو ایلام دو لاین متفاوت هستند که اولی از خوزستان و دومی از ایلام جمع آوری شده اند و هر چند نام مشابهی دارند اما با هم متفاوت هستند. لاین ۷ و ۲۳ از لاین های قدیمی هستند که به همین صورت در کلکسیون موسسه تحقیقات برنج کشور ثبت شده اند و منشا آنها مشخص نیست. در مورد رقم برنج روشن که توسط دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری معرفی شده است، علی رغم شباهت ظاهری، خصوصیات کیفی ژنوتیپ موجود در کلکسیون موسسه با خصوصیات اعلام شده رقم اصلی متفاوت است، بنابراین جهت ایجاد تمایز حرف ام به انتهای نام این ژنوتیپ اضافه شد. لاین های ۲۱۷ - RI198-200 این ها لاین های اینبرد نو ترکیب حاصل از تلاقی گوهر/هاشمی/دم سیاه هستند.

بوته های مورد نظر در مرحله گیاهچه ای است (Cordeiro *et al.*, 2002). نشانگرهای عملکردی این قابلیت را دارند که در برنامه های اصلاح گیاهی، جهت ترکیب هدفمند آلل های مطلوب در ارقام هیبرید و اصلاح یافته مورد استفاده قرار گیرند (Lübberstedt *et al.*, 2005). در برنج تعدادی از نشانگرهای عملکردی برای صفاتی مثل کیفیت دانه، عملکرد دانه و مقاومت در برابر تنش بکار برده شده اند (Zhang *et al.*, 2020). نشانگر BADH2 یک نشانگر عملکردی است که بطور مستقیم برای تشخیص ژنوتیپ دارای آلل معطر از غیر معطر استفاده می شود (Bradbury *et al.*, 2005). نشانگر WX بطور مستقیم برای تمایز ژنوتیپ دارای آلل ژن آمیلوز کم بکار برده می شود (Tran *et al.*, 2011). یوسفی و همکاران (Yousefi *et al.*, 2023) در مطالعه ای با استفاده از نشانگرهای عملکردی مرتبط با صفت عطر در ارزیابی مولکولی تعدادی از ژنوتیپ های برنج نتیجه گرفتند که نشانگر مولکولی عملکردی Nksbad2 توانست ارقام معطر و غیر معطر را به خوبی از هم متمایز نماید. هدف این پژوهش شناسایی ژنوتیپ های حاوی آلل ژن *SCM2*، به منظور استفاده از آنها در برنامه های به نژادی گیاه برنج می باشد.

مواد و روش ها

برای اجرای آزمایش، از ۵۰ ژنوتیپ محلی، اصلاح شده و وارداتی برنج از کلکسیون مؤسسه تحقیقات برنج کشور

جدول ۱- مقایسه ی نتایج ارزیابی فنوتیپی و نشانگر مولکولی صفت استحکام ساقه ۲ در ژنوتیپ های برنج

ردیف	ژنوتیپ	تیپ	آلل ژن <i>SCM2</i>	قطر ساقه	تعداد دانه در خوشه	وزن هزاردانه
۱	آبجی بوجی	محلی	+	۵/۵۴	۱۳۰	۲۵
۲	اهلمی طارم ۱	محلی	+	۵/۵۶	۹۰	۲۷
۳	انام	اصلاح شده	-	۴/۶۸	۱۴۰	۲۶
۴	عنبربو	محلی	+	۶/۰۸	۱۲۰	۲۷
۵	عنبربو ایلام	محلی	+	۵/۷۸	۱۴۰	۲۴
۶	چمپا بودار	محلی	+	۶/۵۰	۱۸۰	۳۰
۷	دم سیاه	محلی	-	۵/۰۵	۱۴۰	۲۶
۸	درفک	اصلاح شده	-	۵/۱۴	۱۴۰	۲۶
۹	فجر	اصلاح شده	+	۵/۹۸	۱۶۰	۲۳
۱۰	فوجی مینوری	محلی	-	۵/۴۵	۱۲۵	۲۸
۱۱	قدسی	اصلاح شده	-	۴/۹۱	۱۳۰	۲۸
۱۲	گوهر	اصلاح شده	+	۵/۸۲	۲۰۵	۲۹
۱۳	حسن سرائی	محلی	-	۵/۲۲	۱۲۵	۲۵
۱۴	حسن سرائی آتشگاه	محلی	-	۴/۷۳	۱۱۰	۲۴

۱۵	IR64	اصلاح شده	-	۴/۴۱	۱۴۵	۲۴
۱۶	کادوس	اصلاح شده	+	۵/۹۸	۱۶۰	۲۶
۱۷	کشوری	اصلاح شده	+	۶/۵۸	۱۴۰	۲۷
۱۸	کوهسار	اصلاح شده	-	۴/۶۵	۱۱۰	۲۴
۱۹	Line 7	اصلاح شده	+	۶/۱۷	۱۳۴	۲۷/۷
۲۰	Line23	اصلاح شده	+	۵/۵۴	۱۱۵	۲۷
۲۱	محمدی چپرسر	محلی	-	۴/۶۹	۱۰۰	۳۰
۲۲	رش	اصلاح شده	+	۵/۶۰	۲۰۰	۲۶
۲۳	RI198-200	اصلاح شده	-	۵/۱۶	۱۸۰	۲۴
۲۴	RI198-201	اصلاح شده	+	۶/۰۱	۱۵۰	۲۴
۲۵	RI198-202	اصلاح شده	+	۶/۳۸	۱۰۵	۲۴
۲۶	RI198-203	اصلاح شده	+	۶/۰۱	۱۰۰	۲۷
۲۷	RI198-204	اصلاح شده	+	۵/۹۰	۱۳۲	۲۵
۲۸	RI198-205	اصلاح شده	+	۶/۰۱	۱۰۲/۵۸	۳۰
۲۹	RI198-206	اصلاح شده	-	۴/۷۰	۱۲۵	۲۴
۳۰	RI198-207	اصلاح شده	+	۶/۰۲	۱۵۰	۲۵
۳۱	RI198-208	اصلاح شده	-	۴/۶۰	۱۳۲	۲۴
۳۲	RI198-209	اصلاح شده	+	۵/۹۵	۱۳۰	۲۷
۳۳	RI198-210	اصلاح شده	-	۴/۶۲	۱۲۰	۲۵
۳۴	RI198-211	اصلاح شده	+	۵/۶۹	۱۶۰	۳۰
۳۵	RI198-212	اصلاح شده	-	۴/۳۲	۱۰۰	۲۷
۳۶	RI198-213	اصلاح شده	-	۴/۹۵	۱۲۰	۲۷
۳۷	RI198-214	اصلاح شده	+	۶/۱۸	۱۶۰	۱۹
۳۸	RI198-215	اصلاح شده	+	۵/۶۷	۱۴۵	۲۶
۳۹	RI198-216	اصلاح شده	+	۵/۹۸	۱۳۴	۲۷
۴۰	RI198-217	اصلاح شده	-	۴/۷۲	۱۳۰	۲۸
۴۱	روشن ام	اصلاح شده	+	۵/۹۹	۱۷۵	۲۵
۴۲	صالح	اصلاح شده	+	۵/۵۸	۱۵۰	۲۸
۴۳	سنگ طارم	محلی	-	۵/۱۶	۱۰۱	۲۵
۴۴	سپیدرود	اصلاح شده	+	۵/۹۷	۱۲۵	۲۵
۴۵	شفق	اصلاح شده	+	۶/۰۰	۱۴۰	۲۶
۴۶	شاه پسند	محلی	+	۵/۷۸	۱۱۵	۲۷
۴۷	T196	محلی	+	۶/۰۰	۱۰۲/۵۶	۲۹
۴۸	TH1	اصلاح شده	+	۵/۵۸	۱۳۰	۲۸
۴۹	Tisa	اصلاح شده	+	۵/۵۱	۲۰۰	۲۷
۵۰	زنیت	اصلاح شده	-	۴/۸۳	۱۳۵	۲۵/۵

توضیحات: + = وجود آل ژن SCM2 و - = عدم وجود آل ژن SCM2

به منظور انجام آزمون‌های مولکولی، استخراج DNA از نمونه‌های برگ‌ی جوان به روش CTAB انجام شد (Doyle, 1991). برای تعیین کیفیت DNA از نحوه تشکیل نواریا بر روی ژل آگارز ۰/۷ درصد در الکتروفورز به عنوان معیار استفاده گردید. همچنین از روش اسپکتروفتومتر نیز به عنوان روشی مکمل برای تعیین کیفیت و کمیت (غلظت) DNA، استفاده شد. برای جداسازی (غربالگری) نمونه‌ها با استفاده از نشانگرهای عملکردی، از یک جفت آغازگر وابسته به قطر ساقه SCM2 استفاده شد (جدول ۲).

اندازه‌گیری قطر ساقه با کولیس ورنیه، ۲۰ روز پس از آغاز گلدهی و در چهارمین میانگه (از بالا به پایین) انجام شد (Girija et al., 2017). در این پژوهش، به منظور کنترل تغییرات حاصلخیزی خاک، افزایش دقت و قدرت آماری، آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. چراکه با حذف تغییرات بین بلوک‌ها از خطای آزمایش، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها با حساسیت بیشتری شناسایی می‌شود. بنابراین بعد از اندازه‌گیری تعداد ۹ نمونه تصادفی ساقه از هر کرت، از میانگین اندازه قطر ساقه برای هر ژنوتیپ استفاده شد.

جدول ۲- توالی آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش

منبع	اندازه باندی مورد انتظار	دمای اتصال	توالی آغازگر	شماره کروموزوم	کد	نام ژن
Reference	Amplicon	Annealing Temp.	Primer Sequence Forward & Reverse 5' → 3'	Chromosome number	Code	Gene Name
(kim et al., 2016)	117	53	F-GAAATGATGAACACTGTCCAACA R-TTGGTTTGTCTCAGCTCTGATCT	6	AP003628.3	SCM2

Kiagene SYBR Safe DNA Gel Stain (Kiagenefanavar.iran) جهت مشاهده باندهای حاصل از الکتروفورز، استفاده گردید و با استفاده از دستگاه ژل داک، آشکارسازی باندهای حاصله زیر نور ماوراء بنفش انجام گرفت. برای اطمینان از صحت نتایج، آزمایش‌های مولکولی دو بار تکرار و حضور یا عدم حضور باندهای مرتبط با ژن‌ها به ترتیب با یک و صفر امتیازدهی گردید (جدول ۱). به منظور تعیین جایگاه اتصال آغازگر به DNA در فرآیند PCR و همچنین اندازه محصول PCR نسبت به دریافت (بارگیری یا دانلود) توالی AP003628.3 از سایت NCBI^۱ اقدام گردید. در این آزمایش آغازگرهای مورد استفاده برای آلل ژن SCM2، قطعه نهایی را با استفاده از PCR تکثیر نمودند. سپس آغازگرها را به ابتدا و انتهای توالی مورد نظر متصل نموده و توالی قطعه تولیدی به دست می‌آید (شکل ۱). دو قطعه را با هم هم‌ترازی (الاینمنت) کرده و پرایمرها هم به آن اضافه می‌شود که شکل گرافیکی آن به دست می‌آید (شکل ۲).

پس از تعیین غلظت، برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز PCR، نمونه‌های DNA رقیق و سپس واکنش مذکور با استفاده از آغازگرهای نشانگر عملکردی طراحی شده شامل ۴۰ نانوگرم DNA الگو، ۱۰ میلی‌مولار dNTPS، دو میلی‌مولار MgCl₂، ۰/۲ میکرومولار از هر یک از آغازگرها، بافر 1X PCR و یک واحد آنزیم TaqDNA پلیمرز در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه حرارتی در دستگاه ترموسایکلر شامل یک مرحله واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، سپس ۳۵ سیکل متوالی متشکل از یک دقیقه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، مرحله اتصال آغازگر ۵۴ درجه سانتیگراد، یک دقیقه مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد و در پایان یک مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، از ژل آگارز ۳ درصد و رنگ آمیزی با رنگ ایمن

PCR Products results

10-119 bp product from linear template Untitled.

TTGGTTTGTCTCAGCTCTGATCTGTTATTCTATGCATTTTTATTTTTATTTTTGCAC
ACGGCAGTGGTTGATTTTAAACAATTTGTTGGACAGTGTTCATCATTTTC

شکل ۱- توالی قطعه تولیدی با آغازگرها

Oryza sativa Indica Group cultivar Shuhui498 chromosome 6, partial sequence					
Sequence ID: CP018162.1 Length: 32465040 Number of Matches: 1					
Range 1: 28898885 to 28899003 GenBank Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match					
Score 143 bits(77)	Expect 9e-30	Identities 107/119(90%)	Gaps 12/119(10%)	Strand Plus/Plus	
Query 1	TTGGTTTGTCTCAGCTCTGATCTGTTATTCTATGC-----Atttttattttta				48
Sbjct 28898885	TTGGTTTGTCTCAGCTCTGATCTGTTATTCTATGCATTTTATTTTATTTTATTTT				28898944
Query 49	ttttttGCACACGGCAGTGGTTGATTTTAAACAATTTGTTGGACAGTGTTCATCATTTTC				107
Sbjct 28898945	TTTTTTGCACACGGCAGTGGTTGATTTTAAACAATTTGTTGGACAGTGTTCATCATTTTC				28899003

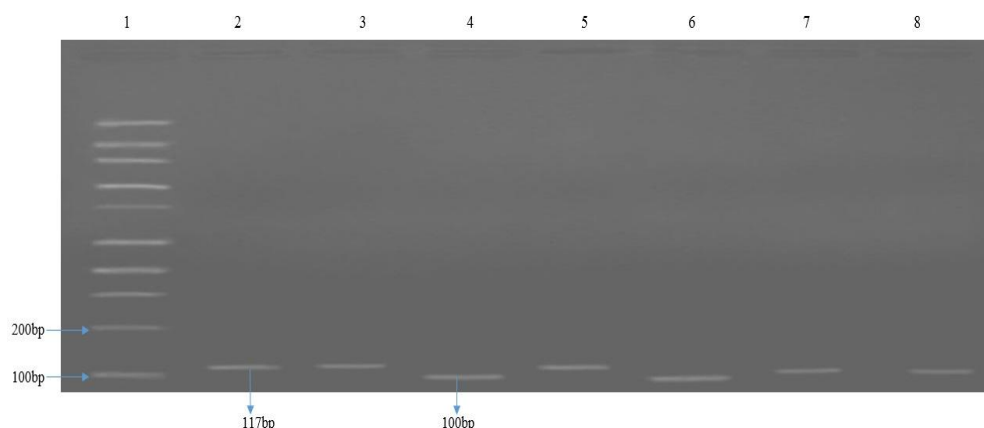
شکل ۲- شکل گرافیکی هم‌ترازی (Alignment) DNA (خطوط نقطه چین، قسمت حذف شده یکی از آلل‌ها می‌باشد)

^۱ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AP003628.3?report=fasta>

ژنوتیپ‌ها بر اساس داده‌های فنوتیپی قطر ساقه، از مدل‌های آماری مکمل شامل تجزیه و تحلیل خوشه‌ای سلسله مراتبی (Hierarchical Cluster Analysis) با روش Ward و فاصله مربع اقلیدسی برای نمایش گرافیکی تفکیک ژنوتیپ‌ها به دو گروه اصلی در دندروگرام و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای استفاده شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق، در طی الکتروفورز محصول PCR، در ژنوتیپ‌های دارای آلل قطر ساقه قطعه‌ای با اندازه حدود ۱۱۷ جفت باز و در ژنوتیپ‌های فاقد آلل قطر ساقه قطعه‌ای ۱۰۰ جفت باز تولید گردید (شکل ۳).



شکل ۳- الکتروفورز محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای نشانگر *SCM2* در ژل آگارز ۳ درصد در ژنوتیپ‌های به ترتیب:

۱. لادر، ۲. چمپاودار، ۳. عنبربو، ۴. درفک، ۵. گوهر، ۶. حسن سرائی آتشگاه، ۷. کشوری و ۸. سپیدرود

عملکردی *SCM2* را در برنامه‌های غربالگری و بهنژادی برنج به وضوح تأیید می‌کند. علاوه بر این نتایج آزمون *t* مستقل نشان داد که تفاوت میانگین قطر ساقه بین دو گروه بسیار معنی‌دار است ($p < 0.001$) و گروه دارای آلل، میانگین بالاتری دارد (جدول ۳). به عنوان مثال ژنوتیپ کشوری واجد آلل این ژن و قطر ساقه ۶/۵۸ و ژنوتیپ حسن سرائی آتشگاه فاقد آلل این ژن بوده که قطر ساقه در آن ۴/۷۳ است (جدول ۱). با توجه به همخوانی کامل نتایج مولکولی و فنوتیپی (جدول ۱ و ۳)، دقت نشانگر *SCM2* بیش از ۹۵٪ است.

محاسبات آماری این مطالعه با استفاده از نسخه ۲۶ نرم‌افزار IBM SPSS statistics و نسخه ۲۰۱۹ نرم‌افزار Microsoft Excel انجام شده است. جهت آنالیز آماری و تحلیل داده‌های صفت قطر ساقه از آزمون *t* مستقل (Independent Samples *t*-test) در SPSS برای مقایسه میانگین قطر ساقه بین دو گروه ژنوتیپ‌های دارای آلل *SCM2* و فاقد آن استفاده شد. این آزمون مستقیماً تفاوت میانگین بین دو گروه مستقل را بررسی می‌کند و با توجه به طرح بلوک‌های کامل تصادفی، فرض استقلال رعایت شده است. در این محاسبات اندازه قطر ساقه به عنوان متغیر وابسته پیوسته و وجود یا عدم وجود آلل ژن *SCM2* به عنوان متغیر مستقل دو سطحی در نظر گرفته شد. همچنین جهت گروه‌بندی

ژنوتیپ‌ها بر همین اساس به دو دسته، با قطر ساقه بیشتر و با قطر ساقه کمتر تقسیم‌بندی شدند. نتایج ارزیابی فنوتیپی نیز داده‌های ارزیابی مولکولی را تأیید کرد. از ۵۰ ژنوتیپ مورد مطالعه، ۳۱ ژنوتیپ واجد آلل ژن *SCM2* و ۱۹ ژنوتیپ فاقد آلل این ژن بودند. همچنین نشانگر *SCM2* توانست ارقام دارای آلل ژن قطر ساقه و ارقام فاقد آلل قطر ساقه را به خوبی از هم متمایز نماید. بر این اساس می‌توان اظهار داشت که از نشانگر اختصاصی عملکردی در برنامه اصلاحی برای گزینش غیر مستقیم می‌توان استفاده کرد (جدول ۱). نتایج حاصل از این پژوهش، کاربرد عملی و اثر بخشی نشانگر

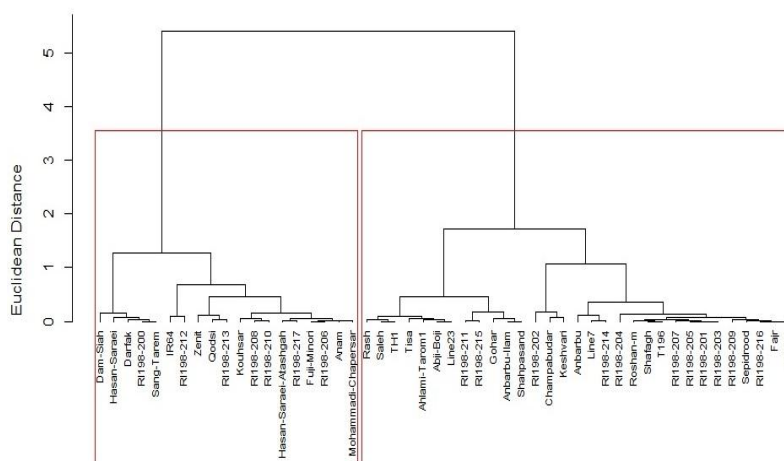
جدول ۳- نتایج آزمون t مستقل برای مقایسه میانگین قطر ساقه

گروه آماری	تعداد	میانگین	انحراف استاندارد	میانگین اشتباه استاندارد
دارای آلل <i>SCM2</i> (۱)	۳۱	۵/۷۴۰	۰/۳۴۶	۰/۰۶۲
فاقد آلل <i>SCM2</i> (۰)	۱۹	۴/۸۲۰	۰/۲۹۲	۰/۰۶۷
متغیر	درجه آزادی	معنی داری P- Value	اختلاف میانگین (۹۵٪ فاصله اطمینان)	
قطر ساقه	۴۸	$p < ۰/۰۰۱$	۰/۷۲۸ - ۱/۱۱۲	

نشان‌دهنده تاثیر متغیر مستقل بر متغیر وابسته و معناداری مدل است.

دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر با استفاده از فاصله مربع اقلیدسی (شکل ۴) نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در آزمایش در دو گروه مجزا از هم تفکیک شدند، یعنی خوشه ژنوتیپ‌های با قطر ساقه بیشتر و آلل مثبت و خوشه ژنوتیپ‌های با قطر ساقه کمتر و آلل منفی، به‌طوری که در گروه اول و دوم به ترتیب تعداد ۳۱ و ۱۹ ژنوتیپ قرار گرفتند و دندروگرام می‌تواند همبستگی بین حضور آلل ژن و قطر ساقه را نشان دهد. به‌عنوان مثال ژنوتیپ‌هایی با آلل ژن *SCM2* عمدتاً در خوشه‌ای قرار گرفتند که قطر ساقه بالاتری دارند که نشان می‌دهد حضور آلل این ژن با صفت قطر ساقه بهتر ارتباط دارد. همچنین ژنوتیپ‌هایی که قطر ساقه نزدیک‌تری دارند در زیرخوشه‌های مجاور هم قرار گرفته‌اند (شکل ۴).

براساس یافته‌های مولکولی و آماری این مطالعه، نشانگر *SCM2* با دقت بسیار بالا توانست ۵۰ ژنوتیپ مورد ارزیابی را به دو گروه کاملاً متمایز تفکیک کند. این تفکیک مولکولی به‌طور کامل با داده‌های فنوتیپی اندازه‌گیری شده از قطر ساقه همخوانی داشت. برای نمونه، ژنوتیپ‌های دارای آلل *SCM2* مانند چمپابودار با میانگین قطر ساقه‌ی ۶/۵۰ میلی‌متر، به‌طور مشخصی نسبت به ژنوتیپ‌های فاقد آلل *SCM2* مانند کوهسار با قطر ساقه‌ی ۴/۶۵ میلی‌متر، برتری داشتند. این نتایج به‌خوبی با یافته‌های محققانی همچون اووکاوا و همکاران (Ookawa et al., 2010) و هیرانو و همکاران (Hirano et al., 2017) که نقش ژن *SCM2* را در افزایش قطر ساقه و در نتیجه مقاومت به خوابیدگی نشان داده‌اند، منطبق می‌باشد. همچنین سطح معنی‌داری کمتر از ۵ درصد



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر

چمپابودار) بود که برتری آماری دارند و ژنوتیپ‌هایی که در گروه‌های a, b, c و ... قرار دارند همگن هستند یعنی تفاوت معنی‌داری ندارند ولی ژنوتیپ‌هایی که در انتهای جدول قرار می‌گیرند دارای ساقه‌های نازک‌تری هستند مثل ژنوتیپ

به‌منظور درک صحیح از گروه‌های حاصل از تجزیه کلاستر، مقایسه بین گروه‌ها براساس صفت مورد مطالعه انجام گرفت. مقایسه میانگین بین گروه‌های مختلف نشان داد که بیشترین میزان صفت، مربوط به گروه d (کشوری و

شده است و نشان می‌دهد که تفاوت‌های مشاهده شده واقعاً ناشی از ژنوتیپ‌ها است و شرایط محیطی ناهمسان تأثیری بر آن نداشته است. دندروگرام خوشه‌بندی نیز بر اساس داده‌های تصحیح شده با اثر بلوک ترسیم شده است، بنابراین گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها معتبرتر است.

RI198-212 که در گروه X قرار دارد (جدول ۴). همچنین استفاده از طرح بلوک‌های کامل تصادفی سبب افزایش صحت و پایایی نتایج، کنترل موثر عوامل محیطی و امکان مقایسه بین ژنوتیپ‌های پر تعداد (۵۰ ژنوتیپ) را فراهم کرده است. جدول مقایسه میانگین‌ها با حذف اثر بلوک‌ها محاسبه

جدول ۴- مقایسه میانگین صفت قطر ساقه بین گروه‌های مختلف

ردیف	گروه‌ها	پاسخ	ردیف	گروه‌ها	پاسخ
۱	Keshvari	۶/۵۸۰۰۰۰ a	۲۶	TH11	۵/۵۹۰۰۰۰ mn
۲	Champabooda r	۶/۵۰۰۰۰۰ a	۲۷	Saleh	۵/۵۷۶۶۶۷ mn
۳	RI198-202	۶/۳۸۰۰۰۰ b	۲۸	AhlamiTarom1	۵/۵۶۰۰۰۰ mn
۴	RI198-214	۶/۱۸۰۰۰۰ c	۲۹	AbjiBooji	۵/۵۴۰۰۰۰ mn
۵	Line7	۶/۱۷۰۰۰۰ c	۳۰	Line23	۵/۵۴۰۰۰۰ mn
۶	Anbarboo	۶/۰۸۰۰۰۰ d	۳۱	Tisa	۵/۵۱۰۰۰۰ no
۷	RI198-207	۶/۰۲۰۰۰۰ de	۳۲	Fuji-minori	۵/۴۵۰۰۰۰ o
۸	RI198-201	۶/۰۱۰۰۰۰ de	۳۳	HassanSara1	۵/۲۲۰۰۰۰ p
۹	RI198-203	۶/۰۱۰۰۰۰ de	۳۴	RI198-200	۵/۱۶۰۰۰۰ p
۱۰	RI198-205	۶/۰۱۰۰۰۰ de	۳۵	SangTarom	۵/۱۶۰۰۰۰ p
۱۱	T196	۶/۰۳۳۳۳ de	۳۶	Dorfak	۵/۱۴۰۰۰۰ p
۱۲	Shafagh	۵/۹۹۶۶۶۷ e	۳۷	DomSiah	۵/۰۵۰۰۰۰ q
۱۳	RoshanM	۵/۹۹۰۰۰۰ ef	۳۸	RI198-213	۴/۹۵۰۰۰۰ r
۱۴	Fajr	۵/۹۸۰۰۰۰ efg	۳۹	Ghodsi	۴/۹۱۰۰۰۰ rs
۱۵	Kadoos	۵/۹۸۰۰۰۰ efg	۴۰	Zenit	۴/۸۳۳۳۳۳ s
۱۶	RI198-216	۵/۹۶۶۶۶۷ efg	۴۱	HassanSara2	۴/۴۷۰۰۰۰ t
۱۷	RI198-209	۵/۹۵۰۰۰۰ efg	۴۲	RI198-217	۴/۷۳۳۳۳۳ t
۱۸	Sepidrood	۵/۹۱۳۳۳۳ fg	۴۳	RI198-206	۴/۷۰۰۰۰۰ tu
۱۹	RI198-204	۵/۹۰۰۰۰۰ gh	۴۴	MohammadiCh aparsar	۴/۶۹۰۰۰۰ tu
۲۰	Gohar	۵/۸۲۰۰۰۰ hi	۴۵	Anam	۴/۶۸۰۰۰۰ tuv
۲۱	AnbarbooIlam	۵/۷۸۰۰۰۰ i	۴۶	Koohsar	۴/۶۵۰۰۰۰ uv
۲۲	Shahpasand	۵/۷۷۰۰۰۰ ij	۴۷	RI198-210	۴/۶۲۰۰۰۰ uv
۲۳	RI198-211	۵/۶۹۰۰۰۰ jk	۴۸	RI198-208	۴/۶۰۰۰۰۰ v
۲۴	RI198-215	۵/۶۷۰۰۰۰ kl	۴۹	IR64	۴/۴۱۰۰۰۰ w
۲۵	Rash	۵/۶۰۰۰۰۰ lm	۵۰	RI198-212	۴/۳۲۰۰۰۰ x

بهره‌برداری از این ژن‌ها برای صفات پیچیده می‌توان از لاین‌های خالص خاص این صفات که با استفاده از برنامه اصلاحی تلاقی برگشتی همراه با انتخاب فنوتیپی ایجاد شده‌اند استفاده کرد (Zhang et al., 2013). برای بهبود عملکرد برنج داشتن خزانه ژنتیکی وسیع ضروری است (Gichuhi et al., 2016). استخراج آلل‌های مطلوب پیش نیاز طراحی بهنژادی مولکولی می‌باشد (Li et al., 2023) و

منابع ژنومی بدست آمده از نتایج تولید شده، به‌ویژه توالی‌یابی مجدد ارقام با تنوع بالا از ژرم‌پلاسما به شناسایی و بررسی تغییرات آللی کمک می‌کند بنابراین در نهایت راه را برای شناسایی ارقام بخشنده جدید و آلل‌های جدید مرتبط با ویژگی‌های مورد علاقه به‌منظور بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی باز می‌کند که به نوبه خود می‌تواند منجر به بهبود تولید محصول گردد (Varshney et al., 2018). برای

همراه با خوابیدگی و جوانه‌زنی زنده بر روی این گیاهان سبب ایجاد چالشی جدی در تولید پایدار برنج شده است (Azharudheen et al., 2021). در واقع مقاومت در برابر خوابیدگی یک صفت کمی و یک ویژگی پیچیده است که عواملی مثل ارتفاع گیاه، وضعیت کشت و شرایط آب و هوایی بر آن اثر می‌گذارند (Chigira et al., 2020).

به‌منظور شناسایی ژن‌هایی که بیشترین احتمال ارتباط با ژن‌های هدف را دارند می‌توان از غربالگری و اولویت‌بندی ژن‌های کاندید بهره گرفت (Jiang et al., 2018). هر می‌کردن ژن‌های کاندید با دیگر ژن‌های مرتبط با صفات زراعی ممکن است باعث افزایش عملکرد کلی و مقاومت به خوابیدگی شود با این حال به‌دلیل پیوستگی طبیعی برخی ژنها، پیدا کردن آلل‌های مطلوب ژن‌های کاندید ضروری است (Rashid et al., 2022). شناسایی آلل‌های ژن‌های برتر موثر در ایجاد ساقه قویتر به‌منظور هر می‌کردن ژن‌ها برای تولید ارقام پرمحصول با مقاومت به خوابیدگی، اهمیت زیادی دارد (Samadi et al., 2019).

نتایج تجزیه و تحلیل بر اساس داده‌های مولکولی و فنوتیپی در این پژوهش، شباهت ژنتیکی ژنوتیپ‌های دارای آلل مفید را در یک خوشه‌ی مشخص نشان داد که این امر توانایی این نشانگر را در شناسایی و گروه‌بندی کارآمد ژرم‌پلاسم برای اهداف اصلاحی تقویت می‌کند. بنابراین، با استناد به نتایج این تحقیق، می‌توان ادعا کرد که نشانگر عملکردی *SCM2* نه تنها یک ابزار تشخیصی معتبر، بلکه یک نشانگر انتخابی قدرتمند برای اجرای برنامه‌های اصلاح دقیق و انتخاب به کمک نشانگر (MAS) در جمعیت‌های در حال تفرق برنج محسوب می‌شود. استفاده از این نشانگر می‌تواند فرآیند زمان‌بر و پرهزینه‌ی انتخاب فنوتیپی برای صفت پیچیده‌ی مقاومت به خوابیدگی را تسریع نموده و کارایی انتخاب ژنوتیپ‌های برتر را حتی در مراحل اولیه رشد (مانند مرحله گیاهچه‌ای) به حداکثر برساند.

علاوه بر این، کارایی نشانگر *SCM2* در غربالگری سریع و دقیق در میان ژنوتیپ‌های بررسی‌شده مورد تأیید قرار گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که از بین ژنوتیپ‌های محلی و اصلاح‌شده مورد بررسی، چندین ژنوتیپ مانند چمپابودار واجد آلل مفید *SCM2* بوده و از قطر ساقه مطلوبی برخوردارند. این موضوع گنجینه ارزشمندی از تنوع ژنتیکی بومی را آشکار می‌سازد که می‌تواند مستقیماً

به‌نژادی مولکولی با طراحی دقیق یک راهبرد اصلاحی جدید برای بهبود سریع و هدفمند توسعه ترکیب آلل‌های ژن‌های مطلوب است (Tao et al., 2019). در اصلاح برنج می‌توان از شناسایی ژن‌های مفید برای صفات مختلف و انتقال آنها به ارقام مطلوب بومی برنامه‌ریزی لازم را داشت. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی و ارتباط بین یا درون گونه‌های مختلف، جمعیت‌ها و افراد مختلف در انتخاب ارقام برای تلاقی برگشتی در برنامه‌های اصلاحی کمک می‌کند (Singh et al., 2015).

گیريجا و همکاران (Girija et al., 2017) در مطالعه‌ای اظهار داشتند که خوابیدگی تأثیر نامطلوب بر کیفیت و اجزای عملکرد دانه از جمله نسبت طول به عرض، دمای ژلاتینه‌شدن و قوام ژل دارد. ایکدا و همکاران در مطالعه‌ای اظهار داشتند که ژن *APO1* پروتئینی را رمزگذاری می‌کند که در کنترل انشعاب محوری خوشه، رشد زیاد پنجه و قطر ساقه نقش دارد (Ikeda et al., 2007). آلل *SCM2* یک آلل ضعیف از ژن *APO1* است که در وارپته‌ها با تاقی یافت می‌شود (با ۲ تا ۳ برابر بیان بیشتر *APO1* در گل آذین نسبت به *Koshihikari*) که این آلل باعث افزایش قطر ساقه و تعداد دانه در خوشه بدون کاهش تعداد پنجه می‌شود (Ookawa et al., 2010 and Terao et al., 2010). آلل *SCM2-Habataki* به‌عنوان یک آلل مفید از ژن *APO1* برای افزایش عملکرد و مقاومت به خوابیدگی در یک برنامه اصلاحی استفاده می‌شود. بر اساس پژوهش کیم و همکاران (kim et al., 2016) آلل *SCM2-Habataki* که با عملکرد بالا و مقاومت در برابر خوابیدگی مرتبط است، بطور گسترده‌ای در وارپته‌های هندی (ایندیکا) پراکنده شده است. علاوه بر این آنها پیشنهاد دادند که این آلل می‌تواند در بسیاری از وارپته‌های ژاپنی موثر واقع شود. آلل *SCM2* از والد بخشنده می‌تواند هر دو صفت قطرساقه و تعداد سنبلچه‌ها را افزایش دهد (Guo et al., 2021). اواوکاوا و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که ژن *SCM2* موجب افزایش حدود ۲۰ درصدی تعداد سنبلچه‌ها می‌شود که این افزایش عمدتاً ناشی از تشکیل شاخه‌های ثانویه خوشه می‌باشد (Ookawa et al., 2010). امروزه مشکلات مختلفی همچون تغییرات آب و هوایی بر توسعه ارقام با کیفیت بالا و پرمحصول برنج تأثیر می‌گذارد. بر پایه‌ی مطالعات آژورده‌مین و همکاران بارش‌های نامنظم در سال‌های اخیر

را جداسازی و شناسایی نماید و از این نشانگر می‌توان در برنامه‌های بهنجاری به‌منظور غربالگری جمعیت‌های در حال تفرق برای بهبود صفت قطر ساقه و بهره‌مندی از مزایای قطر ساقه با کاهش زمان اصلاحی برای پیشبرد برنامه‌های توسعه سریع نسل‌ها استفاده کرد.

سپاسگزاری:

از مسئولان و کارشناسان محترم آزمایشگاه‌های بیوتکنولوژی موسسه تحقیقات برنج کشور و ژنومیکس پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور در زمینه همکاری در اجرای این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود.

در برنامه‌های تلاقی و معرفی ارقام مقاوم به خوابیدگی مورد بهره‌برداری قرار گیرد. بنابراین، استفاده از این نشانگر نه تنها فرآیند شناسایی ژنوتیپ‌های برتر را در مراحل اولیه تسریع می‌بخشد، بلکه با حفظ و استفاده هدفمند از ذخایر ژنتیکی محلی، پایه ژنتیکی ارقام اصلاح‌شده آینده را گسترش داده و آنها را در برابر چالش‌هایی مانند خوابیدگی مقاوم‌تر می‌سازد. این رویکرد، گامی عملی در جهت تحقق، بهنجاری مبتنی بر نشانگر و افزایش پایداری عملکرد در شرایط تغییر اقلیم است.

نتیجه‌گیری کلی:

نتایج این تحقیق نشان داد که نشانگر مولکولی *SCM2* به‌خوبی توانست ژنوتیپ‌های واجد و فاقد آلل ژن قطر ساقه

منابع

- Azharudheen, T. P., Sah, R. P., Moharana, D., Behera, S., & Pradhan, S. K. (2021). Genetic Improvement of Rice for Lowlands. In book: *Advances in Rice Breeding : Stress Tolerance, Climate Resilience, Quality & High Yield*. Edition: 1. ICAR-National Rice Research Institute: Cuttack, India, 63-85.
- Bradbury, L. M., Fitzgerald, T. L., Henry, R. J., Jin, Q., & Waters, D. L. (2005). The gene for fragrance in rice. *Plant biotechnology journal*, 3(3), 363-370.
- Chigira, K., Kojima, N., Yamasaki, M., Yano, K., Adachi, S., Nomura, T., ... & Ookawa, T. (2020). Landraces of temperate japonica rice have superior alleles for improving culm strength associated with lodging resistance. *scientific reports*, 10(1), 19855. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76949-8>.
- Conner, T. (2004). Precision breeding: A new genetic technique providing international opportunities for crop improvement. *Seed Quest*.
- Cordeiro, G. M., Christopher, M. J., Henry, R. J., & Reinke, R. F. (2002). Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence. *Molecular Breeding*, 9, 245-250.
- Doyle, J. (1991). DNA protocols for plants. *Molecular techniques in taxonomy. NATO Science Series*, 57, 283-293.
- GirijaRani, M., Satyanarayana, P. V., Lal Ahmad, M., AshokRani, Y., Srinivasa Rao, V., & Jhansirani, P. (2017). Breeding Strategies for Lodging Resistance in Rice. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 8, 895-903. <https://doi.org/10.23910/IJBSM/2017.8.6.1793a>.
- Gichuhi, E., Himi, E., Takahashi, H., Zhu, S., Doi, K., Tsugane, K., & Maekawa, M. (2016). Identification of QTLs for yield-related traits in RILs derived from the cross between pLIA-1 carrying *Oryza longistaminata* chromosome segments and Norin 18 in rice. *Breeding science*, 66(5), 720-733. doi: <https://doi.org/10.1270/jsbbs.16083>.
- Guo, Z., Liu, X., Zhang, B., Yuan, X., Xing, Y., Liu, H., Luo, L., Chen, G., & Xiong, L. (2021). Genetic analyses of lodging resistance and yield provide insights into post-Green-Revolution breeding in rice. *Plant Biotechnology Journal*, 19(4), 814-829. <https://doi.org/10.1111/pbi.13509>.
- He, Q., & Park, Y. J. (2015). Discovery of a novel fragrant allele and development of functional markers for fragrance in rice. *Molecular breeding*, 35(11), 217. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0412-4>.
- Hirano, K., Ordonio, R. L., & Matsuoka, M. (2017). Engineering the lodging resistance mechanism of post-Green Revolution rice to meet future demands. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 93(4), 220-233. <https://doi.org/10.2183/pjab.93.014>.
- Ikeda, M., Miura, K., Aya, K., Kitano, H., & Matsuoka, M. (2013). Genes offering the potential for designing yield-related traits in rice. *Current opinion in plant biology*, 16(2), 213-220. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.02.002>.
- Ikeda-Kawakatsu, K., Yasuno, N., Oikawa, T., Iida, S., Nagato, Y., Maekawa, M., & Kyojuka, J. (2009). Expression level of ABERRANT PANICLE ORGANIZATION1 determines rice inflorescence form through control of cell proliferation in the meristem. *Plant physiology*, 150(2), 736-747.
- Ikeda, K., Ito, M., Nagasawa, N., Kyojuka, J., & Nagato, Y. (2007). Rice ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1, encoding an F-box protein, regulates meristem fate. *The Plant Journal*, 51(6), 1030-1040.

- Jiang, J., Xing, F., Wang, C., & Zeng, X. (2018). Identification and analysis of rice yield-related candidate genes by walking on the functional network. *Frontiers in plant science*, 9, 1685. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01685>.
- Kim, S. R., Ramos, J., Ashikari, M., Virk, P. S., Torres, E. A., Nissila, E., ... & Jena, K. K. (2016). Development and validation of allele-specific SNP/indel markers for eight yield-enhancing genes using whole-genome sequencing strategy to increase yield potential of rice, *Oryza sativa* L. *Rice*, 9, 1-12.
- Lau, W. C., Rafii, M. Y., Ismail, M. R., Puteh, A., Latif, M. A., & Ramli, A. (2015). Review of functional markers for improving cooking, eating, and the nutritional qualities of rice. *Frontiers in Plant Science*, 6, 832
- Li, S., Rao, Y., Duan, P., Wang, Z., Hu, P., Yu, R., ... & Mao, Y. (2023). Mapping and Candidate Gene Prediction of qPL7-25: A Panicle Length QTL in Dongxiang Wild Rice. *Agriculture*, 13(8), 1623. <https://doi.org/10.3390/agriculture13081623>.
- Liu, M., Fan, F., He, S., Guo, Y., Chen, G., Li, N., Li, N., Yuan, H., Si, F., Yang, F. (2022). Creation of elite rice with high-yield, superior-quality and high resistance to brown planthopper based on molecular design. *Rice*, 15, 1-13.
- Lübberstedt, T., Zein, I., Andersen, J. R., Wenzel, G., Krützfeldt, B., Eder, J., Ouzunova, M. and Chun, S. (2005). Development and application of functional markers in maize. *Euphytica*, 146, 101-108.
- Merugumala, G. R., PV, S., Narne, C., BNVS, R., PV, R. R., & V, D. (2019). Molecular breeding of “Swarna,” a mega rice variety for lodging resistance. *Molecular Breeding*, 39, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11032-019-0961-z>.
- Meng, B., Wang, T., Luo, Y., Xu, D., Li, L., Diao, Y., Gao, Z., Hu, Z., & Zheng, X. (2021). Genome-wide association study identified novel candidate loci/genes affecting lodging resistance in rice. *Genes*, 12(5), 718. <https://doi.org/10.3390/genes12050718>.
- Mohtashami, R. (2023). Genotype × Environment interaction and grain yield stability analysis of rice genotypes (*Oryza sativa* L.). *Journal of crop Breeding*, 15(47), 113-122.(In Persian). <https://doi.org/10.61186/jcb.15.47.113>.
- Ookawa, T., Aoba, R., Yamamoto, T., Ueda, T., Takai, T., Fukuoka, S., ... & Hirasawa, T. (2016). Precise estimation of genomic regions controlling lodging resistance using a set of reciprocal chromosome segment substitution lines in rice. *Scientific reports*, 6(1), 30572. <https://doi.org/10.1038/srep30572>.
- Ookawa, T., Hobo, T., Yano, M., Murata, K., Ando, T., Miura, H., ... & Matsuoka, M. (2010). New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. *Nature communications*, 1, 132. <https://doi.org/10.1038/ncomms1132>.
- Rachana, B., Eswari, K. B., Jyothi, B., Devi, L. G., Vidhya, J. L., Bhavani, L. P., ... & Ram, T. (2019). Characterization of new plant type core set of rice (*Oryza sativa* L.) using QTL/gene-linked markers. *ORYZA- An International Journal on Rice*, 56(4), 352-360. <https://doi.org/doi.org/10.35709/ory.2019.56.4.2>
- Rahman, M.H. (2016). Exploring Sustainability to feed the world in 2050. *Journal of Food Microbiology*, 1(1), 7-16. <https://doi.org/10.20936/JFM/160102>
- Rashid, M. A. R., Zhao, Y., Azeem, F., Zhao, Y., Ahmed, H. G. M. D., Atif, R. M., ... & Li, Z. (2022). Unveiling the genetic architecture for lodging resistance in rice (*Oryza sativa*. L) by genome-wide association analyses. *Frontiers in Genetics*, 13, 960007. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.960007>.
- Sakuma, S., & Schnurbusch, T. (2020). Of floral fortune: tinkering with the grain yield potential of cereal crops. *New Phytologist*, 225(5), 1873-1882. <https://doi.org/10.1111/nph.16189>.
- Salgotra, R. K., & Stewart Jr, C. N. (2020). Functional markers for precision plant breeding. *International journal of molecular sciences*, 21(13), 4792. <https://doi.org/10.3390/ijms21134792>.
- Samadi, A. F., Suzuki, H., Ueda, T., Yamamoto, T., Adachi, S., & Ookawa, T. (2019). Identification of quantitative trait loci for breaking and bending types lodging resistance in rice, using recombinant inbred lines derived from Koshihikari and a strong culm variety, Leaf Star. *Plant Growth Regulation*, 89, 83-98. <https://doi.org/10.1007/s10725-019-00517-y>.
- Singh, N., Kumar, R., Tomar, A., Singh, J., & Singh, S. (2015). Molecular marker based genetic diversity analysis of international rice (*Oryza sativa*. L) Germplasm. *Progressive Agriculture*, 15(1), 142-147.
- Tao, G. U. O., Hong, Y. U., Jie, Q. I. U., JiaYang, L. I., Bin, H. A. N., & HongXuan, L. I. N. (2019). Advances in rice genetics and breeding by molecular design in China. *Scientia Sinica Vitae*, 49(10), 1185-1212.
- Terao, T., Nagata, K., Morino, K., & Hirose, T. (2010). A gene controlling the number of primary rachis branches also controls the vascular bundle formation and hence is responsible to increase the harvest index and grain yield in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 120, 875-893. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1218-8>.
- Tran, N. A., Daygon, V. D., Resurreccion, A. P., Cuevas, R. P., Corpuz, H. M., & Fitzgerald, M. A. (2011). A single nucleotide polymorphism in the Waxy gene explains a significant component of gel consistency. *Theoretical and Applied Genetics*, 123(4), 519-525. <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1604-x>
- Varshney, R. K., Singh, V. K., Kumar, A., Powell, W., & Sorrells, M. E. (2018). Can genomics deliver climate-change ready crops?. *Current opinion in plant biology*, 45, 205-211.

- Yadav, S., Singh, U. M., Naik, S. M., Venkateshwarlu, C., Ramayya, P.J., Raman, K.A., Sandhu, N., & Kumar, A. (2017). Molecular mapping of QTLs associated with lodging resistance in dry direct-seeded rice (*Oryza sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 8, 1431. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01431>.
- Yang, X., Lai, Y., Wang, L., Zhao, M., Wang, J., Li, M., ... & Jiang, S. (2023). Isolation of a novel QTL, qSCM4, associated with strong culm affects lodging resistance and panicle branch number in rice. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 812. <https://doi.org/10.3390/ijms/24010812>.
- Yousefi, Z., Bagheri, K., Modarresi, M., & Hosseinpour Azad, N. (2023). Phenotypic and Molecular Screening of Different Genotypes of Rice based on the Markers Related to the Aroma Trait. *Journal of Crop Breeding*. 15(47), 186-194. (In persian). <https://doi.org/10.61186/jcb.15.47.186>.
- Zhang, W., Wu, L., Wu, X., Ding, Y., Li, G., Li, J., ... & Wang, S. (2016). Lodging resistance of japonica rice (*Oryza Sativa* L.): morphological and anatomical traits due to top-dressing nitrogen application rates. *Rice*, 9(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s12284-016-0103-8>.
- Zhang, H., Wang, H., Qian, Y., Xia, J., Li, Z., Shi, Y., ... & Li, Z. (2013). Simultaneous improvement and genetic dissection of grain yield and its related traits in a backbone parent of hybrid rice (*Oryza sativa* L.) using selective introgression. *Molecular Breeding*, 31, 181-194.
- Zhao, D. D., Son, J. H., Lee, G. S., & Kim, K. M. (2021). Screening for a novel gene, OsPSLSq6, using QTL analysis for lodging resistance in rice. *Agronomy*, 11(2), 334. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020334>.