مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۳۹، شماره ۱، ۱۳۸۷ (۳۲-۲۳)

# خروج ناقص خوشه برنج در لاین نر عقیم سیتوپلاسمی و اثر جیبرلیک اسید بر آن

زهرا سادات شبر* [۱]، محمد علی ملبوبی[۲]، مختار جلالی جواران[۳]، قاسم کریم زاده[۴]، قاسم محمدی نژاد[۵]، موتوراجان راویندران[۶] و جان بنت[۷]
۱، دانشجوی دکتری دانشگاه تربیت مدرس و عضو هیات علمی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ۲، دانشیار پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی ۳، ٤، دانشیاران، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس
۵، استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان ٦، پژوهشگر میهمان موسسه تحقیقات بین المللی برنج و استادیار دانشگاه کشاورزی تامیل نادو ۷، استاد و رئیس آزمایشگاه زیست شناسی مولکولی گیاهی موسسه تحقیقات بین المللی برنج
(تاریخ دریافت:۸۶/۲/۱۰- تاریخ تصویب:۸۶/۴/۱۹)

## چکیده

**ارقام دورگه برنج، عملکردی بیش از بهترین ارقام خویش‌آمیخته داشته و در شرایط نامناسبی همانند شوری و خشکی کارایی بهتری دارند. یکی از موانع عمده برای دستیابی به عملکرد بالا در تولید بذر برنج دورگه، خروج ناقص خوشه برنج در لاین نر عقیم سیتوپلاسمی است. گلچه‌هایی که خارج نشده و درون غلاف برگ پرچمی باقی بمانند عقیم می‌گردند. مطالعه طول غلاف برگ پرچمی، دمگل و خوشه از دو روز پیش از ظهور خوشه تا پنج روز پس از آن روشن ساخت که تنها عامل متغیر در این دوره طول دمگل است. بررسی روند رشد دمگل بین لاین IR80151A (لاین نر عقیم) و IR80151B (لاین نگاهدارنده) در این دوره، حاکی از کندی قابل توجه رشد طولی دمگل لاین A نسبت به B پس از ظهور خوشه بود. نقش جیبرلیک اسید بر رشد طولی دمگل با معنی‌دار بودن اثر آن بر افزایش طول دمگل‌های جدا شده اثبات گردید. طول غلاف برگ پرچمی و خوشه با افشانه جیبرلیک اسید بر گیاهان در مزرعه تغییری نکرد، اما اثر آن بر طول نهایی دمگل معنی‌دار بود، به طوری که طول نهایی دمگل در لاین A با افشانه GA3 تقریباً معادل لاین B در حالت شاهد (بدون افشانه GA3) گردید. همچنین مطالعه الگوی رشد دمگل در یک جهش‌یافته IR64 با میانگرهٔ بالایی طویل به نام eui-10 نشان داد که نرخ رشد طولی دمگل در این جهش‌یافته‌ها، بویژه پس از ظهور خوشه، بسیار بیشتر از IR64 بوده و طول نهایی دمگل آن به حدود دو برابر حد معمول می‌رسد. به نظر می‌رسد که انتقال این صفت به لاین نر عقیم می‌تواند راه حل ژنتیکی مناسبی برای رفع مشکل عدم خروج خوشه در تولید برنج دورگه باشد.**

**واژه‌های کلیدی:** برنج، دمگل، لاین نر عقیم سیتوپلاسمی، جیبرلیک اسید، خروج خوشه

### مقدمه

با افزایش روزافزون جمعیت به ویژه در کشورهای در حال توسعه، میزان تقاضا برای برنج به سرعت در حال افزایش است. بنابراین، باید به دنبال راهکارهایی برای دستیابی به محصول هر چه بیشتر برنج در واحد سطح و با هزینه پایین‌تر بود. ارقام دورگه برنج[۱] تا کنون به طور متوسط عملکردی ۲۰-۱۵٪ بیشتر از بهترین ارقام خویش‌آمیخته[۲] در شرایط یکسان را حاصل کرده‌اند. همچنین، این ارقام دورگه در شرایط نامناسبی همانند شوری و خشکی کارایی بهتری دارند (۲۰). مطالعات انجام شده در چین (۸ ، ۱۰)، مؤسسه تحقیقات بین المللی برنج[۳]

1. Hybrid rice
2. Inbred
3. International Rice Research Institute, IRRI

* نویسنده مسئول: زهرا سادات شبر تلفن: ۰۲۶۱-۲۷۰۳۵۳۶ Email:shobbar@abrii.ac.ir

(۱۷، ۱۸)، هند (۱۱)، ویتنام (۳)، فیلیپین (۱۲)، بنگلادش (۶) و چندین کشور دیگر به روشنی نشان داده است که بهره‌گیری از فن‌آوری برنج دورگه راه حل مناسبی برای چالش یاد شده خواهد بود.

برنج دورگه محصول تجاری برنجی است که از کشت بذور F1 حاصل از تلاقی دو والد غیر مشابه از نظر ژنتیکی بدست می‌آید و از هتروزیس[1] بهره می‌برد. هتروزیس پدیده‌ای است که در آن دورگه‌های F1 حاصل از والدین مختلف از نظر قدرت[2]، عملکرد، اندازه خوشه[3]، تعداد گلچه‌ها[4] در خوشه، تعداد پنجه‌های بارور[5] و سایر صفات بر والدین خود برتری دارند. برنج به عنوان یک گیاه کاملاً خود گرده افشان برای تولید دورگه‌های تجاری نیازمند یک سازگان نرعقیم[6] است. یک لاین نرعقیم به عنوان والد ماده در کنار والد دیگر با گرده بارور کشت می‌شود تا مقادیر زیادی از بذور دورگه حاصل گردد. تولید تجاری برنج‌های دورگه مستلزم سه لاین نر عقیم[7] (لاین A)، نگاهدارنده[8] (لاین B) و تجدید کننده[9] (لاین R) است و طی دو مرحله صورت می‌گیرد: تکثیر لاین نر عقیم سیتوپلاسمی و تولید بذور دورگه. نر عقیمی توسط برهم‌کنش یک عامل ژنتیکی موجود در سیتوپلاسم (عامل نر عقیمی S واقع در DNA میتوکندری) و ژن‌های هسته‌ای تنظیم می‌شود. لاین نر عقیم (لاین A) دارای عامل نر عقیمی S در سیتوپلاسم و الل‌های مغلوب ژن‌های باروری (rf) در هسته می‌باشد. لاین نگاهدارنده (لاین B) از نظر ژن‌های هسته‌ای مشابه لاین نر عقیم (لاین A) ولی از نظر عامل سیتوپلاسمی (N) متفاوت است که موجب باروری خود آن می‌گردد اما توانایی نگهداری نرعقیمی لاین A در صورت تلاقی با آن را دارد زیرا DNA میتوکندری همواره از والد ماده به ارث می‌رسد. لاین تجدید کننده (لاین R) از نظر ژن‌های هسته‌ای با لاین A متفاوت بوده و دارای ژن‌های تجدید کننده باروری (Rf) است. تلاقی لاین تجدید کننده به عنوان والد دانه گرده با لاین نر عقیم سیتوپلاسمی به عنوان والد ماده موجب تجدید باروری در بذور دورگه F1 می‌گردد. ژن تجدید کننده باروری به صورت هوموزیگوت (RfRf) یا هتروزیگوت (Rfrf) حتی در حضور عوامل باروری در سیتوپلاسم می‌تواند باروری را در بذور دورگه F1 تجدید کند (۲۰).

یکی از موانع عمده برای دستیابی به عملکرد بالا در تولید بذر برنج دورگه، خروج ناقص خوشه[10] برنج در لاین نر عقیم سیتوپلاسمی است (۱، ۱۵، ۲۳ و ۲۴). خروج خوشه از غلاف برگ پرچمی با طویل شدن بالاترین میانگره یعنی دمگل هدایت می‌شود. در بیشتر غلات، خروج خوشه چندین روز پیش از شروع گرده‌افشانی[11] در گلچه‌ها کامل می‌گردد اما در برنج، خروج خوشه از نظر زمانی با گرده‌افشانی همپوشانی دارد و هر گلچه تنها حدود یک روز پیش از گرده‌افشانی از غلاف برگ پرچمی خارج می‌شود. گلچه‌هایی که خارج نشده و درون غلاف برگ پرچمی باقی بمانند عقیم می‌گردند.

یک روش رایج برای حل مشکل مذکور استفاده از جیبرلیک اسید[12] است (۱۹). جیبرلیک اسید یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که نقش عمده‌ای در تنظیم رشد میانگره‌ای داراست (۵، ۱۳، ۱۶). البته علاوه بر هزینه بر بودن، استفاده از جیبرلیک اسید می‌تواند موجب کاهش کیفیت بذر گردد (۱۴، ۲۲).

لازم به ذکر است که مسئله عدم خروج کامل خوشه تنها مختص لاین نر عقیم سیتوپلاسمی نبوده، در مواجهه با تنش خشکی در دوره زایشی برای تمامی ارقام برنج مشکل ساز می‌گردد. روشن است که درک بهتر این مسئله اولین گام در مسیر یافتن راه حلی مناسب و منطقی است، در حالی که متأسفانه اطلاعات چندانی در این مورد در منابع موجود نمی‌باشد. این پژوهش به مطالعه صفات مربوطه و بررسی اثر جیبرلیک اسید بر آنها می‌پردازد. همچنین الگوی رشد دمگل را در یک جهش‌یافته IR64 با میانگرهٔ بالایی طویل[13] مورد بررسی قرار می‌دهد، زیرا انتقال این صفت به لاین نر عقیم می‌تواند راه حل ژنتیکی مناسبی برای مشکل خروج خوشه باشد.

1. Heterosis
2. Vigor
3.Panicle
4. Spikelet
5. Productive tillers
6. Male sterility system
7. Cytoplasmic genetic male sterile line, CMS line
8. Maintainer line
9. Restorer line

10. Incomplete panicle exertion
11. Anthesis
12. GA3
13. *eui-10*; Elongated upper internode

## مواد و روش ها

پرورش گیاهان در مزرعه‌ای از موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج واقع در فیلیپین از دی ۱۳۸۴ تا فروردین ۱۳۸۵ به صورت غرقابی (به طوری که همواره آب کافی در دسترس گیاهان قرار داشت) صورت گرفت. مزرعه آزمایشی شامل ۱۰ پلات به ابعاد ۲ x ۴ متر بود که در هر یک ۶ ردیف از لاین نر عقیم سیتوپلاسمی (IR80151A)، که از این پس لاین A نامیده می‌شود، و چهار ردیف از لاین نگاهدارنده (IR80151B)، که از این پس لاین B نامیده می‌شود، کشت شدند. به دلیل تفاوت اندک دوره رشد لاین A و B و به منظور دستیابی به گلدهی همزمان، جوانه زنی لاین B شش روز پیش از لاین A صورت گرفت. لاین A و B دارای زمینه هسته‌ای یکسان اما سیتوپلاسم‌های متفاوت می‌باشند. آنها در حالت طبیعی هیچ تفاوت فنوتیپی قابل توجهی در دوره رویشی ندارند، اما در دوره زایشی متمایز می‌شوند. دانه‌های گرده لاین A عقیم بوده و بخش عمده‌ای از خوشه داخل برگ پرچمی باقی می‌ماند اما لاین B دانه‌های گرده طبیعی و زایا تولید کرده و خوشه به طور کامل از غلاف برگ پرچمی خارج می‌گردد.

به منظور ارزیابی اختلاف لاین‌ها در صفات مورد نظر و اثر متقابل آن با زمان، نمونه برداری در خلال سه روز پیش از ظهور خوشه تا چهار روز پس از آن در هر پلات صورت گرفت. روزهای پیش از ظهور خوشه[1] با استفاده از فاصلهٔ میان گوشوارکی[2] و موقعیت خوشه درون غلاف برگ پرچمی مشخص گردید. برای محاسبه طول دمگل فاصله بین بالاترین گره و گره ماقبل آن، برای طول خوشه فاصله بین آخرین گره تا نوک خوشه، برای طول غلاف برگ پرچمی فاصله گره ماقبل بالاترین گره و نقطه شروع پهنک برگ پرچمی، برای فاصلهٔ میان گوشوارکی فاصله نقطه شروع پهنک برگ پرچمی و نقطه شروع پهنک برگ ماقبل آن اندازه‌گیری گردیدند (شکل۱). تجزیه‌های آماری جهت مقایسه میانگین صفات مذکور برای لاین‌های مورد مطالعه و مقایسه روند متقابل آنها در طی زمان بر اساس آزمایش کرت‌های خرد شده در زمان در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی[3] در ده تکرار صورت گرفت. جهت برازش منحنی توجیه کننده روند تغییرات لاین‌ها طی زمان از رگرسیون لوجستیک[4] بهره گرفته شد.

برای بررسی اثر جیبرلیک اسید بر طویل سازی دمگل‌های جدا شده، نمونه‌های مورد نظر از پنجه‌های در مرحله ظهور خوشه [5] (خروج اولین گلچه‌ها از غلاف برگ پرچمی) از هر لاین از بخش‌های تیمار نشده پلات برداشت شده و دمگل آنها از بالای بالاترین گره و زیر گره ماقبل آن قطع شده و طول آنها یادداشت گردید. ده عدد از دمگل‌های جدا شده از هر لاین در ۳۰۰ میلی لیتر آب خالص یا حاوی ۱۰۰ میکرومولار GA3[6] قرار داده شدند و طول آنها پس از ۶ ساعت و سپس تا ۷۲ ساعت هر ۱۲ ساعت اندازگیری شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد.

یک سوم شمالی از هر پلات آزمایشی برای ارزیابی اثر افشانه جیبرلیک اسید در نظر گرفته شد. در این قسمت پس از حذف حاشیه‌ها، ۵۰ میلی لیتر از محلول ۱۰۰ میکرومولار GA3 بطور یکنواخت بر سرتاسر هر گیاه (در مرحله ظهور خوشه) پاشیده شد و گیاهان تیمار شده برچسب گذاری شدند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها برای میزان خروج روزانه خوشه بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی و برای طول نهایی دمگل، خوشه، غلاف برگ پرچمی و دومین میانگره بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد.

برای مطالعه الگوی رشد دمگل در IR64 و eui-10 (جهش یافته IR64 با میانگرهٔ بالایی طویل)، این گیاهان در گلخانه شیشه‌ای بدون نور اضافی یا کنترل دما کشت شدند. هر رقم در ۱۰ تکرار (گلدان) و در هر گلدان (حاوی ۷ کیلوگرم خاک) سه گیاه کاشته شد. گلدانها دوبار در روز آبیاری شدند تا حالت غرقابی خاک حفظ شود. مرحله نموی

1 .Days before heading, DBH
2. Interauricle
3. Split plot in time based on RCBD
4 .Logistic regression
5 .Heading
6. Gibberellic acid, Sigma G7645

(مثلاً سه روز پیش از خروج خوشه) با استفاده از فاصلهٔ میان گوشوارکی و موقعیت خوشه درون غلاف برگ پرچمی تعیین گردید. لازم به ذکر است موقعیت خوشه درون غلاف برگ پرچمی و فاصلهٔ میان گوشوارکی طی روزهای پیش از ظهور خوشه در ارقام و شرایط آب و هوایی مورد مطالعه مشاهده و یادداشت برداری شده و بنابراین محدوده اندازه مربوطه برای هر مرحله مشخص بود. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها برای ارزیابی اختلاف طول دمگل بین ارقام، بر اساس طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد.

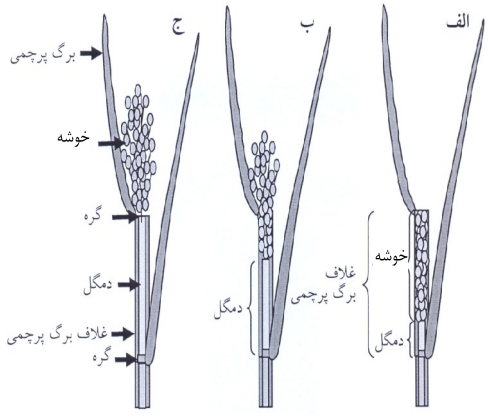
در تمامی طرح‌های فوق مقایسه میانگین تیمارها با روش دانکن صورت گرفت و برای انجام تجزیه‌های آماری از نرم افزارهای (6.12) SAS و (10) SPSS استفاده شد.

## نتایج و بحث

### علت خروج ناقص خوشه در لاین A

طولی از خوشه که از غلاف برگ پرچمی خارج می‌شود تفاضل بین طول مجموع دمگل و خوشه از طول غلاف برگ پرچمی است (شکل۱). مطالعه طول غلاف برگ پرچمی، دمگل و خوشه از دو روز پیش از ظهور خوشه تا پنج روز پس از آن روشن ساخت که تنها عامل متغیر در این دوره طول دمگل است (جدول۱، شکل۲ الف). بنابراین خروج ناقص خوشه در لاین A، به دلیل عدم رشد طبیعی دمگل پس از ظهور خوشه است. فاصلهٔ میان گوشوارکی عامل متغیر دیگری بود (جدول۱ و شکل۲ ب) که نقشی در خروج خوشه از غلاف برگ پرچمی نداشت اما می‌تواند برای پیشبینی روز ظهور خوشه مورد استفاده قرار گیرد. از آنجایی که طول غلاف برگ پرچمی در این دوره ثابت بود (شکل۲ الف) به نظر می‌رسید افزایش فاصلهٔ میان گوشوارکی به دلیل طویل شدن دومین میانگره بوده باشد.

مقایسه میانگین شاخص‌های فوق بین لاین A و B ، نشان داد که طول دمگل لاین A بطور معنی‌داری کوتاهتر از لاین B است، در حالی که هیچ تفاوت معنی‌داری میان طول غلاف برگ پرچمی، خوشه و فاصلهٔ میان گوشوارکی بین لاین‌های A و B مشاهده نگردید (جدول۱).




شکل ۱- تصویر نمادین یک پنجه برنج الف) در آغاز مرحله ظهور خوشه، ب) هنگامی که نیمی از خوشه خارج از غلاف برگ پرچمی است و ج) زمانی که خوشه به طور کامل از غلاف برگ پرچمی خارج شده است.

بررسی روند رشد دمگل بین لاین A و B از دو روز پیش از ظهور خوشه تا پنج روز پس از آن، حاکی از کندی قابل توجه طویل شدن دمگل لاین A نسبت به B پس از ظهور خوشه بود (شکل۲ الف) و اثر متقابل رقم در روز برای طول دمگل در سطح احتمال ۰/۱٪ معنی‌دار گردید (جدول۱). تغییرات طول دمگل در لاین‌ها بر اساس رگرسیون لوجستیک روند بسیار معنی‌داری را نشان داد. کفایت و معنی‌دار بودن مدل با استفاده از آماره آزمون F تست گردید و مقدار F برآورد شد که در سطح احتمال ۰/۱٪ معنی‌دار بود:

طول دمگل لاین A = ۲۰/۸۸ / [۱+ exp(-۰/۶۳ (X-۰/۸۷)]

F=۲۰۸۰/۴۳***

طول دمگل لاین B = ۲۹/۷۷ / [۱+ exp(-۰/۳۸ (X-۳/۱)]

F=۱۹۳۵/۹۶***

جیبرلیک اسید یک تنظیم کننده رشد گیاهی است که نقش عمده‌ای در تنظیم رشد میانگره دارد (۵، ۱۳ و ۱۶). تحقیقات نشان داده است هنگامی که بساکها به نمو کامل خود می‌رسند رونویسی تمامی ژن‌های مربوط به بیوسنتز جیبرلیک اسید در سلول‌های لایه مغذی[1] به شدت بالا می‌رود (۷). میزان GA در بساکهای برنج طبیعی یک تا دو

1 .Tapetum

روز پیش از ظهور خوشه به شدت رو به افزایش می‌گذارد (۲). اما میزان GA در برنج نرعقیم متناسب با میزان بیان ژن‌های ناباروری و رشد و نمو بساک و دانه گرده است (۲و۴). همچنین بساکها به عنوان منبعی از جیبرلیک اسید فعال برای سایر اندامهای گلی مطرح شده اند (۲۱). بنابراین احتمال می‌رود که علت رشد ناکافی دمگل در لاین نر عقیم A عدم تولید کافی جیبرلیک اسید در بساک آنها باشد.

**اثر جیبرلیک اسید بر رشد طولی دمگل‌های جدا شده**

هنگامی که دمگل‌های جدا شده در شرایط کاملاً یکسان آزمایشگاهی در آب خالص یا حاوی ۱۰۰ میکرومولار GA3 قرار گرفتند، اثر جیبرلیک اسید بر افزایش طول دمگل‌ها در سطح احتمال ۰/۱٪ معنی‌دار بود. این اثر به وضوح در هر دو لاین A و B مشاهده شده و اثر متقابل رقم در تیمار معنی‌دار نمی‌باشد (شکل۳ و جدول۲). تفاوت طول دمگل بین دو لاین در ۱۲ ساعت اول معنی‌دار بود که احتمالاً به دلیل وجود بقایای GA درونزاد[1] در لاین B است، اما پس از آن تفاوت معنی‌داری بین طول دمگل‌های دو لاین مزبور دیده نشد (جدول۲). لازم به ذکر است که به دلیل قطع نمودن دمگل، GA3 افزوده شده به محلول، تنها منبع GA برای هر دو لاین بود.

**اثر افشانه جیبرلیک اسید بر خروج خوشه در لاین A**

اثر افشانه جیبرلیک اسید بر میزان خروج خوشه از غلاف برگ پرچمی در سطح احتمال ۰/۱٪ معنی‌دار بود. این اثر به وضوح در هر دو لاین A و B مشاهده شده و اثر متقابل رقم در تیمار معنی‌دار نمی‌باشد (شکل۴ ، جدول۳). میزان خروج خوشه در لاین A با افشانه GA3 تقریباً معادل لاین B در حالت شاهد (بدون افشانه GA3) بود (شکل۴). در همه موارد، تفاوت میزان خروج خوشه بین دو لاین معنی‌دار است که بایستی به دلیل وجود GA درونزاد در لاین B باشد (جدول۳).

1 .Endogenous

جدول ۱- تجزیه واریانس برای طول خوشه، غلاف برگ پرچمی، دمگل و فاصلهٔ میان گوشوارکی در ارقام IR80151A, IR80151B، از دو روز پیش از ظهور خوشه تا پنج روز پس از آن.

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | طول خوشه | طول غلاف برگ پرچمی | طول دمگل | فاصلهٔ میان گوشوارکی |
| تکرار (بلوک) | ۹ | ۱/۳۵ | ۱/۲۹ | ۳/۳۵ | ۵/۷۹ |
| رقم | ۱ | ۲/۷۸ ns | ۰/۰۹ ns | ۲۰۰۲/۲۲*** | ۱۵/۰۷ ns |
| رقم X تکرار | ۹ | ۱/۷۴ | ۲/۶۶ | ۱/۷۳ | ۴/۵۸ |
| روز | ۷ | ۰/۶۷ ns | ۱/۳۸ ns | ۲۰۴۷/۹۳*** | ۴۳۵/۳۳*** |
| روز X رقم | ۷ | ۱/۳۸ ns | ۲/۸۷ ns | ۲۱۹/۸۹*** | ۴۲/۸۳*** |
| روز X تکرار | ۶۳ | ۲/۱۴ | ۱/۶۸ | ۳/۰۴ | ۲/۵۰ |
| خطا | ۶۳ | ۱/۷۶ | ۱/۹۳ | ۳/۵۶ | ۴/۱۴ |

ns: غیر معنی‌دار، *** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱٪

جدول ۲- تجزیه واریانس برای طول دمگل‌های جدا شده در تیمارها ($H_2O$, GA3) و ارقام مختلف (IR80151A, IR80151B) از ۰ تا ۷۲ ساعت.

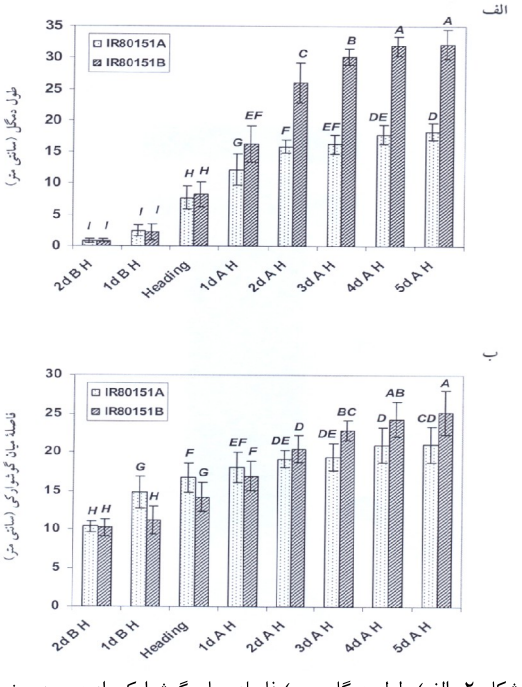
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 h | 6 h | 12 h | 24 h | 36 h | 48 h | 60 h | 72 h |
| تکرار | ۹ | ۱/۲۷ | ۰/۰۲ | ۰/۰۳ | ۰/۱۶ | ۰/۳۹ | ۰/۵۹ | ۰/۷۷ | ۰/۷۷ |
| رقم | ۱ | ۲/۱۱ ** | ۰/۸۷ ** | ۱/۵۶ ** | ۱/۴۱ ns | ۰/۳۰ ns | ۰/۹۶ ns | ۲/۰۲ ns | ۲/۱۶ ns |
| تیمار | ۱ | ۰/۱۴ ns | ۱/۱۲ *** | ۴/۴۲ *** | ۳۸/۲۲*** | ۱۲۴/۹۶*** | ۱۸۶/۶۲*** | ۲۱۰/۶۸*** | ۲۱۱/۱۴*** |
| رقم X تیمار | ۱ | ۰/۰۲ ns | ۰/۰۹ ns | ۰/۲۱ ns | ۰/۱۱ ns | ۰/۵۱ ns | ۳/۶ ns | ۵/۴۸ ns | ۵/۷ ns |
| خطا | ۲۷ | ۰/۱۵ | ۰/۰۳ | ۰/۰۶ | ۰/۳۴ | ۰/۹۵ | ۱/۱۶ | ۱/۲۴ | ۱/۲۶ |

ns: غیر معنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، *** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱٪

جدول ۳- تجزیه واریانس برای میزان خروج خوشه در ارقام (IR80151A, IR80151B) و تیمارهای مختلف (Control, GA spray) از زمان ظهور خوشه تا چهار روز پس از آن.

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Heading | 1 d A H | 2 d A H | 3 d A H | 4 d A H |
| تکرار | ۹ | ۵/۹۴ | ۱۱/۵۶ | ۱۱/۱۷ | ۹/۳۹ | ۱۰ |
| رقم | ۱ | ۵/۶۲ ns | ۵۵/۶۹ ** | ۴۸۴/۴۲ *** | ۱۱۷۹/۳۹ *** | ۱۲۹۰/۴۹ *** |
| تیمار | ۱ | ۰/۵۸ ns | ۷۲/۳۶ ** | ۴۲۹/۰۲ *** | ۷۰۳/۹۲ *** | ۷۰۷/۲۸ *** |
| رقم X تیمار | ۱ | ۱۰/۴ ns | ۲/۹۲ ns | ۵/۶۲ ns | ۲۸/۲۲ ns | ۲۹/۵۸ ns |
| خطا | ۲۷ | ۲/۷۶ | ۵/۹۸ | ۱۰/۳۲ | ۱۰/۳۲ | ۱۰/۵۷ |

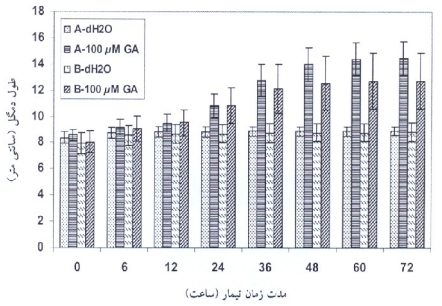
ns: غیر معنی‌دار، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، *** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱٪




شکل ۲- الف) طول دمگل و ب) فاصله میان گوشوارکی از دو روز پیش از ظهور خوشه (2d B H) تا پنج روز پس از آن (5d A H) در دو رقم IR80151A و IR80151B . گروه‌بندی اثر متقابل رقم در روز با حروف ایتالیک نمایش داده شده است. مواردی که دارای حروف مشترک می‌باشند از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند.

**اثر افشانه جیبرلیک اسید بر طول دمگل**

طول غلاف برگ پرچمی و خوشه با افشانه جیبرلیک اسید تغییری نکرد اما اثر آن بر طول نهایی دمگل و دومین میانگره به ترتیب در سطوح احتمال ۰/۱٪ و ۱٪ معنی‌دار بود (شکل۵ ، جدول۴). طول نهایی دمگل در لاین A با افشانه GA3 تقریباً معادل لاین B در حالت شاهد (بدون افشانه GA3) بود (شکل۵) که در این حالت معمولاً تمامی گلچه‌ها خارج از غلاف برگ پرچمی قرار داشتند. از آنجا که افشانه GA3 بر افزایش طول دمگل هر دو لاین مؤثر بود، پس از خروج کامل خوشه (از نوک خوشه تا آخرین گره) در لاین B بخشی از دمگل (فاصله بین بالاترین گره و گره ماقبل آن) نیز از غلاف برگ پرچمی خارج می‌شد. در گیاهان شاهد لاین A (بدون افشانه GA3) نه تنها دمگل بلکه حتی بخشی از خوشه نیز درون غلاف برگ پرچمی باقی می‌ماند. اختلاف این عامل که تحت عنوان طول خروجی دمگل[1] مطرح شده است در مورد تیمار و رقم هر دو در سطح احتمال ۰/۱٪ معنی‌دار بود (جدول۴). در مورد طول نهایی دمگل اثر متقابل رقم در تیمار معنی‌دار بود و افزایش طول دمگل در اثر افشانه GA3 در لاین B کمتر از لاین A می‌نمود (شکل۵ و جدول۴) که احتمالاً دلیل آن را می‌توان در رسیدن طول دمگل به میزان بیشینه آن و بنابراین توقف رشد جستجو نمود.




شکل ۳- اثر $GA_3$ بر رشد طولی دمگل‌های جدا شده در ارقام IR80151B و IR80151A

1. Exerted peduncle length

جدول ۴- تجزیه واریانس برای طول نهایی دومین میانگره، دمگل، غلاف برگ پرچمی، خوشه و طول خروجی دمگل در تیمارها (Control, GA spray) و ارقام مختلف (IR80151A, IR80151B)

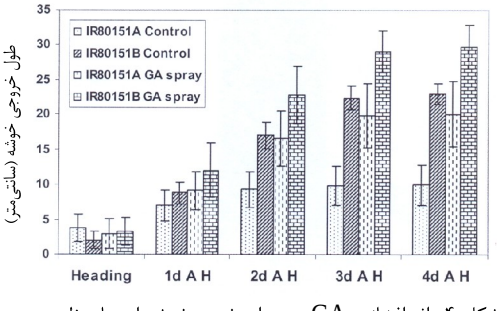
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | طول نهایی دومین میانگره | طول نهایی دمگل | طول غلاف برگ پرچمی | طول نهایی خوشه | طول خروجی دمگل |
| رقم | ۱ | ۳۴/۴۵ * | ۶۳۶/۴۵*** | ۱/۵۱ ns | ۱۰/۴۲ns | ۷۹۵/۹۹ *** |
| تیمار | ۱ | ۱۰۳۷/۴۲*** | ۶۵۹/۶۲*** | ۵/۱۹ ns | ۱/۹۹ ns | ۴۸۷/۷۳ *** |
| رقم X تیمار | ۱ | ۰/۳۹ ns | ۵۸/۰۸** | ۰/۲۱ ns | ۱۲/۳۹ ns | ۲۳/۴۳ ns |
| خطا | ۳ | ۶/۷۱ | ۶/۱۱ | ۳/۵۲ | ۲۲/۴۴ | ۶/۰۹ |

ns: غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، *** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱٪

جدول ۵- تجزیه واریانس برای طول دمگل ارقام مختلف (IR64, eui-10) از سه روز پیش از ظهور خوشه (3d B H) تا پنج روز پس از آن (4d A H) و در زمان رسیدگی (Maturity).

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 3dBH | 2dBH | 1dBH | Heading | 1dAH | 2dAH | 3dAH | 4dAH | Maturity |
| تکرار | ۹ | ۰/۱۶ | ۰/۱۳ | ۱/۱۴ | ۲/۸۱ | ۱۹/۷۵ | ۴۳/۹۹ | ۱۹/۸ | ۷/۹۷ | ۳/۷۳ |
| رقم | ۱ | ۱/۱۵ * | ۴/۰۵ ** | ۷/۳۲ * | ۱۰/۸۰ ns | ۲۹۳/۳۸** | ۲۳۵۶/۶۲*** | ۴۴۱۹/۳۶*** | ۳۹۰۸/۸۰*** | ۳۸۰۳/۲۸*** |
| خطا | ۹ | ۰/۱۷ | ۰/۲۹ | ۰/۹۷ | ۳/۱۸ | ۱۵/۳۶ | ۶/۶۱ | ۲۷/۴۷ | ۱۲/۲۳ | ۹/۶۸ |

ns: غیر معنی‌دار، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪، ** معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪، *** معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۱٪




شکل ۴- اثر افشانه $GA_3$ بر میزان خروج خوشه از زمان ظهور خوشه (Heading) تا چهار روز پس از آن (4d A H)

**نرخ بالای رشد طولی دمگل در جهش یافته‌های *eui-10***

مقایسه روند رشد دمگل بین IR64 و *eui-10* (یک جهش یافته IR64 با دمگل طویل) از سه روز پیش از ظهور خوشه تا چهار روز پس از آن و در زمان رسیدگی[1]، نشان داد که نرخ رشد طولی دمگل در جهش یافته‌های eui-10 ، بویژه پس از ظهور خوشه، بسیار بیشتر از IR64 بوده است به طوری که طول نهایی دمگل آن به حدود دوبرابر حد معمول می‌رسد (شکل۶، جدول۵). روند تغییرات طول دمگل در ارقام مورد بحث در قالب مدل رگرسیون لوجستیک بسیار معنی‌دار بود. کفایت و معنی‌دار بودن مدل با استفاده از آماره آزمون F تست گردید و مقدار F برآورد شد که در سطح احتمال ۰/۱٪ معنی‌دار بود:

IR64 طول دمگل = ۳۱/۰۹ / [۱+ exp(-۰/۸۵ ( X-۵/۱۱)]

F=۶۹۳/۹۱**

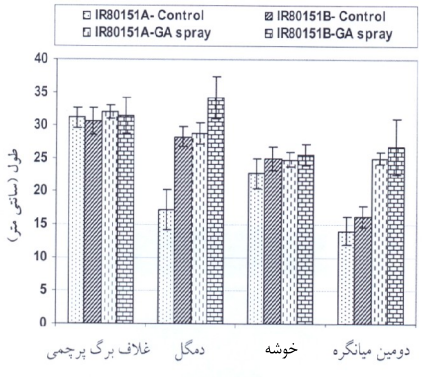
*eui-10* طول دمگل = ۵۹/۱۷/[۱+ exp(-۱/۲۹ ( X-۵/۲۶)]

F=۲۰۱۶/۹۵ ***

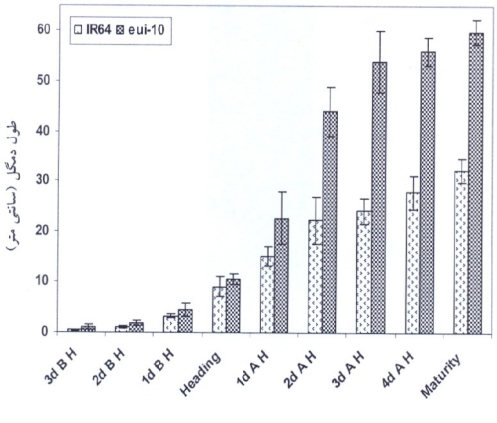
بدین ترتیب، بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش خروج ناقص خوشه در لاین نر عقیم سیتوپلاسمی (لاین IR80151A)، به دلیل کندی رشد طولی دمگل پس از ظهور خوشه است که با نتایجی که اخیراً در مورد یک لاین نر عقیم سیتوپلاسمی دیگر (لاین ZS97A) منتشر شده است (۲۴) همخوانی دارد. با توجه به این که ژنوم هسته‌ای و تمامی مشخصات از جمله نرخ رشد طولی میانگره‌ای در لاین نر عقیم سیتوپلاسمی (لاین A) پیش از ظهور خوشه با لاین بارور (لاین B) یکسان بوده، به نظر

1. Maturity

می‌رسد که کندی رشد طولی دمگل پس از ظهور خوشه در لاین A به دلیل بروز صفت نرعقیمی باشد.




شکل ۵- طول نهایی غلاف برگ پرچمی، دمگل، خوشه و دومین میانگره در گیاهان شاهد (Control) و تیمار شده با $GA_3$




شکل ۶- طول دمگل در IR64 و eui-10 از سه روز پیش از ظهور خوشه (3d B H) تا چهار روز پس از آن (4d A H) و در زمان رسیدگی (Maturity)

نقش جیبرلیک اسید بر رشد طولی دمگل با معنی‌دار بودن اثر آن بر افزایش طول دمگل‌های جدا شده اثبات گردید. همچنین افشانه جیبرلیک اسید روی لاین A موجب خروج کامل خوشه شد. این موضوع پیشنهاد می‌کند که لاین نر عقیم سیتوپلاسمی (لاین A) فاقد جیبرلیک اسید فعال کافی است. یین و همکاران نیز دریافتند که در زمان ظهور خوشه، سطح GA1 درونزاد در دمگل ZS97A تنها یک سوم ZS97B است و میزان رونوشت‌های یکی از ژن‌های دخیل در مراحل نهایی بیوسنتز GA (OsGA3ox2) در دمگل ZS97A بسیار کمتر از ZS97B می‌باشد (۲۴).

تنها روش در دسترس برای رفع مشکل عدم خروج خوشه استفاده از جیبرلیک اسید[1] است، اما افشانه جیبرلیک اسید برای کشاورزان هزینه بر بوده و موجب کاهش کیفیت بذر می‌گردد (۱، ۲۲). بنابراین یافتن یک راه حل ژنتیکی برای این مشکل می‌تواند موجب افزایش عملکرد و کاهش هزینه گردد. مطالعه روند رشد طولی دمگل در جهش یافته‌های eui-10 نشان داد که نرخ رشد طولی دمگل در این جهش یافته‌ها، بویژه پس از ظهور خوشه، بسیار بالاست. طبق نتایج منتشر شده (۹، ۲۵)، دمگل جهش یافته‌هایی با فنوتیپ مشابه (eui) حاوی مقادیر زیادی از جیبرلین‌های فعال بوده و نقش ژن جهش یافته (سیتوکروم P450 مونواکسیژناز[2])، غیر فعال سازی GA تشخیص داده شده است. از آنجایی که این جهش یافته‌ها تا زمان ظهور خوشه فنوتیپ طبیعی دارند گزینه بسیار مناسبی برای اصلاح والد نر عقیم در تولید برنج دورگه می‌باشند و انتقال این صفت می‌تواند نقص موجود در مورد میزان جیبرلیک اسید در دسترس دمگل را برطرف سازد.

## سپاسگزاری

به این وسیله از همکاری گروه برنج دورگه مؤسسه تحقیقات بین المللی برنج، جناب آقای دکتر شیه[3] و همکاران، تشکر و قدردانی می‌نماید. همچنین، از تأمین هزینه این پژوهش از محل اعتبار پروژه شناسایی ژن‌های دخیل در ناموفق بودن تشکیل بذر برنج و گندم در شرایط تنش خشکی[4] و پروژه مشترک ایران و IRRI [5]، و پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی که بستر لازم جهت این پژوهش را فراهم آورده است، کمال تشکر و سپاسگزاری را دارد.

1 .GA3
2 .Cytochrome P450 monooxygenase
3. Dr Fangming Xie
4 .Grant Identifying Genes Responsible for ailure of Grain Formation in Rice and Wheat under Drought from the Generation Challenge Program
5 .Grant from the Iran-IRRI Collaborative Project

**REFERENCES**


1. Gangashetti, M.G., K.K. Jena, V.V. Shenoy & W.H. Freeman, 2004. Inheritance of elongated uppermost internode and identification of RAPD marker linked to eui gene in rice. Current Science, 87 (4): 469-475.
2. Hasegawa, M., M. Nakajima, K. Takeda, I. Yamaguchi & N. Murofushi. 1995. Endogenous levels of gibberellins in normal and male-sterile anthers of rice (*Oryza sativa* cv. Nihonmasari). Biosci. Biotechnol. Biochem. 59: 1716-1720.
3. Hoan, N.T. & N.H. Nghia. 2003. Development and use of hybrid rice in Vietnam. In: Virmani SS, Mao CX, Hardy B, editors. Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection. Proceedings of the 4th International Symposium on Hybrid Rice, 14- 17 May 2002, Hanoi, Vietnam. Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute. P. 357-371.
4. Honda, I., S. Iwasaki, K. Sudo, H. Kato, K. Maruyama, M. Hasegawa, I. Yamaguchi, N. Murofushi, T. Yanagisawa & N. Takahashi. 1997. Semi quantification of gibberellins in the anthers of thermosensitive genetic male sterile rice (*Oryza sativa* L. cv. PL12). Biosci. Biotechnol. Biochem. 61(10): 1748-1750.
5. Hooley, R. 1994. Gibberellins: perception, transduction and responses. Plant Mo1. Biol. 26: 1529-1555.
6. Julfiquar, A.W. & S.S. Virmani. 2003. Research and development of hybrid rice in Bangladesh. In: Virmani SS, Mao CX, Hardy B, Editors. Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection. Proceedings of the 4th International Symposium on Hybrid Rice, 14-17 May 2002, Hanoi, Vietnam. Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute. p 235-245.
7. Kaneko, M., H. Itoh, Y. Inukai, T. Sakamoto, M. Ueguchi-Tanaka, M. Ashikari & M. Matsuoka. 2003. Where do gibberellin biosynthesis and gibberellin signaling occur in rice plants? Plant J. 35(1): 104-15.
8. Lin, S.C. & L.P. Yuan. 1980. Hybrid rice breeding in China. In: Innovative approaches to rice breeding. Manila (Philippines): International Rice Research Institute. p 35-51.
9. Luo, A., Q. Qian, H. Yin, X. Liu, C. Yin, Y. Lan, J. Tang, Z. Tang, S. Cao, X. Wang, K. Xia, X. Fu, D. Luo, & C.Chu. 2006. EUI1, encoding a putative cytochrome P450 monooxygenase, regulates internode elongation by modulating gibberellin responses in rice. Plant Cell Physiol. 47(2): 181-191.
10. Ma, G.H. & L.P. Yuan. 2003. Hybrid rice achievements and development in China. In: Virmani SS, Mao CX, Hardy B, editors. Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection. Proceedings of the 4th International Symposium on Hybrid Rice, 14-17 May 2002, Hanoi, Vietnam. Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute. p. 247-257.
11. Mishra, B., B. C. Viraktamath, M. Ilyas Ahmed, M.S. Ramesha, & C.H. Vijayakumar. 2003. Hybrid rice research and development in India. In: Virmani S.S., Mao C.X., Hardy B., editors. Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection. Proceedings of the 4th International Symposium on Hybrid Rice, 14- 17 May 2002, Hanoi, Vietnam. Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute. p. 265-283.
12. Redo?a, E.D., F.M. Malabanan, M.G. Gaspar, J.C. De Leon & L.S. Sebasti?n. 2003. Hybrid rice development and use in the Philippines, 1998-2001. In: Virmani S.S., Mao C.X., Hardy B, editors. Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection. Proceedings of the 4th International Symposium on Hybrid Rice, 14-17 May 2002, Hanoi, Vietnam. Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute. p. 381-401.
13. Ross, J.J., I.C. Murfet & J.J. Reid. 1997. Gibberellin mutants. Physiol. Plant. 100: 550-560.
14. Rutger, J.N. & H.I., Carnahan. 1981. A fourth genetic element for facilitating hybrid seed production in cereals – a recessive tall in rice. Crop Sci., 21: 373–376.
15. Shen, Z.T., Yang, C.D., He, Z.H. 1987. Studies on eliminating panicle enclosure in WA type MS line of rice Oryza sativa subsp. indica. Chinese Journal of Rice Science. 1: 95–99.

16. Swain, S.M. & E. Olszewski Neil. 1996. Genetic analysis of gibberellin signal transduction. Plant Physiol. 112: 11-17.
17. Virmani, S.S. 2003. Advances in hybrid rice research and development in the tropics. In: Virmani, S.S. and Mao, C.X., Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute. pp. 7-20.
18. Virmani, S.S. and I.B. Edwards. 1983. Current status and future prospects for breeding hybrid rice and wheat. Adv. Agron., 36: 145–214.
19. Virmani, S.S., R.C. Aquino & G.S. Khush. 1982. Heterosis breeding in rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 63: 373-380.
20. Virmani, S.S., Z.X. Sun, T.M. Mou, A. Jauhar Ali & C.X. Mao. 2003. Two-line hybrid rice breeding manual. Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute. 88 p.
21. Weiss, D., A. Van Der Luit, E. Knegt, E. Vermeer, J.N.M. Mol & J.M. Kooter. 1995. Identification of endogenous gibberellins in petunia flowers. Plant Physiol. 107: 695-702.
22. Yang, R.C., R. Huang, Q. Zhang, S. Zhang, and K. Liang. 2000. Developing eui-cytoplasmic male sterile lines and applying them in hybrid rice breeding. Los Ba?os (Philippines): International Rice Research Institute Newsl., 25: 11–12.
23. Yang, R.C., Zhang, S.B., Huang, R.H., Yang, S.L., Zhang, Q.Q. 2002. Breeding technology of eui hybrids of rice. Scientia Agricultura Sinica. 35: 233–237.
24. Yin, C., Gan, L., Ng, D., Zhou, X., Xia, K. 2007. Decreased panicle-derived indole-3-acetic acid reduces gibberellin A1 level in the uppermost internode, causing panicle enclosure in male sterile rice Zhenshan 97A. J Exp Bot.: 1-9.
25. Zhu, Y., T. Nomura, Y. Xu, Y. Zhang, Y. Peng, B. Mao, A. Hanada, H. Zhou, R. Wang, P. Li, X. Zhu, L.N. Mander, Y. Kamiya, S. Yamaguchi & Z. He. 2006. Elongated uppermost internode encodes a cytochrome P450 monooxygenase that epoxidizes gibberellins in a novel deactivation reaction in rice. Plant Cell. 18(2): 442-56.