Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 52, No 1, Sprig 2021 (87-99)
DOI: 10.22059/ijfcs.2020.289508.654644

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۱، بهار ۱۴۰۰ (ص۹۹-۸۷)

ارزیابی توانمندی ژنوتیپ‌های بازگردان باروری کلزا (*Brassica napus*) در دو سامانه نرعقیمی اوگورا و پولیما

غلامرضا قدرتی[۱]، ولی اله محمدی*[۲]، حسن زینالی خانقاه[۳]، علیرضا شافعی نیا[٤]

۱- محقق، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، دزفول، ایران، ۲و۳- دانشیار و استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ٤- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۱۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳)

چکیده

وجود لاین بازگردان باروری کارآمد، یکی از اجزای ضروری تولید بذر هیبرید در کلزا است. هدف از این مطالعه، ارزیابی قدرت بازگردانندگی باروری در تعدادی از ژنوتیپ‌های بارور کلزا با استفاده از روش آمیزش آزمون بود. مواد گیاهی حامل ژن بازگردان باروری شامل چهار لاین (دو پولیما و دو اوگورا)، هفت هیبرید کلزا، ١٤ ژنوتیپ امید بخش بارور و ٤٠ تک بوته انتخابی بارور از نسل F_2 دو هیبرید تجاری هایولا ٤٠١ و٥٠ کلزا بودند. مواد گیاهی نرعقیم شامل سه لاین (دو پولیما و یک اوگورا) و بوته‌های نرعقیم مشاهده شده در نسل F_2 هیبرید هایولا ٤٠١ بودند. تمام مواد گیاهی در شرایط گلخانه کشت شدند و تلاقی، بین ژنوتیپ‌های بارور با ژنوتیپ‌های نرعقیم انجام گرفت. نتاج حاصل از نظر تعداد بوته‌های بارور و عقیم، تراکم، شکل و طول خورجین و تعداد دانه در خورجین در مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفتند. مقایسه نسبت تعداد بوته‌های بارور به عقیم، توارث تک ژنی صفت نرباروری و همچنین وابستگی شدید بین ماهیت سیتوپلاسم والد مادری نرعقیم و ژن مسئول باروری در والد پدری را نشان داد. گل‌ها در ژنوتیپ‌های حامل ژن بازگردان باروری، علاوه بر کیسه‌های گرده توسعه یافته، دارای پایه‌های پرچم بلند و گلبرگ‌های صاف و بزرگ بودند. بر اساس خلوص ژن باروری و میانگین خصوصیات ثبت شده، ژنوتیپ های امید بخش R'1/1, R'4/2 و R'2/1 به‌عنوان لاین‌های بازگردان باروری مطلوب در سامانه پولیما انتخاب شدند. نتایج نشان داد که هیبریدهای هایولا ٤٠١ و ٣٠٨ در سامانه پولیما و هایولاهای ٤٨١٥، ٥٠،٦٠ و ٧٦ در سامانه اوگورا برای استخراج لاین بازگردان باروری از نسل F_2 مناسب هستند. از میان ژنوتیپ‌های بارور انتخابی نسل F_2، شماره‌های دو، سه و ١٩ از هیبرید هایولا ٤٠١ (سامانه پولیما) و شماره‌های چهار، شش، هشت، ١١، ١٢، ١٣ و ١٥ از هیبرید هایولا ٥٠ (سامانه اوگورا) برای ادامه خودگشنی و تهیه لاین بازگردان باروری خالص مناسب تشخیص داده شدند.

واژه‌های کلیدی: باروری، سیتوپلاسمی، کلزا، لاین، نرعقیمی، هیبرید.

Fertility restoring potential of rapeseed (*Brassica napus*) genotypes in Ogura and Polima CMS systems

Gholamreza Ghodrati[1], Valiollah Mohammadi*[2], Hasan Zainali Khanghah[2], Ali Reza Shafeinia[3]

1. Seed and Plant Improvement Research Institute, Agricultural Research and Education Organization, Dezful, 2. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 3. Department of Agronomy and Plant Breeding, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan.
(Received: October 3, 2019 - Accepted: February 12, 2020)

ABSTRACT

Effective fertility restorer line is one of the essential components of hybrid seed production in rapeseed. The aim of this study was to evaluate the fertility restoring ability in a number of genotypes of rapeseed via test cross. Plant material carrying the fertility restorer gene (Rf) consisted of four lines (two Polima and two Ogura), seven rapeseed hybrids, 14 candidate promising fertile lines and 40 fertile plants selected from F_2 populations of two rapeseed hybrids. Cytoplasmic male sterile (CMS) plant material consisted of three lines (two Polima and one Ogura) and sterile plants observed in F_2 generation of a hybrid with Polima system. Crosses between fertile and male sterile genotypes were made. The progenies were planted in the field and number of fertile and sterile plants, pod density, shape andlength and number of seeds per pod were evaluated. Number of fertile to infertile plants ratio confirmed monogenic inheritance of fertility restoration and a strong relation between the male sterility system and Rf gene in parent. Genotypes carrying Rf gene had larger anthers, longer filament and bigger petals than sterile plants flowers. Based on homozygosity of fertility gene and the traits studied, promising genotypes of R'1.1, R'4.2 and R'2.1 were selected as effective restorer lines in Polima system.

Keywords: Canola, hybrid, line, male sterility, Restorer.

* Corresponding author E-mail: vmohammadi@ut.ac.ir

مقدمه

در حال حاضر، روغن و دانه های روغنی یکی از اقلام عمده وارداتی کشور ایران می‌باشند و میزان خودکفایی کشور در این زمینه کمتر از ۱۰ درصد می‌باشد. کلزا به دلیل ویژگی‌های خاص مانند سازگاری با شرایط مختلف آب و هوایی، ارزش تناوبی بالا، دارا بودن ژنوتیپ‌های بهاره و پاییزه، عملکرد بالای روغن در واحد سطح و سایر مزایا، کلید خودکفایی نسبی در روغن خوراکی به شمار می‌آید (Mohammadi *et al.*, 2018). هتروزیس به معنای برتری دورگ نسبت به والدین، از حدود یک‌صد سال پیش در محصولات زراعی شناخته شده است. علاوه بر ذرت که هتروزیس بسیار بالایی در آن مشاهده می‌شود در گیاهان خودگشن، استفاده از هتروزیس سبب افزایش عملکرد دانه به میزان ۳/۵ الی ۱۵ درصد در گندم (*Triticum spp.*) (Longin *et al.*,2012; Whitford *et al.*, 2013)، ۱۱ درصد در جو (Longin *et al.*, 2012; Mühleisen *et al.*, 2013)، ۵۵ درصد در برنج (Chen *et al.,* 2014)، ۴۷ درصد در لوبیای معمولی (*Proteus vulgaris*) (Bohra *et al.,* 2016) و ۶۸ درصد در ارزن دم‌روباهی (*Setaria italic*) (Tester *et al.*, 2010) شده است. اگرچه در گونه‌های *Brassica napus* و *B. juncea* تا ۲۰۰ درصد هتروزیس نسبت به والدین گزارش شده است (Yamagishi *et al.*, 2014)، ولی معمولا هتروزیس اقتصادی از ۱۰-۱۵ درصد تجاوز نمی‌کند (Banga *et al.*,F 2015). در دهه‌های اخیر، وجود هتروزیس و سایر مزایای بذر F_1، شرکت های بذر را به تولید ارقام هیبرید ترغیب نموده است.

برای تولید بذر هیبرید، استفاده از یک روش کارآمد، قابل اعتماد و پایدار در تولید بذر F_1 بدون ناخالصی حاصل از خودگشنی والدین، بسیار مهم و حیاتی است. با توجه به اندازه کوچک و ساختار گل خانواده براسیکاسه، تولید تجاری بذر هیبرید بر اساس روش اخته کردن و گرده افشانی دستی همانند آن‌چه که درخانواده کدوئیان (Cucurbitaceae) انجام می‌شود، مقدور نیست. نرعقیمی ژنتیکی سیتوپلاسمی[1] یا به اختصار CMS روش پایدار و قابل اجرا برای تولید بذر F_1 در تمام محصولات براسیکا است. CMS در بیش از ۱۵۰ گونه گیاهی کشف شده است و حاصل جهش‌های خود به خودی یا مصنوعی است (Yamagishi *et al.*, 2014). نرعقیمی سیتوپلاسمی صفتی است که از والد مادری به ارث می‌رسد و توسط یک ژن واقع در میتوکندری کنترل می‌شود. در گیاهان CMS، تولید گرده مختل می‌شود، در حالی که عملکرد اندام مادگی تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. بیان ژن CMS میتوکندریایی را می‌توان با یک ژن هسته‌ای بازگردان باروری[2] (Rf)، متوقف نمود تا به گیاه اجازه تولید گرده فعال بدهد. ترکیبی از ژنوم هسته‌ای فاقد ژن Rf و یک سیتوپلاسم CMS، منجر به ناسازگاری سیتوپلاسمی ژنتیکی و تظاهر فنوتیپ CMS می‌شود (Delourme & Budar, 1999; Budar & Berthomé, 2007; Chase, 2007; Prakash *et al,.* 2009; Gabay-Laughnan & Newton, 2012).

در اغلب موارد، هر Rf به‌طور خاص در یک نوع خاص از سامانه CMS عمل می‌کند که دارای فنوتیپ منحصر به فردی است و به‌وسیله نوع خاصی از DNA میتوکندری و ژن های مرتبط با آن ایجاد می‌شود (Chen *et al.,* 2014).سامانه‌های نرعقیمی متعددی در خانواده براسیکا شناخته شده است. در حال حاضر، غالب ارقام هیبرید کلزا مورد استفاده در ایران، دارای یکی از دو سامانه نر عقیمی پولیما و یا اوگورا هستند. منشاء سامانه اوگورا در تربچه (*Raphanus sativus*) کشف شده است و به‌طور گسترده در *B. oleracea*، *B. juncea*و *B. napus* استفاده می‌شود. این سامانه CMS توسط Ogura (1968) شناسایی شد. سامانه CMS پولیما در *B. napus* یکی از نمونه‌های شناخته شده از نرعقیمی خود به خودی است (Fu, 1981; Liu *et al.*, 1987). جهت بهره‌گیری از سامانه CMS، وجود ژن Rf مناسب در والد پدری هیبریدکه قادر به القا نرباروری به نتاج باشد ضروری است تا از تولید مقدار مناسب دانه برای کشاورزان اطمینان حاصل شود. ژن Rf برای انواع سیتوپلاسم‌های نرعقیم درون گونه‌ای، معمولا در میان

[1] Cytoplasmic male sterility

[2] Restorer fertility

لاین‌های ژرم پلاسم آن گونه‌ها یافت می‌شود. برای لاین‌های CMS به دست آمده از دورگ‌گیری سوماتیکی، ژن Rf معمولا در گونه‌های گیرنده یافت نمی‌شود و نیاز به استفاده از ژن‌های گونه‌ای است که اهدا کننده سیتوپلاسم بوده است. انتقال ژن Rf به گونه‌های زراعی براسیکا CMS مانند انتقال ژن Rf به گونه‌های زراعی، از گونه‌های اهداکننده CMS مانند *Raphanus sativus* (Heyn, 1976)، *Trachystoma ballii* (Kirti *et al.*,1997)، *Moricandia arvensis* (Kirti *et al.*, 1998)، *Erucastrum canariense* (Prakash *et al.*, 2001)، *Enarthrocarpus lyratus* (Banga *et al.*, 2003) و *Brassica tournefortii* (Janeja *et al.*, 2003) با موفقیت انجام شده است. با کمال تعجب، یک ژن Rf از *M. arvensis* باروری را به سه سیتوپلاسم نرعقیم دیگر، یعنی *Diplotaxis catholica*، *D. erucoides* و *D. berthautii* باز می‌گرداند (Yamagishi *et al.*, 2014).

از مورفولوژی گل به‌عنوان معیار اصلی برای جداسازی گیاهان بارور و نرعقیم استفاده می‌شود. گل یک گیاه بازگرداننده باروری از نظر گرده (پرچم) و مادگی، مشابه با گیاه نگهدارنده باروری (کیسه‌های گرده توسعه یافته، پایه‌های پرچم بلند، گلبرگ‌های صاف و بزرگ) است، اما یک گیاه CMS، دارای غنچه‌های کوچکتر و به رنگ روشن‌تر، گلبرگ‌های کوچک‌تر و چروکیده، پرچم‌های غیرمعمول با پایه‌های کوتاه و کیسه‌های گرده توسعه نیافته فاقد دانه گرده و یا مقدار بسیار کم گرده است و مادگی، بلندتر و اغلب خمیده است (Fan *et al.*, 1986). گیاهان نرعقیم جزیی (نسبی)، دارای غنچه‌ها، گلبرگ‌ها و پرچم‌هایی با اندازه مختلف هستند که وابسته به درجه نرعقیمی است. در این خصوص Shiga (1976) با توجه به معیارهای مورفولوژیکی در گل‌های کلزا، آن‌ها را به شش کلاس تقسیم کرد. کلاس یک و دو نرعقیم کامل هستند؛ کلاس سه و چهار نسبتا نرعقیم هستند و کلاس پنج و شش، معمولی و نربارور هستند. Ahmad *et al* (2013) در مطالعه چهار جمعیت F_2 و یک جمعیت حاصل از تلاقی برگشتی با کمک آزمون کای‌اسکور نشان دادند که یک ژن غالب، وظیفه بازگرداندن باروری در کلزا را به عهده دارد . معرفی لاین بازگردان باروری به کمک انتخاب افراد بارور در نسل F_2 هیبریدهای تجاری در بنگلادش گزارش شده است (Miah *et al*., 2016). در حال حاضر، کشور ما در صنعت تولید بذر هیبرید کلزا، وابستگی کامل دارد و هر ساله هزینه‌های ارزی فراوانی جهت وارد کردن بذر هیبرید و یا والدین آن‌ها انجام می‌شود. تاکنون تلاش‌های انجام شده در موسسات تحقیقات کشاورزی کشور برای تولید لاین بازگردان باروری (R لاین) موفقیت آمیز نبوده است. مشاهده درصد قابل توجهی از بوته‌های نرعقیم در بذرهای هیبرید تولید شده داخلی، بیانگر عدم قابلیت R لاین در بازگرداندن کامل باروری است. در این آزمایش، سه هدف مورد نظر بود: الف) شناسایی لاین‌ها و ژنوتیپ‌های بازگردان باروری پرتوان در دو نوع سامانه نرعقیمی متفاوت پولیما و اوگورا، ب) معرفی منابع ژنتیکی مناسب برای استخراج R لاین از میان مواد آزمایشی F_1 و ج) بررسی ارتباط و جور شدن نوع سیتوپلاسم نرعقیم با ژن Rf در میزان باروری نتاج.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این آزمایش از نوع بهاره و دارای دو نوع سامانه نرعقیمی پولیما و اوگورا بودند. ژنوتیپ‌های نرعقیم شامل سه لاین (A80 و A125 با سامانه پولیما و A485 با سامانه اوگورا) و بوته‌های نرعقیم مشاهده شده در جمعیت نسل F_2 هیبرید هایولا۴۰۱ (A"401) بودند. ژنوتیپ‌های نربارور شامل چهار لاین بازگردان (R45 و R250 با سامانه پولیما، R625 و R624 با سامانه اوگورا)، هفت هیبرید کلزا شامل F_1 هایولاهای ۴۰۱، ۳۰۸، ۴۲۰، ۴۸۱۵، ۵۰،۶۰ و ۷۶ ، دو جمعیت بوته‌های بارور نسل F_2 هایولا ۴۰۱ (نماینده سامانه پولیما) و هایولا ۵۰ (نماینده سامانه اگرا) و ۱۴ ژنوتیپ امید بخش بازگردانی باروری کلزا بودند. این ژنوتیپ‌های امید بخش تهیه شده از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد دزفول، حاصل انتخاب و خودگشنی متوالی بوته های بارور مشاهده شده در جمعیت‌های F_2 هیبریدهای تجاری (شامل هایولا ۳۰۸، ۴۰۱ و ۴۲۰) بودند که امید می‌رفت تا قابلیت بازگردانی باروری داشته باشند. تمام مواد گیاهی، ابتدا در سینی نشا با شرایط دمایی و نوری

مناسب (۱۶/۸ شب/روز و دمای ۲۵/۱۸ درجه سانتی‌گراد با شدت نور ۱۲۵۰۰ لوکس) کشت شدند و پس از ۴۰ روز، نشاها به گلدان پلاستیکی با ابعاد (۱۵×۳۵) منتقل شدند و در محیط گلخانه شیشه‌ای مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد دزفول قرار داده شدند. با استفاده از یک کولر آبی، شرایط دمایی و رطوبت مناسب رشد کلزا فراهم شد. خاک گلدان به نسبت مساوی شامل خاک رس، ماسه و کود دامی پوسیده شده بود. در طی دوره رشد و به فاصله هر دو هفته یک‌بار در زمان آبیاری، از محلول دو در هزار کودهای کامل استفاده شد. از هر لاین خالص نرعقیم، لاین رستورر، هیبرید F_1، جمعیت F_2 و ژنوتیپ امید بخش کلزا، به ترتیب ۳۰، شش، ۱۰، ۸۰ و شش بوته (متناسب با مقدار نیاز) نگهداری شد. به جز لاین‌های خالص بارور و هیبریدهای F_1، برای حفظ یکنواختی ژنتیکی والد پدری در تلاقی‌ها، از هر ژنوتیپ امید بخش کلزا، یک بوته و از هر جمعیت F_2، تعداد ۲۰ بوته بارور انتخاب شدند و علاوه بر خودگشن کردن، در تمام دوره تلاقی، از آن‌ها به‌عنوان نماینده ژنوتیپ امید بخش کلزا و جمعیت‌های F_2 استفاده شد. در زمان مناسب، تلاقی بین ژنوتیپ‌های نرعقیم با ژنوتیپ‌های بارور (شامل چهار لاین بازگردان باروری، هفت هیبرید F_1، ۴۰ بوته بارور انتخابی از F_2ها و ۱۴ ژنوتیپ امید بخش کلزا در مجموع ۶۵ ژنوتیپ بارور) انجام شد. تمامی نتاج حاصل از تلاقی‌ها، جمع‌آوری و در مزرعه موسسه تحقیقات و اصلاح نهال و بذر واقع در شهرستان کرج کشت شدند و مورد ارزیابی فنوتیپی قرار گرفتند. تراکم نسبی، خورجین و طول خورجین و تعداد دانه تولید شده در خورجین نتاج، به‌عنوان صفت‌های مرتبط با باروری ثبت شد. برای امتیاز دادن به تراکم نسبی خورجین، عدد نه برای تیمارهای با حداکثر تراکم خورجین و عدد یک برای تیمارهای با حداقل تراکم مشاهده شده در نظر گرفته شد. مقیاس امتیاز دادن شکل خورجین، به‌ترتیب شکل ۱ بود که به نتاج دارای خورجین با دانه بندی کامل، عدد نه و به نتاج بدون تشکیل خورجین، امتیاز یک داده شد. (Lobos-Sujo *et al.*, 2016).

شکل ۱- مقیاس شکل خورجین.

Figure 1. Rating scale of pod shape.

همچنین از صفات کمی طول و تعداد دانه در خورجین، به‌عنوان آماره‌های دیگر باروری استفاده شد. به این منظور، از درون نتاج هر ترکیب، هشت بوته به تصادف انتخاب شدند و از قسمت پایین محور گل‌دهنده اصلی هر کدام آن‌ها، پنج خورجین (جمعاً ۴۰ خورجین) برداشت و نگهداری شدند و از متوسط طول هشت خورجین تصادفی، برای ثبت خصوصیت طول خورجین استفاده شد. سپس بذر تمام خورجین‌های برداشت شده پس از جداسازی، شمارش شدند و میانگین تعداد دانه در خورجین ثبت شد. بر اساس خصوصیات فنوتیپی اندام‌های گل از قبیل شکل گلبرگ‌ها، موقعیت کیسه‌های گرده نسبت به سطح مادگی، طول میله‌های پرچم و وجود گرده، تعداد بوته‌های بارور و نرعقیم در هر ترکیب ژنتیکی شمارش شد. وضعیت باروری بر اساس مورفولوژی گل و همچنین بساک تولید کننده گرده با استفاده از مشاهده دقیق پنج گل در بوته،

حداقل دو بار در طول دوره گلدهی ارزیابی شد (Jean *et al.*, 1997). مرحله اول آزمایش (انجام تلاقی) از شهریور تا اسفند سال ۱۳۹۶ در گلخانه مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد دزفول (عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۶ دقیقه طول شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۸۲/۹ متر) و مرحله دوم آزمایش (ارزیابی نتاج)، از فروردین تا مرداد سال ۱۳۹۷ در مزرعه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۶ دقیقه شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۲۱ متر) انجام شد. همچنین بذرهای حاصل شده از خودگشنی بوته‌های انتخابی بارور از جمعیتهای F_2 و ژنوتیپ‌های امید بخش، در پاییز سال ۱۳۹۷ در مزرعه‌ای واقع در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی‌آباد دزفول کشت شدند و خلوص ژن باروری در آن‌ها بر اساس وجود یا عدم وجود بوته نرعقیم، مورد ارزیابی قرار گرفت. نسبت بین تعداد بوته‌های بارور و نرعقیم مشاهده شده با مورد انتظار در آن‌ها، به کمک آزمون کای‌اسکور مورد مقایسه قرار گرفت (Ahmad *et al.*, 2013). نتاج حاصل از تلاقی، بر اساس نوع والد پدری، در سه گروه (لاین خالص با F_1 ها، ژنوتیپ‌های امید بخش و ژنوتیپ‌های بارور انتخابی در نسل F_2) دسته بندی شدند. با توجه به مشترک بودن والد مادری در تمام نتاج، سه والد مادری (در سامانه پولیما) به‌عنوان سه تکرار در نظر گرفته شدند. تجزیه واریانس نتاج حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های بازگردان باروری با ژنوتیپ‌های نرعقیم، با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام شد و میانگین‌ها با روش چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث

تعداد بوته نرعقیم جمعیت F_2 هایولا ۴۰۱ در شرایط گلخانه حدود ۲۵ درصد بود (۱۹ بوته نرعقیم از کل ۸۰ بوته کشت شده)، ولی در جمعیت F_2 هایولا ۵۰، فقط یک بوته نرعقیم در میان ۸۰ بوته کشت شده مشاهده شد که با مقدار نظری مورد انتظار (۲۵ درصد) بسیار تفاوت داشت که از لحاظ آماری می‌تواند نتیجه کم بودن تعداد نمونه باشد.

بررسی نسبت بوته‌های بارور و نرعقیم مشاهده شده با مورد انتظار در نتاج کشت شده در مزرعه کرج، پس از انجام آزمون کای اسکور، توارث تک ژنی صفت باروری در کلزا را تایید کرد (جدول ۱). این موضوع توسط Ahmad *et al.* (2013) نیز گزارش شده است. همچنین بررسی وضعیت باروری نتاج در مزرعه تایید کرد که هیبرید هایولاهای ۴۰۱، ۳۰۸ و ۴۲۰ حامل ژن بازگردان باروری پولیما و هیبرید هایولاهای ۴۸۱۵، ۵۰ و ۷۶ حامل ژن بازگردان باروری از نوع اوگورا بودند (جدول ۱). رفتار هیبرید هایولا ۶۰ با بقیه هیبریدها متفاوت بود، به‌طوری‌که نتاج حاصل از تلاقی آن با لاین A80 و A485، از نسبت ۱:۱ (نرعقیم : بارور) تبعیت میکردند (جدول ۱). از آن‌جا که نوع سامانه نرعقیمی در لاین‌های A485 و A80 به‌ترتیب از نوع اوگورا و پولیما است، می‌توان بیان داشت که احتمالاً لاین پدری هیبرید هایولا ۶۰، قابلیت بازگرداندن باروری به هر دو سامانه نرعقیمی پولیما و اوگورا را دارد. مشابه این موضوع توسط Yamagishi (2014) گزارش شده است. از این ویژگی هایولا ۶۰ می‌توان همانند یک حلقه میانی برای ایجاد نوترکیبی ژنتیکی بین ژرم پلاسم‌های دو سامانه پولیما و اوگورا استفاده کرد (حالتی مشابه با تلاقی سه جانبه). تلاقی لاین‌های بازگردان باروری R625 و R624 (دارای ژن Rf اوگورا)، فقط با لاین A485 (با سامانه نر عقیمی اوگورا) تولید نتاج کاملاً بارور کرد و لاین‌های بازگردان باروری R45 و R250 (دارای ژن Rf پولیما) نیز فقط با لاین‌های A80 و A125 (با سامانه نرعقیمی پولیما) نتاج کاملاً بارور تولید کردند (جدول ۱).

مشاهده ناباروری کامل نتاج، در حالتی که هر دو والد تلاقیبه صورت لاین ولی با سامانه‌های باروری و نرعقیمی متفاوت بودند، دلالت بر وابستگی شدید ژن بازگردان باروری و نوع سامانه نر عقیمی دارد. این موضوع توسط Bosacchi *et al.* (2015) نیز گزارش شده است. بر اساس مشاهدات این تحقیق، در نتاج حاصل از تلاقی بین ۴۰ بوته بارور انتخابی از جمعیت‌های نسل F_2 هایولا ۴۰۱ و ۵۰ با لاین‌های نرعقیم A80، A125، A485 و A"401، وابستگی بین ژن Rf و نوع سامانه

جدول ۱- آزمون نسبت بوته‌های بارور و نرعقیم در نتاج حاصل از تلاقی لاین‌های نرعقیم با لاین‌ها و هیبریدهای نربارور.

Table 1. Ratio of fertile to male sterile plants in progenies of male sterile lines ×fertile lines and hybrids.

Female	A401				A308				A50			
	No. of plants		F:S ratio	χ^2	No. of plants		F:S ratio	χ^2	No. of plants		F:S ratio	χ^2
male	MF	MS			MF	MS			MF	MS		
R250	35	0	1:0	0.00^{ns}	55	0	1:0	0.00^{ns}	0	57	1:0	57.00^{**}
R45	47	0	1:0	0.00^{ns}	36	0	1:0	0.00^{ns}	0	47	1:0	47.00^{**}
R625	0	46	1:0	46.00^{**}	0	44	1:0	44.00^{**}	61	0	1:0	0.00^{ns}
R624	0	39	1:0	39.00^{**}	0	42	1:0	42.00^{**}	59	0	1:0	0.00^{ns}
F1/401	20	12	1:1	1.00^{ns}	29	24	1:1	0.24^{ns}	0	53	1:1	26.50^{**}
F1/308	23	15	1:1	0.84^{ns}	33	20	1:1	1.59^{ns}	0	47	1:1	23.50^{**}
F1/420	19	17	1:1	0.06^{ns}	19	30	1:1	1.23^{ns}	0	50	1:1	25.00^{**}
F1/4815	0	37	1:1	18.50^{**}	0	41	1:1	20.50^{**}	28	22	1:1	0.36^{ns}
F1/50	0	35	1:1	17.50^{**}	0	39	1:1	19.50^{**}	29	20	1:1	0.83^{ns}
F1/76	0	42	1:1	21.00^{**}	0	47	1:1	23.50^{**}	32	26	1:1	0.31^{ns}
F1/60	0	45	1:1	22.50^{**}	34	22	1:1	1.29^{ns}	27	35	1:1	0.52^{ns}

نرعقیمی مجدداً مورد تایید قرار گرفت. لازم به ذکر است که در تک بوته‌های بارور انتخابی از نسل F2 هایولا ۵۰، دو مورد متفاوت (R″10/50 و R″12/50) مشاهده شد، به‌طوری‌که تلاقی آن‌ها با ژنوتیپ‌های نرعقیم سامانه پولیما، نتاج بارور تولید کرد (جدول ۲). بنابراین احتمالاً وابستگی بین ژن Rf و CMS در مواردی که هر دو و یا یکی از والدین تلاقی به صورت ناخالص باشند (مثل بوته‌های هتروزیگوت نرعقیم وبارور انتخابی از نسل F_2)، تا حدودی تضعیف می‌شود و احتمال باروری محدود به وجود خواهد آمد. این نتیجه می‌تواند بیانگر تغییرات ژنتیکی همچون جهش، حذف، اضافه و یا مضاعف شدن در ژن بازگردان باروری باشد که باعث تظاهر باروری در نتاج می‌شود. مشابه با این موضوع توسط Kim *et al.* (2018) نیز گزارش شده است. این ویژگی می‌تواند در تولید نوترکیب‌های جدید ژنتیکی از سامانه نرعقیمی پولیما و اوگورا مورد استفاده قرار گیرد. از طرف دیگر، درصد بوته‌های بارور و نرعقیم، گویای وضعیت هموزیگوس و یا هتروزیگوس بودن تک بوته‌های انتخابی از نظر ژن بازگردان باروری است، به‌طوری‌که به‌طوری‌کهبر اساس نتایج جدول ۲، در تک بوته‌های انتخابی بارور از جمعیت‌های F_2 هایولا ۴۰۱ و ۵۰، به‌ترتیب هشت و یک بوته در مکان ژنی Rf هموزیگوس بودند. با کشت نسل S_2 (نسل خودگشنی دوم) تک بوته‌های بارور انتخاب شده در مزرعه (پاییز سال ۱۳۹۷) و بررسی وضعیت باروری نتاج آن‌ها، نتایج جدول ۲ مورد تایید قرار گرفت (جدول ۳). در این حالت، مشاهده حتی یک بوته نرعقیم در نتاج حاصل از خودگشنی، به مفهوم هتروزیگوس بودن مکان ژنی Rf در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که محدودیت در تعداد بوته‌های کشت شده، مانع از تظاهر صفت نرعقیمی در نتاج تعدادی از آن‌ها شده بود.

همچنین بررسی نسبت افراد بارور و نرعقیم در نتاج حاصل شده از تلاقی بین ۱۴ ژنوتیپ امید بخش بارور با ژنوتیپ‌های نرعقیم، ضمن تایید پولیما بودن ژن باروری در آن‌ها، بیانگر هموزیگوس و هتروزیگوس بودن مکان ژنی Rf، به‌ترتیب در هفت و شش ژنوتیپ امید بخش بود (جدول ۴).

نتاج مربوط به یک ژنوتیپ امید بخش (R´8/1) در تمام تلاقی‌ها به‌صورت کاملاً نرعقیم مشاهده شد. اطلاعات ثبت شده مربوط به فنولوژی گل‌ها در این ژنوتیپ، بیانگر وجود کیسه‌های گرده مناسب ولی با پایه‌های پرچم کوتاه بود (شکل ۲).

بنابراین به نظر می‌رسد که حضور ژن مربوط به میله‌های پرچم بلند، نقش موثری در عمل ژن Rf دارد؛ به عبارت دیگر، فنوتیپ میله‌های پرچم بلند در والد پدری، همبستگی خوبی با قابلیت و توان ژن بازگردان باروری در والد پدری دارد. بنابراین حذف و یا نقص در هر کدام از خصوصیات مطلوب باروری در والد بازگردان باروری کلزا (شامل میله پرچم بلند، کیسه‌های گرده توسعه یافته و مقدار گرده تولید شده) می تواند باعث بروز نرعقیمی کامل و یا ناقص در نتاج شود (Shiga, 1976).

جدول۲ - درصد بوته‌های بارور و نرعقیم مشاهده شده در نتاج حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های نرعقیم با بوته‌های بارور F_2

Table 2. Percentage of fertile and sterile plants in the progenies of sterile genotypes × fertile F2 plants.

CMS		A125		A80		A485		A"401	
F_2 generation	Single plant	MF%	MS%	MF%	MS%	MF%	MS%	MF%	MS%
401	R" 1/401	100	0	100	0	0	100	---	---
	R" 2/401	100	0	100	0	0	100	100	0
	R" 3/401	56	44	48	52	0	100	50	50
	R" 4/401	54	46	60	40	0	100	55	45
	R" 5/401	55	45	53	48	0	100	55	45
	R" 6/401	47	53	54	46	0	100	49	51
	R" 7/401	56	44	56	44	0	100	53	47
	R" 8/401	53	47	47	53	0	100	49	51
	R" 9/401	53	47	47	53	0	100	49	51
	R"	56	44	50	50	0	100	47	53
	R"	100	0	100	0	0	100	100	0
	R"	53	47	47	53	0	100	55	45
	R"	100	0	100	0	0	100	100	0
	R"	53	47	53	47	0	100	55	45
	R"	54	46	53	47	0	100	47	53
	R"	50	50	54	46	0	100	52	48
	R"	100	0	100	0	0	100	100	0
	R"	100	0	100	0	0	100	100	0
	R"	100	0	100	0	0	100	100	0
	R"	100	0	48	52	0	100	100	0
50	R" 1/50	0	100	0	100	55	45	0	100
	R" 2/50	0	100	0	100	50	50	0	100
	R" 3/50	0	100	0	100	52	48	0	100
	R" 4/50	0	100	0	100	39	61	0	100
	R" 5/50	0	100	0	100	51	49	0	100
	R" 6/50	0	100	0	100	49	51	0	100
	R" 7/50	0	100	0	100	47	53	0	100
	R" 8/50	0	100	0	100	48	52	0	100
	R" 9/50	0	100	0	100	50	50	0	100
	R" 10/50	5	95	0	100	100	0	8	92
	R" 11/50	0	100	0	100	56	44	0	100
	R" 12/50	6	94	38	63	54	46	20	80
	R" 13/50	0	100	0	100	53	47	0	100
	R" 14/50	0	100	0	100	55	45	0	100
	R" 15/50	0	100	0	100	52	48	0	100
	R" 16/50	0	100	0	100	48	52	0	100
	R" 17/50	0	100	0	100	53	47	0	100
	R" 18/50	0	100	0	100	46	54	0	100
	R" 19/50	0	100	0	100	50	50	0	100
	R" 20/50	0	100	0	100	51	49	0	100

MF: درصد نر بارور، MS: درصد نر عقیم.

MF%= percentage of fertile plant, MS%= percentage of sterile plant

جدول ۳- وضعیت باروری در نتاج حاصل از خودگشنی لاین‌های امید بخش و تک بوته‌های بارور F_2.

Table 3. Fertility in selfings of promising lines and fertile F2 plants.

Selfings of Promising lines	Fertility	S_2 of Hyola 401	Fertility	S_2 of Hyola 50	Fertility
R′ 1/1	F	R″ 1/401	F	R″ 1/50	FS
R′ 2/1	F	R″ 2/401	F	R″ 2/50	FS
R′ 4/2	F	R″ 3/401	FS	R″ 3/50	FS
R′ 6/1	FS	R″ 4/401	FS	R″ 4/50	FS
R′ 7/1	F	R″ 5/401	FS	R″ 5/50	S
R′ 8/1	S	R″ 6/401	F	R″ 6/50	FS
R′ 9/1	FS	R″ 7/401	F	R″ 7/50	FS
R′ 10/1	F	R″ 8/401	FS	R″ 8/50	FS
R′ 11/2	F	R″ 9/401	F	R″ 9/50	F
R′ 12/1	FS	R″ 10/401	FS	R″ 10/50	F
R′ 14/1	F	R″ 11/401	F	R″ 11/50	FS
R′ 15/1	F	R″ 12/401	FS	R″ 12/50	FS
R′ 16/1	F	R″ 13/401	F	R″ 13/50	FS
R′ 17/1	F	R″ 14/401	FS	R″ 14/50	FS
---	---	R″ 15/401	FS	R″ 15/50	FS
---	---	R″ 16/401	S	R″ 16/50	FS
---	---	R″ 17/401	F	R″ 17/50	FS
---	---	R″ 18/401	F	R″ 18/50	FS
---	---	R″ 19/401	F	R″ 19/50	FS
---	---	R″ 20/401	F	R″ 20/50	F

F: کاملا بارور، S: کاملا عقیم، FS: ترکیب بارور و عقیم.

F=completely fertile, S=completely sterile, FS= mixture of fertile and sterile.

جدول ۴. درصد بوته‌های نربارور و نرعقیم در نتاج حاصل از تلاقی لاین‌های امید بخش با والدهای نرعقیم.

Table 4. Percentage of fertile and sterile plants in the progenies of promising lines× sterile parents.

CMS	A125		A80		A485		A"401	
Single plant fertile	MF%	MS%	MF%	MS%	MF%	MS%	MF%	MS%
R′ 1/1	100	0	100	0	0	100	100	0
R′ 2/1	100	0	100	0	0	100	100	0
R′ 4/2	100	0	100	0	0	100	100	0
R′ 6/1	56	44	57	43	0	100	53	47
R′ 7/1	100	0	100	0	0	100	100	0
R′ 8/1	0	100	0	100	0	100	0	100
R′ 9/1	54	46	58	42	0	100	55	45
R′ 10/1	52	48	53	47	0	100	57	43
R′ 11/2	56	44	49	51	0	100	78	22
R′ 12/1	53	47	53	47	0	100	56	44
R′ 14/1	53	47	52	48	0	100	69	31
R′ 15/1	100	0	100	0	0	100	100	0
R′ 16/1	100	0	100	0	0	100	100	0
R′ 17/1	100	0	100	0	0	100	100	0

MF%: درصد گیاهان بارور، MS%: درصد گیاهان عقیم.

MF%= percentage of fertile plant, MS%= percentage of sterile plant

شکل ۲- اندامهای گل در حالتهای کاملاً بارور (سمت راست)، کاملاً عقیم (وسط) و بارور جزیی (سمت چپ).
Figure 2. Flower organs in fully fertile (right), completely sterile (middle) and partially fertile plants (left).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس خصوصیات تراکم ، طول و تعداد دانه در خورجین در نتاج مربوط به سه گروه والد پدری در سامانه پولیما (جدول ۵)، اختلاف آماری معنی‌داری بین والدهای پدری گروه اول (شامل دو R لاین و چهار F_1) از نظر صفت تراکم خورجین مشاهده نشد، ولی از نظر صفات طول و تعداد دانه در خورجین، اختلاف کاملاً معنی‌دار بود. به‌طوری‌که لاین R250 و F_1 هایولا ۴۰۱ ژنوتیپهای پدری برتر بودند. لذا در سامانه پولیما می‌توان با گزینش تک بوته‌های بارور در نسل F_2 هایولا ۴۰۱ و یا نسل F_2 تلاقی لاین R250 × Hayola401 و خودگشنی متوالی لاین بازگردان باروری ایجاد نمود.

جدول ۵- میانگین مربعات صفات مختلف در نتاج تلاقی ژنوتیپ‌های نربارور × نرعقیم در سامانه پولیما.
Table 5. Mean square of different traits in the progenies of fertile×sterile genotypes with Polima system.

Fertile genotypes	SOV	Degrees of freedom	Pod density	Pod length(cm)	Seeds/pod
Pure lines and F_1s	Female	2	13.722^{ns}	1.837^{ns}	138.409^{ns}
	Male	5	1.656^{ns}	1.824^{**}	110.603^{**}
	Error	10	4.622	0.718	40.663
	CV%	-	24.06	13.47	23.25
Promising lines	Female	2	68.857^{**}	4.567^{**}	384.548^{**}
	Male	13	2.038^{**}	0.627^{ns}	31.275^{ns}
	Error	26	2.242	0.358	21.446
	CV%	-	13.28	8.88	15.48
F2 Plants	Female	2	68.717^{**}	18.238^{**}	828.667^{**}
	Male	19	5.956^{**}	2.078^{*}	76.337^{**}
	Error	38	1.699	0.989	28.784
	CV%	-	15.87	16.96	25.90

*، ** و ns: معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیر معنی‌دار.
*,** and ns: significant at 5% and 1% of probability levels, respectively and non significant.

بین ژنوتیپ‌های امید بخش بارور از نظر صفت تراکم غلاف اختلاف کاملاً معنی‌داری مشاهده شد به‌طوری‌که R'1/1, R'4/2 و R'7/1 برتر از سایر ژنوتیپ‌ها بودند. از نظر صفات طول و تعداد دانه در خورجین اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد ولی از نظر میانگین صفات ذکر شده ژنوتیپهای R'1/1, R'4/2 و R'2/1 برتر بودند که برای انتخاب به‌عنوان لاین بازگردان باروری در سامانه پولیما مناسب می‌باشند. در ژنوتیپ‌های بارور انتخابی از نسل F_2 هایولا ۴۰۱ از نظر خصوصیات ثبت شده اختلافات معنی‌داری مشاهده شد. به‌طوری‌که از نظر صفت تراکم غلاف، بوته‌های انتخابی دو، سه و شش با متوسط مقیاس ۶/۷۸ برتر بودند. از نظر صفت طول خورجین، تک بوته انتخابی ۱۹ و پنج به‌ترتیب با متوسط ۷/۰۱ و ۳/۹۹ سانتی‌متر، رتبه‌های اول و آخر را

کسب کردند. در مورد صفت تعداد دانه در خورجین، تک بوته انتخابی دو و ۱۵ به‌ترتیب با متوسط ۲۱/۶ و ۶/۴ دانه در خورجین، رتبه‌های اول و آخر را به‌دست آوردند (جدول ۶).

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات در نتاج ژنوتیپ‌های نربارور سامانه پولیما.

Table 6. Comparison of the trait means in the progenies of fertile genotypes in polima system

Fertile genotypes	genotype	Pod density)	Pod length(cm)	Seeds/ pod
Pure lines and F_1s	R250	5.00 ^{a}	7.08 ^{a}	22.79 ^{a}
	R45	5.00 ^{a}	6.47 ^{a}	19.09 ^{ab}
	F1/401	4.67 ^{a}	6.51 ^{a}	20.31 ^{a}
	F1/308	5.00 ^{a}	6.57 ^{a}	18.13 ^{ab}
	F1/420	3.50 ^{a}	6.30 ^{ab}	11.23 ^{ab}
	F1/60	3.50 ^{a}	4.79 ^{b}	6.84 ^{b}
promising genotypes	R’ 1/1	8.00 ^{a}	7.57 ^{a}	20.77 ^{ab}
	R’ 2/1	7.00 ^{ab}	6.96 ^{abc}	24.31 ^{a}
	R’ 4/2	7.33 ^{ab}	6.75 ^{abc}	22.26 ^{ab}
	R’ 6/1	6.33 ^{ab}	6.63 ^{abc}	18.88 ^{ab}
	R’ 7/1	7.67 ^{ab}	6.63 ^{abc}	13.24 ^{b}
	R’ 8/1	5.67 ^{ab}	6.12 ^{c}	13.93 ^{b}
	R’ 9/1	5.00 ^{b}	6.38 ^{bc}	15.10 ^{b}
	R’ 10/1	6.67 ^{ab}	7.15 ^{abc}	14.66 ^{b}
	R’ 11/2	6.00 ^{ab}	7.04 ^{abc}	18.87 ^{ab}
	R’ 12/1	6.67 ^{ab}	7.32 ^{ab}	18.67 ^{ab}
	R’ 14/1	5.67 ^{ab}	6.25 ^{bc}	15.97 ^{ab}
	R’ 15/1	6.00 ^{ab}	6.36 ^{abc}	19.64 ^{ab}
	R’ 16/1	6.67 ^{ab}	6.13 ^{c}	18.50 ^{ab}
	R’ 17/1	6.33 ^{ab}	7.01 ^{abc}	16.52 ^{ab}
Genotypes from F_2	R” 1/401	5.00 ^{abc}	6.42 ^{abc}	10.97 ^{bcde}
	R” 2/401	7.00 ^{a}	6.96 ^{ab}	21.63 ^{a}
	R ” 3/401	6.67 ^{a}	6.73 ^{ab}	20.78 ^{abc}
	R” 4/401	5.67 ^{ab}	6.59 ^{abc}	21.37 ^{ab}
	R” 5/401	3.33 ^{bcd}	3.99 ^{d}	7.67 ^{de}
	R” 6/401	6.67 ^{a}	5.91 ^{abc}	13.80 ^{abcde}
	R” 7/401	5.00 ^{abc}	6.01 ^{abc}	14.34 ^{abcde}
	R” 8/401	5.00 ^{abc}	5.89 ^{abcd}	10.30 ^{cde}
	R” 9/401	2.33 ^{d}	5.21 ^{abcd}	7.19 ^{de}
	R” 10/401	2.67 ^{cd}	5.00 ^{bcd}	10.67 ^{cde}
	R” 11/401	4.67 ^{abcd}	6.27 ^{abc}	17.33 ^{abcd}
	R” 12/401	3.67 ^{bcd}	5.25 ^{abcd}	13.51 ^{abcde}
	R” 13/401	5.33 ^{ab}	6.38 ^{abc}	18.97 ^{abc}
	R” 14/401	4.00 ^{bcd}	6.23 ^{abc}	11.81 ^{abcde}
	R” 15/401	3.67 ^{bcd}	5.03 ^{bcd}	6.42 ^{e}
	R” 16/401	2.33 ^{d}	4.69 ^{cd}	6.69 ^{e}
	R” 17/401	5.33 ^{ab}	6.63 ^{abc}	15.49 ^{abcde}
	R” 18/401	5.67 ^{ab}	6.06 ^{abc}	11.06 ^{abcde}
	R” 19/401	5.67 ^{ab}	7.01 ^{a}	20.27 ^{abc}
	R” 20/401	3.67 ^{bcd}	5.01 ^{bcd}	11.43 ^{abcde}

در نتیجه، از میان تک بوته‌های بارور انتخابی نسل F_2، هیبرید هایولا ۴۰۱ شماره‌های دو، سه و ۱۹ برای ادامه خودگشنی و تهیه لاین بازگردان باروری خالص برای سامانه نرعقیمی پولیما مناسب تشخیص داده شدند. این روش، توسط Miah, *et al*. (2016) نیزگزارش شده است. در ارزیابی میانگین خصوصیات ثبت شده ژنوتیپ‌های حامل ژن Rf در سامانه اوگورا (جدول ۷) مشخص شد که بین والدهای پدری گروه اول (دو R لاین و چهار هیبرید)، اختلاف آماری معنی‌داری وجود ندارد؛ از این رو می‌توان با بهره برداری از تنوع موجود در نسل F_2 هیبریدهای مورد بررسی در این آزمایش، لاین‌های بازگردان باروری مناسبی را برای سامانه اوگورا تولید کرد. همچنین می‌توان با تلاقی بین دو لاین پدری سامانه اوگورا و انجام انواع تلاقی بین لاین‌های خالص و F_1 های مورد بررسی در این آزمایش، منابع تنوع ژنتیکی فراوانی را برای استخراج لاین خالص بازگرداننده باروری در سامانه اوگورا به‌وجود آورد. مقایسه میانگین صفات ثبت شده در گروه دوم والدهای

پدری (تک بوته‌های انتخابی بارور از نسل F_2 هایولا ۵۰)، بیانگر وجود اختلافات کاملاً معنی‌دار بود، به‌طوری‌که از نظر صفت تراکم خورجین، تک بوته‌های شماره شش، هشت، نه، ۱۱،۱۲، ۱۳ و ۱۵ با متوسط مقیاس هشت والدهای بارور برتر بودند. از نظر صفت طول خورجین، اکثر ژنوتیپ ها در کلاس اول قرار داشتند و تک بوته‌های ۱۴ و ۱۸، به‌ترتیب با میانگین ۷/۸۶ و ۵/۴۹ سانتی‌متر طول خورجین رتبه اول و آخر را احراز کردند.

جدول ۷- مقایسه میانگین صفات نتاج ژنوتیپ‌های نربارور سامانه اوگورا

Table 7. Comparison of trait means in the progenies of fertile genotypes in Ogura system.

Fertile genotypes	genotype	Pod density	Pod length(cm)	Seeds/pod
Pure lines and F_1s	R625	8.00 ^{a}	6.69 ^{a}	12.53 ^{a}
	R624	6.00 ^{a}	6.35 ^{a}	15.97 ^{a}
	F1/4815	6.00 ^{a}	7.66 ^{a}	21.38 ^{a}
	F1/50	7.00 ^{a}	7.19 ^{a}	21.12 ^{a}
	F1/76	5.00 ^{a}	7.16 ^{a}	21.03 ^{a}
	F1/60	6.00 ^{a}	7.08 ^{a}	21.13 ^{a}
Genotypes from F_2	R" 1/50	4.00 ^{c}	6.54 ^{ab}	16.45 ^{abc}
	R" 2/50	6.00 ^{abc}	6.85 ^{ab}	15.58 ^{abcd}
	R" 3/50	6.00 ^{abc}	6.98 ^{ab}	15.87 ^{abc}
	R" 4/50	6.00 ^{abc}	7.24 ^{ab}	22.92 ^{a}
	R" 5/50	7.00 ^{ab}	7.10 ^{ab}	20.40 ^{ab}
	R" 6/50	8.00 ^{a}	6.89 ^{ab}	20.87 ^{ab}
	R" 7/50	7.00 ^{ab}	7.19 ^{ab}	21.08 ^{ab}
	R" 8/50	8.00 ^{a}	7.36 ^{ab}	22.35 ^{ab}
	R" 9/50	8.00 ^{a}	6.91 ^{ab}	18.50 ^{ab}
	R" 10/50	7.00 ^{ab}	6.29 ^{ab}	11.27 ^{bcd}
	R" 11/50	8.00 ^{a}	7.00 ^{ab}	19.97 ^{ab}
	R" 12/50	8.00 ^{a}	6.91 ^{ab}	19.90 ^{ab}
	R" 13/50	8.00 ^{a}	7.46 ^{ab}	19.50 ^{ab}
	R" 14/50	6.00 ^{abc}	7.86 ^{a}	14.45 ^{abcd}
	R" 15/50	8.00 ^{a}	6.10 ^{ab}	20.37 ^{ab}
	R" 16/50	7.00 ^{ab}	6.41 ^{ab}	16.20 ^{abc}
	R" 17/50	5.00 ^{bc}	6.79 ^{ab}	17.52 ^{abc}
	R" 18/50	4.00 ^{c}	5.49 ^{b}	5.65 ^{d}
	R" 19/50	5.00 ^{bc}	6.83 ^{ab}	13.47 ^{abcd}
	R" 20/50	4.00 ^{c}	6.13 ^{ab}	8.00 ^{cd}

در خصوص صفت تعداد دانه در خورجین نیز تک بوته‌های ۱۴ و ۱۸ به‌ترتیب با میانگین ۲۲/۹۲ و ۵/۶۵ دانه در خورجین، رتبه اول و آخر را به‌دست آوردند. در نتیجه از میان تک بوته‌های بارور انتخابی نسل F_2 هیبرید هایولا ۵۰، شماره‌های چهار، شش، هشت، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۵ برای ادامه خودگشنی و تهیه لاین بازگردان باروری خالص در سامانه نرعقیمی اوگورا مناسب تشخیص داده شدند (Miah, *et al*., 2016).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های توانمند در بازگرداندن باروری از نظر فنولوژی گل، همگی دارای کیسه‌های گرده توسعه یافته، پایه‌های پرچم بلند و گلبرگ‌های صاف و بزرگ بودند. تمام ژنوتیپ‌های امید بخش آزمایش، به جز ژنوتیپ R'8/1 (با پایه‌های پرچم کوتاه)، دارای توانمندی کامل در بازگرداندن باروری بودند. هیبریدهای هایولا ۴۰۱، ۳۰۸، ۴۲۰ و چهارده ژنوتیپ امید بخش دارای Rf و CMS اختصاصی پولیما و هیبریدهای هایولا ۴۸۱۵، ۵۰ و ۷۶، دارای Rf و CMS اختصاصی سامانه اوگورا بودند. ژن Rf هیبرید هایولا ۶۰ قابلیت برگرداندن باروری در هر دو سامانه پولیما و اوگورا را داشت. بنابراین به‌نظر می‌رسد امکان استفاده از آن به‌عنوان یک حلقه رابط بین دو نوع CMS برای تولید نوترکیبی ژنتیکی وجود دارد. ارتباط بین Rf و نوع CMS به هنگام استفاده از لاین‌های خالص، بسیار اختصاصی است، ولی این ارتباط در زمانی که والدین به صورت هتروزیگوت باشند، مقداری تضعیف شده و احتمال مشاهده نتاج بارور در تلاقی بین Rf و CMS

غیر اختصاصی افزایش می‌یابد. در ژنوتیپ‌های امید بخش و بر اساس وضعیت خلوص ژن باروری و میانگین خصوصیات ثبت شده، می‌توان ژنوتیپ‌های R'1/1, R'4/2 و R'2/1 را به‌عنوان لاین بازگردان باروری مناسب در سامانه پولیما معرفی کرد. هیبریدهای هایولا ۴۰۱ و ۳۰۸ در سامانه پولیما و تمام هیبریدهای مورد استفاده در سامانه اوگورا در این آزمایش برای استخراج لاین بازگردان باروری از نسل F_2 مناسب بودند. درنهایت، از میان ژنوتیپ‌های بارور انتخابی نسل F_2 برای سامانه پولیما (هایولا ۴۰۱)، شماره‌های دو، سه، ۱۹، و برای سامانه اوگورا (هایولا ۵۰) شماره‌های چهار، شش، هشت، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۵ برای ادامه روند خلوص ژنتیکی تا رسیدن به لاین خالص مناسب تشخیص داده شدند.

REFERENCES

1. Ahmad, R., Farhatullah, Khan, R. S. & Quiros, C. F. (2013). Inheritance of fertility restorer gene for cytoplasmic male-sterility in B. napus and identification of closely linked molecular markers to it. *Euphytica*, 194, 351–360.
2. Banga, S. S., Deol, J. S. & Banga, S. K. (2003). Alloplasmic male-sterile *Brassica juncea* with *Enarthrocarpus lyratus* cytoplasm and the introgression of gene(s) for fertility restoration from cytoplasm donor species. *Theory Apply Genetic*, 106, 1390–1395.
3. Banga, S. S., Kumar, P. R., Bhajan, R. & Singh, D. (2015) Genetics and Breeding. In: Kumar A (ed.) Brassica Oilseeds, Breeding and Management. CAB International, 11–41.
4. Bohra, A., Jha, U. C., Adhimoolam, P., Bisht, D. &Singh, N. P. (2016). Cytoplasmic male sterility (CMS) in hybrid breeding in field crops. *Plant Cell Report*, 35, 967–993.
5. Bosacchi, M., Gurdon, C. & Maliga, P. (2015). Plastid genotyping reveals the unifor-mity of cytoplasmic male sterile-T maize cytoplasms. *Plant Physiology*, 169, 2129–2137.
6. Budar, F. & Berthomé, R. (2007). Cytoplasmic male sterilities and mitochondrial gene mutations in plants. In: D.C. Logan (Ed), *Plant Mitochondria: Annual Plant Reviews*. 31, 278–307. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.
7. Chase, C. D. (2007). Cytoplasmic male sterility: A window to the world of plant mitochondrial-nuclear interactions. *Transfer Genetic*, 23, 81– 90.
8. Chen, L. & Liu, Y. G. (2014). Male sterility and fertility restoration in crops. Annual. Review. *Plant Biologic*, 65, 579–606.
9. Delourme, R. & Budar, F. (1999). Male Sterility. In: C. Gómez-Campo (Ed) *Biology of Brassica coenospecies*, (pp. 185–216) Elsevier Science, Amsterdam.
10. Fan, Z., Stefansson B. R. & Sernyk, J. L. (1986). Maintainers and restorers for three male sterility inducing cytoplasms in rape (Brassica napus L.). *Canadian Journal Plant Science*, 66, 229–234
11. Fu, T. D. (1981). Production and research on rapeseed in the Peoples Republic in China. *Cruciferae Newsletter*, 6, 6–7.
12. Fu, T., Yang, G. & Yang, X. (1990). Studies on “three line” Polima cytoplasmic male sterility developed in *Brassica napus*. *Plant Breeding*, 104, 115–120.
13. Gabay-Laughnan, S. & Newton, K. J. (2012). Plant mitochondrial mutations. In: R. Bock, & V. Knoop (Eds), *Genomics of Chloroplast and Mitochondria*. (pp. 267–291) Springer.
14. Heyn, F. W. (1976). Transfer of restorer genes from *Raphanus* to cytoplasmic male sterile *Brassica napus*. *Cruciferae Newsletters*, 1, 15–16.
15. Jain, A., Bhatia, S., Banga, S. S., Prakash, S. & Lakshmikumaran, M. (1994). Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to study the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea* (L) Czern and Coss) and its relationship with heterosis. *Theory Apply Genetic*, 88, 116–122.
16. Janeja, H. S., Banga, S. S. & Lakshmikumaran, M. (2003). Identification of AFLP markers linked to fertility restorer genes for *tournefortii* cytoplasmic male-sterility system in *Brassica napus*. *Theory Apply Genetic*, 107, 148–154.
17. Jean, M., Brown, G. G., & Landry, B. S. (1997). Genetic mapping of nuclear fertility restorer genes for the ‘Polima’ cytoplasmic male sterility in canola (*Brassica napus* L.) using DNA markers. *Theory Apply Genetic*, 95, 321-328.
18. Kim, Y. J. & Zhang, D. (2018). Molecular control of male fertility for crop hybrid breeding. *Trends in Plant Science*, 23, 1.
19. Kirti, P. B., Baldev, A., Gaikwad, K., Bhat, S. R., Dineshkumar, V., Prakash, S. & Chopra, V. L. (1997). Introgression of a gene restoring fertility to CMS (*Trachystoma*) *Brassica juncea* and the genetics of restoration. *Plant Breeding*, 116, 1179–1182.

20. Kirti, P. B., Prakash, S., Gaikwad, K., Bhat, S. R., Dineshkumar, V. & Chopra, V. L. (1998). Chloroplast substitution overcomes leaf chlorosis in a *Moricandia arvensis* -based cytoplasmic male sterile *Brassica juncea*. *Theory Apply Genetic*, 97, 1179–1182.
21. Liu, H., Fu, T. & Yang, X. (1987). Discovery and studies on Polima CMS line. In: Proceedings of *7th International Rapeseed Congress*, 11–14 May 1987, Pozman, Poland, 69–78.
22. Lobos-Sujo, V. & Duncan, R. W. (2014). Comparison of the fertility restoer (Rfo) in *Brassica napus*. Conference: ASA, CSSA, & SSSA International Annual Meeting.
23. Lobos-Sujo, V. & Duncan, R. W. (2016). Improvement of *Brassica napus* restorers using a recurrent selection strategy. Conference: ASA, CSSA and SSSA International Annual Meetings, Poster Number 163-1300.
24. Longin, C. F. H., Mühleisen, J., Maurer, H. P., Zhang, H., Gowda, M. & Reif, J. C. (2012). Hybrid breeding in autogamous cereals. *Theory Apply Genetic*, 125, 1087–1096.
25. Miah, M. A., Rasul, M. G. & Mian, M. A. K. (2016). Resenthesis of new R lines in *Brassica napus* L. *Bangladesh Journal Agriculture Research*, 41(3), 529-540.
26. Mohammadi, V., Fathi Hafashejani, H., Maali-Amiri, R. & Alizadeh, H. (2018). Screening of rapeseed (*Brassiac napus* L.) genotypes for tolerance to termnal heat stress by plastic greenhouse. *Iranian Journal of Field Crop Science,* 49(2), 161-170. In Persian.
27. Mühleisen, J., Maurer, H. P., Stiewe, G. & Bury, P. (2013). Hybrid breeding in barley. *Crop Science*, 53, 819–824.
28. Prakash, S., Ahuja, I., Uprety, H. C., Kumar, V. D., Bhat, S. R., Kirti, P. B. & Chopra, V. L. (2001). Expression of male sterility in alloplasmic *Brassica juncea* with *Erucastrum canariense* cytoplasm and the development of a fertility restoration system. *Plant Breeding*, 120, 479–482.
29. Prakash, S., Bhat, S. R. & Fu, T. (2009). Wild germplasm and male sterility. In: S. K. Gupta (Ed.) *Biology and Breeding of Crucifers*. (pp. 113–127) CRC Press.
30. Shiga, T. (1976). Cytoplasmic male sterility and its utilization for heterosis breeding in rapeseed, *Brassica napus* L. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 10 (4).
31. Tanaka, N. & Niikura, S. (2006). Genetic analysis of the developmental characteristics related to the earliness of head formation in cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Breeding Science*, 56, 147–153.
32. Tester, M. & Langridge, P. (2010). Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science,* 327, 818–822.
33. Whitford, R., Fleury, D., Reif, J. C., Garcia, T. O., Korzum, V. & Langridge, P. (2013). Hybrid breeding in wheat: technologies to improve hybrid wheat seed production. *Journal Export Botanic*, 64, 5411–5428.
34. Yamagishi, H. & Bhat, S.R. (2014). Cytoplasmic male sterility in Brassicaceae crops. *Breeding Science*, 64, 38–47.