

شناسائی ارقام برگرداننده و نگهدارنده باروری در برنج با استفاده از نشانگر SSR

غفار کیانی*

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری (ghkiani@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۴/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۳/۳۰

چکیده

در اصلاح نباتات کلاسیک به نژادگران ارقام برگرداننده کننده باروری را از طریق تست کراس ارقام موجود با لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی (CMS) و ارزیابی نتاج F_1 از نظر باروری دانه گرده و خوشه مورد شناسائی قرار می‌دهند. لاین‌هایی که نتاج آن‌ها باروری خوشه و دانه گرده بیش از ۸۰ درصد را نشان دهند به عنوان لاین‌های برگرداننده در نظر گرفته می‌شوند. در این مطالعه ۱۵ رقم برنج در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری کشت و از انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی (MAS) برای تشخیص دو ژن برگرداننده باروری بر روی کروموزم‌های ۱ و ۱۰ در برنج استفاده گردید. نتایج ارزیابی‌های مولکولی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره RM171، RM258 و RM3148 همبسته با ژن‌های برگرداننده باروری نشان داد که ارقام برنج به نام‌های هاشمی و دیلمانی دارای هر دو ژن برگرداننده باروری در ژنوم خود هستند. در حالی که ارقام برنج به نام‌های شیرودی، تابش، فجر و شفق به عنوان ارقام نگهدارنده شناسائی شدند. از این ارقام می‌توان در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی برنج هیبرید در کشور استفاده نمود.

کلید واژه‌ها: برنج، ارقام برگرداننده باروری، نگهدارنده، نشانگر SSR.

مقدمه

یکی از راه‌های افزایش عملکرد در واحد سطح تکنیک تولید برنج هیبرید است. هیبرید برنج نسبت به ارقام معمولی در شرایط مشابه به میزان ۳۰-۲۰ درصد افزایش عملکرد دارند (Yuan, 1998). نر عقیمی سیتوپلاسمی در تلفیق با سیستم برگرداننده باروری کاراترین ابزار ژنتیکی برای بهره‌برداری از هتروزیس در برنج می‌باشد (Lin and Yuan, 1980)؛ در برنج سه نوع سیتوپلاسم نر عقیم به نام‌های WA^1 ، BT^2 و HL^3 شناسائی شده‌اند که از بین آن‌ها از سیتوپلاسم WA به طور گسترده‌ای در سطح جهان استفاده می‌شود (Sattari et al., 2008).

نر عقیمی سیتوپلاسمی صفتی است با وراثت مادری که بر اثر اختلال یا بازآرایی ژنوم میتوکندریایی و در نتیجه ناتوانی در تولید دانه‌های گرده بارور و فعال ایجاد می‌شود (Schnable and Wise, 1998). اما، به کمک ژن‌های برگرداننده باروری (ژن‌های Rf) می‌توان باروری را به لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی (CMS) بازگرداند. از این‌رو، سیستم‌های CMS/Rf مدل‌های مناسبی برای بهره‌برداری از هتروزیس در سیستم سه لاین در تولید بذر هیبرید در برنج می‌باشد. بنابراین، این نوع نر عقیمی سیتوپلاسمی کاربرد وسیعی در برنامه‌های اصلاحی برنج هیبرید دارد (Komori et al., 2003)؛ (Zhang et al., 2002).

پیشرفت‌های اخیر در زمینه نشانگرهای مولکولی و مطالعات در زمینه مکان‌یابی ژن‌های برگرداننده باروری نشان داده است که دو ژن Rf_3 و Rf_4 مسئول

- 1- Wild abortive
- 2- Boro II
- 3- Honglian

استفاده از نشانگرهای ریزماهواره نشان دادند که ۴ ژن برگرداننده باروری بر روی کروموزوم‌های ۱، ۷، ۱۰، ۱۲ کنترل کننده باروری می‌باشند. آنان ژن جدیدی با نام $Rf7$ را بر روی کروموزوم ۱۲ مشخص نمودند که با نشانگر RM7003 در فاصله ژنتیکی ۱۳/۳ سانتی مورگان همبستگی دارد. هم چنین آنان نشان دادند که نشانگر RM6344 بر روی کروموزوم ۷ با ژن $Rf4$ همبسته است. نشانگرهای RM443 و RM315 با ژن $Rf3$ به ترتیب با فاصله‌های ۴/۴ و ۲۰/۷ سانتی مورگان بر روی کروموزوم ۱ همبسته هستند. ژن $Rf6$ با نشانگرهای RM258 و RM591 در فواصل ژنتیکی ۴/۴ و ۲۳/۳ سانتی مورگان بر روی کروموزوم ۱۰ همبسته می‌باشد.

یکی از موارد مهم در سیستم سه لاینی تولید برنج هیبرید (سیستم CMS) پیدا کردن و یا تهیه لاین‌های R مناسب با قدرت ترکیب پذیری بالا می‌باشد. پیدا کردن این لاین‌های R به دو طریق امکان پذیر است. یکی این که لاین‌های R موجود را با A لاین‌های موجود تلاقی داده، بهترین هیبرید حاصله را انتخاب نمود. راه دوم استفاده از انتخاب به کمک نشانگر است که در آن هزینه کار خیلی کمتر شده و سریع تر به لاین R می‌توان دست یافت. هم چنین با تشخیص در مراحل اولیه رشدی می‌توان بوته‌های حاوی ژن Rf را تشخیص داده و بقیه را حذف کرد. در این تحقیق تلاش می‌شود با استفاده از استراتژی انتخاب به کمک نشانگر با استفاده از نشانگرهای همبسته با ژن Rf ارقام برگرداننده و غیر برگرداننده را شناسائی کرده تا در برنامه‌های اصلاحی برنج هیبرید از آن‌ها استفاده شود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۱۵ لاین برنج به نام‌های ندا، نعمت، دشت، چمپا، سپیدرود، پژوهش، پویا، هاشمی، شیرودی، تابش، شصتک، فجر، خزر، شفق و طارم دیلمانی استفاده گردید. بذور ارقام یادشده در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری کشت شدند. DNA ژنومی از برگ‌های گیاهچه‌های ۲۱ روزه با استفاده از

برگرداننده باروری در سیتوپلاسم نر عقیم WA می‌باشند. Yao و همکاران (۱۹۹۷) با استفاده از نشانگرهای RFLP محل کروموزومی یکی از این دو ژن ($Rf3$) را روی کروموزوم شماره ۱ بین نشانگرهای RG140 و RG532 در فاصله ۱/۹ سانتی مورگان از هر کدام مشخص نمودند. Yao و همکاران (۱۹۹۷) با استفاده از نشانگرهای RAPD و RFLP مکان ژنی $Rf3$ را روی کروموزوم شماره ۱ تأیید نمودند و نقشه دومین ژن برگرداننده باروری ($Rf4$) را روی کروموزوم شماره ۱۰ با فاصله ۳/۳ سانتی مورگان از نشانگر G4003 مکان یابی نمودند. Jing و همکاران (۲۰۰۱) با استفاده از نشانگرهای SSLP ژن $Rf4$ را روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۰ نقشه یابی نمودند.

Sattari و همکاران (۲۰۰۸) از انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی برای دو ژن $Rf3$ و $Rf4$ در سیستم نر عقیمی WA استفاده کردند. ایشان چندشکلی بین لاین‌های برگرداننده و غیر برگرداننده باروری را با استفاده از نشانگرهای مولکولی RG140/PvuII برای ژن $Rf3$ روی کروموزوم شماره ۱ و S10019/BstUI برای ژن $Rf4$ روی کروموزوم شماره ۱۰ مشاهده نمودند. استفاده همزمان از این دو نشانگر همبسته با این دو مکان ژنی، کارایی غربال مولکولی لاین‌های برگرداننده باروری را در ژرم پلاس به ۱۰۰ درصد افزایش داد.

Ahmadikhah و همکاران (۲۰۰۷) در شناسائی ارقام برگرداننده، ۳۸ لاین برنج را با لاین CMS تلاقی دادند و F_1 ‌های آن‌ها را از نظر باروری دانه گرده و خوشه مورد مطالعه قرار دادند. نتایج تحقیقات آن‌ها نشان داد که لاین‌های IR28، آمل ۱ و آمل ۲ دارای ژن $Rf4$ بوده و با نشانگر RM171 بر روی کروموزوم ۱۰ همبستگی داشتند. لاین‌های IR36 و IR60966 دارای ژن $Rf3$ بوده و با نشانگر RM1 بر روی کروموزوم ۱ همبسته بودند.

Bazrkar و همکاران (۲۰۰۸) در نشانمند کردن ژن (های) برگرداننده باروری برای سیتوپلاسم WA با

برنج استفاده گردید. ژن اصلی برگرداننده باروری *Rf4* با استفاده از نشانگرهای RM171 و RM258 مورد ارزیابی قرار گرفت. با استفاده از نشانگر RM258 ارقام برگرداننده باروری بانندی به طول ۱۴۸ جفت باز و برای بقیه ارقام بانندی به طول ۱۷۰ جفت باز را نشان دادند (شکل ۱). هم چنین با استفاده از نشانگر RM171 ارقام برگرداننده با توجه به حضور باند مورد انتظار ۳۲۸ جفت باز مورد شناسایی قرار گرفتند. این نتایج نشان می دهد که ارقام پویا، هاشمی، خزر و دیلمانی ژن *Rf4* را در ژنوم خود دارا بودند (جدول ۲).

آنالیز مولکولی ارقام از نظر ژن دوم برگرداننده باروری روی کروموزوم ۱ (*Rf3*) با استفاده از نشانگر RM3148 نشان داد که ارقام هاشمی، شصتک و دیلمانی واجد ژن *Rf3* در ژنوم خود بودند (جدول ۲). بنابراین، نتایج این تحقیق نشان می دهد که ارقام هاشمی و دیلمانی واجد هر دو ژن برگرداننده باروری می باشند و به عنوان ارقام بالقوه از نظر برگرداننده باروری شناسایی شدند. بنابراین تلاقی این ارقام با لاین های CMS و ارزیابی باروری نتایج حاصل توصیه می گردد.

با توجه به جدول (۲) رقم پویا دارای یک ژن برگرداننده در ژنوم خود می باشد که در تایید نتایج Bagheri و همکاران (۲۰۱۱) می باشد. آنان وجود یک ژن برگرداننده باروری را با استفاده از جمعیت های F_2 و BC_1 برای رقم پویا گزارش کرده بودند.

روش پیشنهادی Dellaporta و همکاران (۱۹۸۳) استخراج شد. با استفاده از اطلاعات مربوط به ناحیه ژن برگرداننده باروری روی کروموزوم ۱۰ نشانگر مبتنی بر PCR شامل RM171، RM258 و RM3148 انتخاب شدند (جدول ۱). نشانگر RM3148 روی کروموزوم ۱ قرار داشته و در ارقام برگرداننده بانندی به طول ۱۶۶ جفت باز تولید می کند (Nematzadeh and Kiani, 2012). نشانگرهای RM171 و RM258 روی کروموزوم ۱۰ قرار داشته و در ارقام برگرداننده به ترتیب باندهائی به طول ۳۲۸ و ۱۴۸ جفت باز تولید می کنند.

واکنش PCR با استفاده از ۱ میکرولیتر DNA نمونه (۵۰ نانوگرم)، ۱۳/۸ میکرولیتر آب مقطر، ۲ میکرولیتر بافر PCR (10X)، ۱ میکرولیتر dNTPs (هر کدام ۱ میلی مولار)، ۱ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت (هر کدام ۵ میکرو مولار) و ۰/۲ میکرولیتر *Taq* پلی مراز (۱ واحد) انجام شد. چرخه حرارتی PCR برای نشانگرها به صورت ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه از ۹۴ درجه به مدت ۱ دقیقه، ۵۵ درجه به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه به مدت ۲ دقیقه و در نهایت ۷۲ درجه به مدت ۵ دقیقه می باشد. فرآورده های PCR توسط الکتروفورز ژل آگارز ۳ درصد تفکیک شدند.

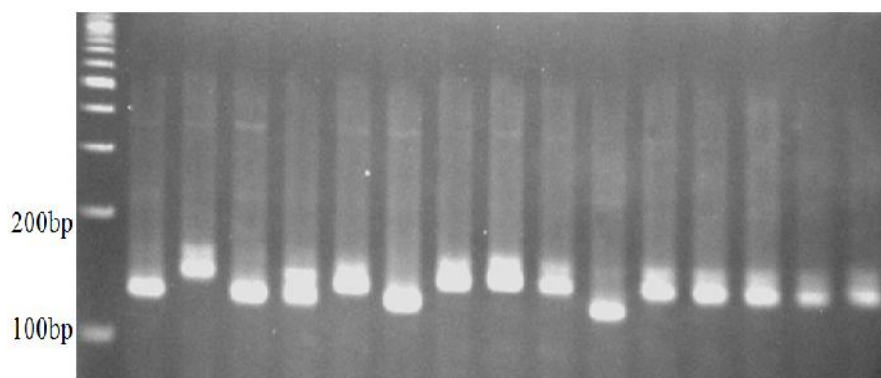
نتایج و بحث

از انتخاب به کمک نشانگر برای تعیین ژنوتیپ ارقام

جدول ۱- نشانگرهای SSR مورد استفاده در این مطالعه

Table 1. SSR markers used in this study

باند مورد انتظار در ارقام برگرداننده Expected band in restorer varieties (bp)	توالی برگشت Backward sequence (3' to 5')	توالی رفت Forward sequence (3' to 5')	توالی تکرار شونده Motif sequence	دمای اتصال Annealing temperature (°C)	موقعیت کروموزومی Chromosomal location	نشانگر Marker
328	acg aga tac gta cgc ctt tg	aac gcg agg aca cgt act tac	(GATG) ₅	55	10	RM171
148	tgg cct tta aag ctg tcg c	tgc tgt atg tag ctc gca cc	(GA) ₂₁ (GGA) ₃	55	10	RM258
166	ttg tct tgc ttt ggt att tgc	gac tat tgc tcg aac act ttg	(CA) ₂₀	55	1	RM3148



شکل ۱- نمونه ای از تجزیه مولکولی با استفاده از نشانگر RM258 برای ژن *Rf* روی کروموزوم ۱۰ برنج. ستون ۱ مارکر وزنی ۱۰۰ جفت باز ستون‌های ۲ الی ۱۶ به ترتیب ارقام پژوهش، سپیدرود، پویا، هاشمی، شصتک، دیلمانی، شیروودی، تابش، فجر، خزر، شفق، ندا، نعمت، دشت و چمپا

Figure 1. Sample of molecular analysis using RM258 for *Rf* gene on chromosome 10 of rice. Lane 1 weight marker 100 bp and 2 to 16 are Pajouhesh, Sepidroud, Pouya, Hashemi, Shastak, Deylamani, Shiroudi, Tabesh, Fajr, Khazar, Shafagh, Neda, Nemat, Dasht and Champa, respectively

جدول ۲- ارزیابی مولکولی ارقام برنج از نظر ژن‌های *Rf* با استفاده از نشانگرهای SSR

Table 2. Molecular evaluation of rice varieties for *Rf* genes using SSR markers

کروموزوم ۱ Chromosome 1 RM3148	کروموزوم ۱۰ Chromosome 10		رقم Variety	ردیف Entry no.
	RM171	RM258		
-	-	-	Neda	1
-	-	-	Nemat	2
+	-	-	Dasht	3
-	-	-	Champa	4
+	+	-	Sepidroud	5
+	+	+	Pajouhesh	6
-	-	+	Pouya	7
+	-	+	Hashemi	8
-	-	-	Shiroudi	9
-	-	-	Tabesh	10
+	-	-	Shastak	11
-	-	-	Fajr	12
-	-	+	Khazar	13
-	-	-	Shafagh	14
+	-	+	Deylamani	15

+ دارای باند برگرداننده باروری، - فاقد باند برگرداننده باروری.

+ Have fertility restorer band, - Have not fertility restorer band.

و به‌عنوان ارقام نگهدارنده شناسائی شدند (جدول ۲).
نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که رقم فجر فاقد

آنالیز مولکولی نشان داد که ارقام شیروودی، تابش،
فجر و شفق فاقد ژن‌های برگرداننده باروری بودند

بوته‌های برگرداننده باروری استفاده نمود تا حجم مواد اصلاحی به شدت کاهش یابد. در ادامه می‌توان ارقام بالقوه برگرداننده باروری را در مطالعات ترکیب پذیری و هتروزیس مورد ارزیابی‌های بیشتر قرار داد. محققین مختلفی از انتخاب به کمک نشانگر برای تشخیص ارقام برگرداننده باروری استفاده نموده‌اند (Wang *et al.*, 2012؛ Ichikawa *et al.*, 1997).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که ارقام هاشمی و طارم دیلمانی دارای هر دو ژن برگرداننده باروری در ژنوم خود هستند. در حالی که ارقام شیروودی، تابش، فجر و شفق به عنوان ارقام نگهدارنده شناسائی شدند. از این ارقام می‌توان در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی برنج هیبرید استفاده نمود.

ژن برگرداننده در ژنوم خود می‌باشد که در تأیید نتایج Nematzadeh and Sattari (۲۰۰۳) می‌باشد. آنان در بررسی ژنوم هسته‌ای ماهیت نگهدارنده را علاوه بر رقم فجر برای ارقام ندا، تعمت، چمپا و آمل ۳ گزارش کرده بودند. بنابراین می‌توان برای انتقال سیتوپلاسم نر عقیم به ارقام شیروودی، تابش، فجر و شفق از روش تلاقی برگشتی استفاده نمود.

در اصلاح نباتات کلاسیک به نژاد گران ارقام برگرداننده باروری را از طریق تست کراس ارقام موجود با لاین‌های CMS و ارزیابی نتایج F_1 از نظر باروری دانه کرده و خوشه مورد شناسائی قرار می‌دهند. لاین‌هایی که نتایج آن‌ها باروری خوشه و دانه کرده بیش از ۸۰ درصد را نشان دهند به عنوان لاین‌های برگرداننده در نظر گرفته می‌شوند. این روش‌ها وقت گیر و پرهزینه می‌باشد. از انتخاب به کمک نشانگر (MAS) برای شناسائی

References

- Ahmadikhah, A., Karlov, G.I. Nematzadeh, Gh., and Ghasemi Bezdi, K. (2007). Inheritance of the fertility restoration and genotyping of rice lines at the restoring fertility (*Rf*) loci using molecular markers. *International Journal of Plant Production*, 1: 13-21.
- Bagheri, N. and Babaeian-Jelodar, N. (2011). Genetics and combining ability of fertility restoration of 'wild abortive' cytoplasmic male sterility in rice. *African Journal of Biotechnology*, 10: 9314-9321.
- Bazrkar, L., Ali, A.J., Babaeian, N.A., Ebadi, A.A., Allahgholipour, M., Kazemitabar, K., Nematzadeh, G. (2008). Tagging of four fertility restorer loci for wild abortive-cytoplasmic male sterility system in rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite markers. *Euphytica*, 164(3): 669-677.
- Dellaporta, R.P., Wood, J., and Hicks, J.B. (1983). A plant DNA mini-preparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1: 19-21.
- Ichikawa, N., Kishimoto, N., Inagaki, A., Nakamura, A., Koshino, Y., Yokozeki, Y., Oka, M., Samoto, S., Akagi, H., Higo, K., Shinjyo, C., Fujimura, T., and Shimada, H. (1997). A rapid PCR-aided selection of a rice line containing the *Rf*-1 gene which is involved in restoration of the cytoplasmic male sterility. *Molecular Breeding*, 3: 195-202.
- Jing, R., Li, X., Yi, P., and Zhu, Y. (2001). Mapping fertility restoring genes of rice WA cytoplasmic male sterility using SSLP markers. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 42: 167-171.

- Komori, T., Yamamoto, T., Takemori, N., Kashihara, M., Matsushima, H., and Nitta N. (2003). Fine genetic mapping of the nuclear gene, *Rf₁*, that restores the BT-type cytoplasmic male sterility in rice (*Oryza sativa* L.) by PCR-based markers. *Euphytica*, 129: 241-247.
- Lin, S.C. and Yuan, L.P. (1980). Hybrid rice breeding in China. In: Innovative approaches to rice breeding. Pp. 35-51. IRRI, Philippines.
- Nematzadeh, G.A. and Kiani, G. (2012). Tagging of fertility-restoring genes in Iranian restorer rice promising line DN-33-18. *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 94: 95-103. [In Farsi]
- Nematzadeh, G.A. and Sattari, M. (2003). A study of nucleus genome of some high yielding rice (*Oryza sativa* L.) varieties for application in hybrid rice technology. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 34(1): 213-219. [In Farsi]
- Sattari, M., Kathiresan, A., Gregorio, G.B., and Virmani, S.S. (2008). Comparative genetic analysis and molecular mapping of fertility restoration genes for WA, Dissi, and Gambiaca cytoplasmic male sterility systems in rice. *Euphytica*, 160: 305-315.
- Schnable, P.S. and Wise, R.P. (1998). The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends in Plant Science*, 3(5): 175-180.
- Virmani S.S. and Wan, B.H. (1988). Development of CMS lines in hybrid rice breeding. In: Hybrid rice. International Rice Research Institute. P.O. Box 933, Manila, Philippines. pp: 103-114.
- Wang, X., Tan, X., Shao, G., Ma, H., Chen, Y., Zhang, C., and Shang, W. (2012). Marker-assisted selection of Japonica restorers used for Yinshui CMS system. *Rice Genome Genetics*, 3: 19-24.
- Yao, F.Y., Xu, C.G., Yu, S.B., Li, J.X., Gao, Y.J., Li, X.H., and Zhang, Q.F. (1997). Mapping and genetic analysis of two fertility restorer loci in the wild-abortive cytoplasmic male sterility system of rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 98: 183-187.
- Yuan, L.P. (1998). Hybrid rice breeding in China. In: Virmani S.S., Siddiq E.A., Muralidharan K (eds), *Advances in hybrid rice technology*. Proceedings of the 3rd international symposium on hybrid rice, 14-16 November 1996, Hyderabad, India. International Rice Research Institute, Manila, Philippines, pp: 27-33.
- Zhang, Q.Y., Liu, Y.G., Zhang, G.Q., and Mei, M.T. (2002). Molecular mapping of the fertility restorer gene *Rf₄* for WA cytoplasmic male sterility in rice. *Acta Genetica Sinica*, 29: 1001-1004.

Identification of Restoring Fertility and Maintainer Rice Varieties Using SSR Marker

G. Kiani*

***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran (ghkiani@gmail.com)

Received: 20 June, 2015

Accepted: 29 June, 2016

Abstract

Background and Objectives

In classical plant breeding, restorers are identified by the cross test, of existing varieties with cytoplasmic male sterility (CMS) lines and evaluating F_1 progenies in terms of fertility of pollen and spikelete. Lines showing more than 80 percent fertility of pollen and spikelete are considered as restorer lines. This study aimed at applying marker assisted selection (MAS) using linked SSR markers to restoring fertility (Rf) genes for identification of restorer and maintainer lines in hybrid seed production in rice.

Materials and Methods

In this study, 15 rice varieties were planted at the research farm of Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources and marker assisted selection (MAS) was used for identification of two Rf genes located on chromosomes 1 and 10 of rice using SSR markers RM171, RM258 and RM3148. The PCR reaction was performed at 94 °C for 5 min; then for 35 cycles of 94 °C for 1 min; 55°C for 1 min; 72 °C for 2 min followed by 72 °C for 5 min. PCR products were resolved by electrophoresis in agarose gel stained with ethidium bromide and then photographed.

Results

Results of molecular analyses using microsatellite markers RM171, RM258 and RM3148 linked with Rf genes showed that rice varieties namely Hashemi and Deylamani had both Rf genes in their genomes and were considered as putative restorers and were suggested to be test crossed with male sterile lines to assess their F_1 generations. Rice varieties namely Shiroudi, Tabesh, Fajr and Shafagh were identified as maintainers. Thus backcross breeding method is suitable for transferring sterile cytoplasm to them for development of new CMS lines.

Discussions

Identifying restorer lines by means of molecular marker technology is more cost effective and reliable than phenotypic assays especially in hybrid rice production. Restorer and maintainer lines identified in this study could be used for promotion of hybrid rice technology in the country.

Keywords: Rice, Restorer varieties, Maintainer varieties, SSR marker.