

خصوصیات آلوگامی لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی بونج و استفاده از نشانگرهای STS برای شناسایی آن‌ها

## Allogamic Characteristics of Rice Cytoplasmic Male Sterile Lines and Using STS Markers for Distinguishing Them

# ربابه نبوی و اسوکلائی<sup>۱</sup>، نادعلی بابائیان جلودار<sup>۲</sup>، نادعلی باقری<sup>۳</sup> و اسماعیل حسن نتاج<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری  
۲، ۳ و ۴- به ترتیب استاد، استادیار و کارشناس، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۴/۳ تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۱۱/۹

حکیمہ

نبوی اسوکلائی، ر.، بابائیان جلوه‌دار، ن.، باقری، ن.، و حسن نتاج، ا. ۱۳۸۹. خصوصیات آلوگامی لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی برنج و استفاده از شناسنگ‌های STS برای شناسایی آنها. مجله بهنجهادی نهال و بذر، ۲۶(۱)، ۵۰۰-۴۸۵.

به منظور تولید لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی در ارقام ندا، طارم، شستک محمدی، نعمت، اوندا، حسنی، حسنی ریشک قرمز، آمل-۳، دشت، خزر و سپیدرود در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری مولکولی STS به نام‌های BF-STS-401 و BF-STS-402 استفاده شد. نتایج نشان داد که لاین‌های نرعقیم تولید شده دارای دو نوار در حدود ۴۶۴ و ۳۳۵ bp بودند در حالی که لاین‌های تکهدارنده تنها نواری با طول ۳۳۵ bp را داشتند. نتایج بررسی آلوگامی نشان داد که در لاین‌های نرعقیم ارقام ایرانی سپیدرود، طارم، آمل-۳، دشت، گرد، حسنی ریشک قرمز و ندا گلچه‌ها نسبت به والدین خود با تاخیر بسته می‌شوند. لاین‌های نرعقیم حاصل از تلاقی رقم طارم با لاین‌های نرعقیم IR68280A و خزر A نسبت به سایر لاین‌های نرعقیم زودرس تر بودند. مدت زمان باز ماندن گلوم همبستگی مثبت معنی‌داری با طول میله پرچم (۰/۷۲۰) و طول کلاله (۰/۸۸۹) داشت. با توجه به بالا بودن دامنه زمانی بازماندن حداکثری دهانه گلچه‌ها، به نظر می‌رسد لاین‌های نرعقیم ایرانی ندا، طارم و سپیدرود برای تولید بذر هیبرید تجاری پرونج در ایران مناسب تر باشند.

**واژه‌های کلیدی:** پرنج، پذر هیبرید، لاین‌های نو عقیم سیتوپلاسمی، خصوصیات آلوگامی، نشانگر مولکولی STS.

#### مقدمه

بین المللی تحقیقات برنج و سایر مراکز تحقیقاتی در اوایل دهه ۱۹۸۰، فعالیت خود را در زمینه اصلاح و استفاده از تکنولوژی تولید بذر هیبرید آغاز کنند (Virmani *et al.*, 1982). در این ارتباط سابقه شروع فعالیت تحقیقاتی برنج هیبرید در ایران به سال ۱۳۶۹ بر می‌گردد. یکی از مشکلاتی که برای تولید بذر هیبرید وجود دارد، اختلاط مکانیکی لاین‌های نر عقیم با لاین‌های نگهدارنده آن‌ها است که می‌تواند طی مراحل مختلف جابجایی لاین‌های نر عقیم مثل برداشت و خرمن کوبی اتفاق افتد (Rajendran *et al.*, 2007). تخمین زده شده است که هر یک درصد ناخالصی در بذر لاین مادری، باعث کاهش یکصد کیلوگرم در هکتار در عملکرد بذر هیبرید خواهد شد (Mao *et al.*, 1998).

تشخیص دو لاین نر عقیم و نگهدارنده باروری قبل از زمان گلدهی غیر ممکن است زیرا این دو لاین از نظر ژنتیکی کاملاً مشابه هم هستند و تنها از نظر سیتوپلاسم تفاوت دارند. دسترسی به نشانگرهای DNA مناسب، غربالگری بذر لاین‌های نر عقیم را از نر بارور به میزان زیادی تسريع کرده است. اخیراً، تلاش شده است که از اختلاف بین لاین‌های نگهدارنده و نر عقیم برنج از نظر نشانگرهای DNA مبتنی بر PCR مثل چند شکلی قطعات تکثیری تصادفی (Jene and Pandey, 1999;) RAPD (Sane *et al.*, 1997) یا

برنج غذای اصلی و منبع کربوهیدرات برای بیش از ۵۰ درصد (نصف) جمعیت جهان است. بیش از ۹۰ درصد برنج جهان در کشورهای آسیائی کشت و مصرف می‌شود که ۶۰ درصد جمعیت جهان را در بر می‌گیرند و پیش‌بینی می‌شود که جمعیت مصرف کننده برنج در این کشورها تا سال ۲۰۲۵ دو برابر شود (Yashitola *et al.*, 2004).

اصلاح و معرفی ذرت هیبرید در اوائل ۱۹۳۰ یکی از مهم‌ترین دستاوردهای اصلاح نباتات بود. تولید ذرت هیبرید باعث شد که به نژادگران تشویق به بهره‌گیری از پدیده هتروزیس یا رشد عالی هیبرید در سایر گیاهان از جمله سورگوم، ارزن، پنبه، آفتابگردان، گوجه‌فرنگی، بادنجان، پیاز، چغندر قند، برنج و غیره شوند. توسعه تکنولوژی بذر هیبرید در دهه ۱۹۷۰ در کشور چین اهمیت استفاده از این تکنولوژی و نقش آن را در تظاهر پدیده هتروزیس در برنج و افزایش عملکرد از ۱۵ تا ۲۰ درصد نسبت به ارقام پر محصول اصلاح شده نشان داد (Ikehashi and Wan, 1998).

زرع عقیم سیتوپلاسمی (WA) از برنج وحشی در چین، امکان بهره‌برداری از سیستم هیبرید سه لاینی [لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی (A) لاین)، لاین‌های نگهدارنده (B) لاین) و لاین‌های اعاده کننده باروری (R لاین)] را فراهم کرده است (Yashitola *et al.*, 2004). اصلاح و تولید برنج هیبرید در چین باعث شد که مؤسسه

تعیین درصد عقیمی لاین‌های نر عقیم از روش ویرمانی (Virmani, 1994) استفاده شد. گروه‌بندی عقیمی یا باروری دانه‌های گرده به صورت نر عقیم کامل (صفر درصد باروری)، عقیمی نسبی (۱ الی ۳۰ درصد باروری)، باروری نسبی (۳۰ الی ۶۰ درصد باروری) و باروری کامل (بیش از ۶۰ درصد باروری) انجام شد (Govindaraj and Virmani, 2000).

برای شناسایی و تفکیک لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی، نمونه‌های برگی در مرحله حداکثر پنجه‌دهی جمع آوری شد. استخراج DNA به روش CTAB و با تغییراتی انجام شد (Murray and Thompson, 1980). برای شناسایی لاین‌های CMS و تفکیک آن‌ها از لاین‌های نگهدارنده از دو جفت نشانگر STS به نام‌های BF-STS-401 و BF-STS-402 استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر با یک میکرولیتر DNA ژنومی، ۱/۵ میلی مول کلرید منیزیم، ۰/۴ میلی مول دی اکسید نوکلئوتید تری فسفات (dNTPs)، یک واحد DNA پلیمراز و ۰/۲۵ پیکومول از هر آغازگر انجام شد. چرخه‌های حرارتی شامل واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، و ۳۴ چرخه با واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد در ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۵۵/۸ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به

(Guanghua *et al.*, 2003) AFLP تکثیری یا و نشانگرهای مبتنی بر نقاط نشانمند از ردیف STS (Yashitola *et al.*, 2004; Komari and Nittam, 2004) استفاده شود. افزون بر این، برای تولید برنج هیبرید، لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی مناسب از نظر سازگاری با محیط و برخوردار از ویژگی‌های مورد نظر مربوط به گل و صفات مهم وابسته به دگرگشته مورد نیاز است، به همین دلیل بررسی خصوصیات آلوگامی گلچه‌های برنج نیز حائز اهمیت است.

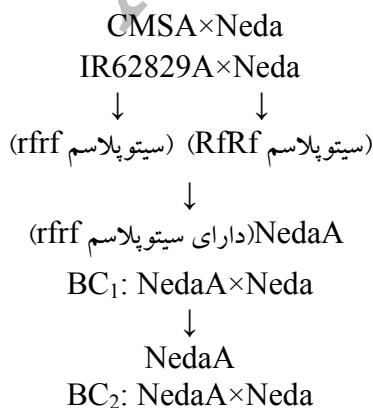
هدف این پژوهش تشخیص گیاهان نر عقیم و نگهدارنده در برنج با استفاده از نشانگرهای STS و بررسی صفات مختلف آلوگامی لاین‌های نر عقیم، جهت تولید برنج هیبرید برای ارقام ایرانی بود.

## مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی مورد استفاده شامل نه لاین نر عقیم سیتوپلاسمی (A لاین) و نگهدارنده آن‌ها (B لاین) از مرکز تحقیقات برنج فیلیپین و همچنین ۳۰ لاین نر عقیم ایرانی، اصلاح شده در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی بود (Babaeian Jelodar *et al.*, 2008). این لاین‌ها به فاصله  $25 \times 25$  سانتی‌متری و به صورت تک بوته در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۶ نشا کاری شدند. برای مطالعه باروری دانه گرده برای

از غلاف، درصد خروج پرچم از گلچه‌ها، درصد باروری گلچه‌ها در مرحله گلدھی، تعداد روز تا ۵۰٪ خوشدھی، ارتفاع بوته در مرحله خوشدھی (متوسط ده بوته به سانتی‌متر)، طول کلاله (متوسط طول پنج کلاله به میلی‌متر)، رنگ کلاله (نموده ۱: سفید؛ ۲: سبز روشن؛ ۳: زرد؛ ۴: ارغوانی روشن؛ ۵: ارغوانی)، طول بساک (متوسط طول پنج بساک به میلی‌متر)، رنگ بساک (نموده ۱: سفید؛ ۲: زرد روشن؛ ۳: زرد)، زاویه بین لما و پالنا بر حسب درجه، طول میله پرچم (متوسط طول پنج میله بساک به میلی‌متر) و طول مادگی در مرحله گلدھی و متوسط دستگاه بینوکولر اندازه گیری شد (متوسط طول خامه و تخمدان پنج نمونه به میلی‌متر) بودند. همه اندازه گیری‌ها مطابق با سیستم ارزیابی استاندارد بین‌المللی توسعه یافته و در مرکز تحقیقات بین‌المللی برنج فیلیپین، انجام شد (Anonymous, 1996; Virmani., 1994). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد.

شمای اصلاحی (شش نسل تلاقي برگشتی) مربوط به لاین‌های نرعمیم به شرح زیر بود:



مدت ۷ دقیقه انجام شد. الگوی نواربندی ایجاد شده توسط نشانگرها برای تشخیص لاین‌های نرعمیم (لاین A) از نگهدارنده (لاین B) در برنج مورد استفاده قرار گرفت.

نشانگر BF-STS-401 با آغازگر همسو 5'-TGCCACTATTCCACAATGCATG-3' و آغازگر معکوس 5'-CCCTTCCCTGCTCCCTTTTA-3' تولید باند ۴۶۴ bp در لاین‌های نرعمیم می‌کند (BF-STS-401). (Rajendran *et al.*, 2007) 402 با آغازگر همسو 5'-TAGGGCCATGACGGTTTG-3' و آغازگر معکوس 5'-CGCGTCCTCCCCAATT-3' طراحی شده از زیر واحد atp9 میتوکندریایی برنج، تولید نوار حدود ۳۳۵ bp در همه لاین‌های نرعمیم و نگهدارنده می‌کند (BF-STS-402). (Rajendran *et al.*, 2007) STS-402 می‌توان به عنوان کنترل مثبت جهت جلوگیری از خطأ در تجزیه PCR استفاده کرد. ترکیب نشانگرهای 401 و 402، نوار ۴۶۴ bp را در لاین‌های نرعمیم و نوار تک شکلی ۳۳۵ bp را در هر دو لاین نرعمیم و نگهدارنده تولید می‌کند.

صفات آلوگامی مورد بررسی شامل تعداد روز تا به خوش رفتن، زمان باز شدن گلچه‌ها، دامنه زمانی باز ماندن حداکثری گلچه‌ها، ۵۰٪ گلدھی گلچه‌ها، زمان بسته شدن گلچه‌ها، زمان باز شدن حداکثری گلچه‌ها، میزان خروج خوش

نعمت/IR68888A، نعمت/IR68899A، نعمت/IR58025A، ندا/خزرA۱، ندا/خزرA۱، IR68899A، ندا/خزرA۱، IR68888A/۳-آمل، او۱-گرده/خزرA۱، شصتک محمدی/خزرA۲، حسنی ریشك قرمز/خزرA۲، IR62829A و سپیدرود/سپیدرود/IR68897A، نشان دهنده نوار هایی با اندازه حدود ۴۶۴ bp و ۳۳۵ bp بود که همانند الگوی نر عقیم مادری بود. این امر نشان دهنده صحت انتقال نر عقیمی از لاین های خارجی به ارقام نر عقیم ایرانی بود، در حالی که ارقام ایرانی که به عنوان والد پدری در تلاقی مورد استفاده قرار گرفتند نواری مشابه لاین های نگهدارنده خود با اندازه حدود ۳۳۵ bp، را نشان دادند که با لاین های نر عقیم حاصل، تفاوت بارزی داشت.

پس از شناسایی لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی و اطمینان از انتقال ژن نرعقیمی سیتوپلاسمی از لاین‌های خارجی به ارقام ایرانی، به بررسی خصوصیات آلوگامی لاین‌های نرعقیم برنج ایرانی جهت تولید برنج هیبرید پرداخته شد.

نتایج بررسی خصوصیات آلوگامی در جدول ۲ نشان داده شده است. ارقام سپیدرود، طارم، ندا، گرده، اوندا، شصتک محمدی، نعمت، خزر، آمل-۳، دشت و حسنی ریشك قرمز به ترتیب به طور متوسط بعد از ۹۱/۵، ۹۷/۳، ۹۸، ۶۷/۵، ۷۸/۶، ۸۳/۳، ۱۰۴، ۷۸/۶، ۹۷/۳، ۹۸/۶، ۸۶/۳، ۹۸/۶، ۹۶/۶ روز به خوشه رفتند، در

$$\begin{array}{c} \text{NedaA} \\ \text{BC}_6: \text{NedaA} \times \text{Neda} \\ \downarrow \end{array}$$

لاین نر عقیم ندا: BC7

نتائج و بحث

لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسم برنج مورد استفاده در این بررسی در جدول ۱ نشان داده شده‌اند.

ترکیب دو نشانگر STS-401 و BF-STS-402 سبب تولید دو نوار در لاین‌های نرعمیم و یک نوار در لاین‌های نگهدارنده کرد. از نشانگرهای STS مورد استفاده در این مقاله می‌توان به طور موثری در تشخیص لاین‌های نرعمیم از نگهدارنده و یا سایر ژنوتیپ‌های خود بارور بهره برد (Rajendran *et al.*, 2007). همچنین با ترکیب دو نشانگر STS فوق با نشانگر مولکولی برگرفته از ژنوم هسته‌ای می‌توان برای آزمون خلوص ژنتیکی لاین‌های نرعمیم یا بذر هیریید استفاده کرد (Nandakumar *et al.*, 2004).

الگوی نواری حاصل از دو نشانگر STS در لاین‌های نر عقیم ایرانی مثل: ندا/IR58025A، سپیدرود/IR58025A، ندا/خزر1A، آمل-۳/خزر1A، سپیدرود/خزر1A، گردہ/خزر1A، نعمت/خزر1A، نعمت/IR62829A، نعمت/IR68897A

جدول ۱- لاین های نر عقیم سیتوپلاسمی برنج ایرانی و خارجی مورد استفاده در آزمایش  
 Table 1. Iranian and foreign cytoplasmic male sterile rice lines used in the experiment

لاین های نر عقیم خارجی Foreign male sterile lines	لاین های نر عقیم ایرانی Iranian male sterile lines
IR68897A (IR68897A×Gerdeh)	گرده A (IR68897A×Sepidrod) سپیدرود A (IR62829A)×Neda) ندا A
IR68888A (IR68280A×Sangtarom)	سنگ طارم A (IR58025A×Sepidrod) سپیدرود A (KhazarA1 × Neda) ندا A
IR68280A (KhazarA1×Sangtarom)	سنگ طارم A (IR25A×Hassani R. G.) حسنی رشك قرمز A (IR68897A × Neda ) ندا A
IR69224A (KhazarA2×Sangtarom)	سنگ طارم A (Khazar A2×Hassani R. G.) حسنی رشك قرمز A (IR68899A × Neda) ندا A
IR58025A (IR68899A×Dasht)	دشت A (IR68899A×Nemat) نعمت A (IR58025A × Neda ) ندا A
IR62829A (IR68888A×Dasht)	دشت A (IR62829A×Nemat) نعمت A (IR68888A × Neda) ندا A
IR67684A (IR68888A×Amol 3)	آمل ۳ A (IR68888A×Nemat) نعمت A (IR68280A × Neda) ندا A
IR68899A (IR69224A×Amol 3)	آمل ۳ A (IR68897A×Nemat) نعمت A (IR62829A × Sepidrod) سپیدرود A
IR68897A (IR68899A×Onda)	اوندا A (KhazarA1×Gerdeh) گرده A (IR68897A× Sepidrod) سپیدرود A
Khazar A1 (Khazar A2×Shastak Mohamadi)	خرز A (KhazarA2×Gerdeh) گرده A (IR58025A× Sepidrod) سپیدرود A
	شستک محمدی A

IR68897A، IR58025A و IR69229A به ترتیب در ساعت ۹:۰۰، ۸:۴۰ و ۹:۰۰ صبح و لاین‌های نر عقیم ندا/ IR67684A، ندا/ IR68888A، ندا/ IR68280A، ندا/ IR68899A، ندا/ IR58025A و IR69624A، ندا/ IR68280A، خزر ۱A به ترتیب در ساعت ۸:۴۵، ۸:۵۰، ۸:۵۵ و ۸:۵۵ صبح دیرتر از والد پدری خود (به ترتیب ۸:۳۰ و ۸:۴۰) باز شدند در حالی که گلچه‌های لاین‌های نر عقیم طارم/ IR68280A و طارم/ خزر ۱A در ساعت ۸:۳۵ و ۸:۳۰ صبح، زودتر از گلچه‌های پایه پدری شان (۹:۴۵ صبح) باز شدند. بهترین زمان گلدهی ارقام برنج Indica در مناطق گرمسیری، بین ۱۰ تا ۱۰:۳۰ صبح بدون در نظر گرفتن شکل گلچه است (Parmar *et al.*, 1979). محققین در مرکز تحقیقات بین‌المللی برنج فیلیپین (IRRI)، بهترین زمان گلدهی را برای لاین‌های نر عقیم ژاپونیکا بین ساعت ۱۰ تا ۱۱ تعیین کرده بودند (Virmani., 1994)، اما در این بررسی همه A لاین‌هایی که از IR58025A منشا گرفته بودند، گلدهی آن‌ها بین ۹ تا ۱۰ صبح تعیین شد. گلدهی اغلب ارقام برنج موجود در شمال شرق هند بین ساعت ۱۰ تا ۱۱ است (Parmar *et al.*, 1979).

نتایج این بررسی در جدول ۲ نشان داد که گلچه‌های لاین‌های نر عقیم ارقام نعمت، گرده، سپیدرود، طارم، آمل-۳، دشت، خزر ۱A، حسنی ریشک قرمز و ندا نسبت به ارقام پدری با

حالی که لاین‌های نر عقیم حاصل از تلاقی اکثر این ارقام با لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی منابع خارجی، به ترتیب با مدت زمان متوسط ۹۲/۳، ۶۸، ۱۰۲/۳، ۹۲، ۱۰۸، ۸۹ (سه لاین نر عقیم ندا)، (ندا/ IR67684A) و (ندا/ IR68899A) به ترتیب با مدت زمان ۹۷/۳، ۹۷/۳، ۱۰۱، ۹۷/۳، ۱۰۰/۶ و ۹۰/۵ روز به خوش رفند و دیررس تر شدند. البته بعضی از لاین‌های نر عقیم که والد پدری آن‌ها ندا بود مثل (ندا/ IR68888A)، (ندا/ IR67684A) و (ندا/ IR68899A) به ترتیب با مدت زمان ۹۶/۶ و ۹۹ روز به خوش رفند و زودرس تر بودند. به نظر می‌رسد لاین‌های نر عقیم تحت تاثیر اثر متقابل ژن‌های هسته‌ای و سیتوپلاسم قرار دارند (جدول ۲).

صفت خروج خوش از غلاف، در کلیه لاین‌های نر عقیم ایرانی حاصل از تلاقی با لاین‌های نر عقیم پدری کامل بود (جدول ۲). اما صفت میزان خروج پرچم از گلچه، به جز در لاین‌های نر عقیم شصتک محمدی، نعمت/ IR62829A، گرده/ خزر ۲A، گرده/ خزر ۱A، IR69224A، آمل-۳/ IR68888A، ندا/ IR67684A، آمل-۳/ IR68888A، ندا/ IR68899A و حسنی ریشک قرمز/ خزر ۲A، در سایر موارد صد درصد بود. صفات خروج کامل خوش از غلاف و خروج پرچم‌ها از گلچه، به عنوان دو عامل مهمی که می‌توانند فضای مناسبی را برای دریافت گرده خارجی توسط کلاله از طریق افزایش دگرگشتنی ایجاد نماید، حائز اهمیت است.

**گلچه‌های لاین‌های نر عقیم سپیدرود/**

جدول ۲- صفات آلوگامی لاین های نر عقیم سیتوپلاسمی برنج ایرانی همواره با لاین های نر عقیم سیتوپلاسمی پدری آنها

Table 2. Allogamic traits of Iranian CMS lines with their father cytoplasmic male steriles

Cultivars	GOT	GCT	DGO	AC	AL	FL	PIL	SL	SC
Sepidrod	8:20	12:15	62.5±10.10	2	2±0	6.7±1.25	2.15±0.01	1.10	1
IR68897A/ Sepidrod	9:10	12:20	65±10.6*	2	2.1±0.4	6.87±1.4	2.22±0.02	1.25	1
IR58025A/ Sepidrod	9:00	12:00	69.5±12.9**	1	2.2±0.1**	6.87±1.4	2.05±0.02	1.22	1
IR69229A/ Sepidrod	8:40	12:20	64.17±6.12	2	2.1±0.4*	6.67±0.61	2.14±0.04	1.19	1
Tarom	9:45	12:15	47.67±1.6	2	2.5±0.05	5.6±0.05	2.1±0.05	1.10	1
IR68280A/ Tarom	8:25	11:20	92.2±1.6**	2	2.4±0.05	2.02±0.03**	2.02±0.02	1.02	1
Khazar A1 / Tarom	8:20	12:00	22.22±1.6*	2	2.2±0.02	5.02±0.02**	2.02±0.02	1.02	1
Neda	8:40	11:25	50±2.8	1	2.1±0.05	10.5±0.02	2.56±0.06	1.4	1
IR68888A/ Neda	8:45	12:50	26.6±1.6**	1	2.1±0.05	7.1±0.05**	2.22±0.14	1.52	4
IR68280A/ Neda	8:50	11:40	100±2.89**	2	2.1±0.08	5.01±0.08**	2.16±0.02*	1.50	1
IR69624A/ Neda	8:55	12:15	21.67±1.6**	2	2.1±0.08	5.1±0.05**	2.1±0.05**	1.40	1
IR58025A/ Neda	8:50	12:40	21.6±1.6**	1	2.1±0.05	4.16±0.08**	2.16±0.08*	1.02	1
IR67684A/ Neda	8:45	11:25	41.6±9.2	2	2.1±0.05	4.76±0.28**	2.1±0.05*	1.12	4
IR68899A/ Neda	8:40	12:15	70±7.5**	2	2.2±0.01	5.76±0.28**	2.06±0.06**	1.06	4
Khazar A1 / Neda	8:55	12:20	48.2±5.24	1	2.2±0.01	5.95±0.04**	2.17±0.02*	1.22	1
Shastac Mohamadi	10:10	12:40	22.5±7.5	2	2.0±0.5	6.12±1.27	2.62±0.12	1.50	1
Khazar A2 / Shastak Mohamadi	8:25	11:20	27.5±7.5**	1	2.0±0.4	6.1±1.4	2.7±0.01	1.55	1
Nemat	8:40	11:20	46.67±1.67	2	2.1±0.05	7.02±0.02	2.16±0.03	1.12	1
IR62829A / Nemat	8:40	12:20	50.0±2.89	1	1.75±0.02*	5.06±0.02**	2.02±0.02	1.10	1
IR68888A / Nemat	9:00	12:00	21.67±1.67**	1	2.1±0.05**	5.1±0.05**	2.06±0.02	1.16	1
IR68899A / Nemat	8:40	12:20	85.0±2.89**	1	2.12±0.06	4.1±0.05**	2.46±0.05*	1.46	1
Gerdeh	10:15	11:40	45.0±2.89	2	2.06±0.06	7.1±0.05	2.02±0.02	1.06	1
Khazar A2 / Gerdeh	9:10	12:00	26.67±1.67**	1	2.06±0.06	5.1±0.05**	2.02±0.02	1.00	1
Khazar A1 / Gerdeh	9:05	12:15	55.0±2.89**	1	2.52±0.02**	5.06±0.02**	2.66±0.03*	1.10	1
IR68888A / Gerdeh	9:05	12:10	90.0±2.89**	2	2.1±0.05	4.1±0.05*	2.1±0.05	1.02	1
Amol <sub>2</sub>	8:40	11:10	50.0±2.89	1	2.1±0.05	8.1±0.05	2.16±0.02	1.02	1
IR69624A / Amol <sub>2</sub>	9:05	12:15	25.0±2.89**	2	2.5±0.05**	5.02±0.02**	2.02±0.03*	1.50	1
IR68888A / Amol <sub>2</sub>	9:00	12:40	21.67±1.67**	1	2.1±0.05	5.1±0.05**	2.22±0.03	1.22	1
Dasht	8:45	11:25	55.0±2.89	2	2.1±0.05	5.02±0.02	2.2±0.05	1.2	1
IR68888A / Dasht	8:45	12:45	16.67±1.67**	1	2.02±0.02	5.1±0.05	2.1±0.05	1.02	1
IR68899A / Dasht	8:40	12:50	46.67±1.67*	2	2.1±0.05	6.02±0.02**	4.1±0.05**	2.12	1
Khazar A1	8:55	12:40	60.0±2.89	1	2.1±0.02	5.1±0.05	2.12±0.02	1.46	1
Neda/ Khazar A1	9:00	11:50	21.67±1.67**	1	2.02±0.02	5.1±0.05	2.1±0.05	1.02	5
Onda	9:20	10:55	18.22±1.67	2	2.22±0.02	6.06±0.06	2.1±0.05	1.02	1
IR68899A / Onda	8:55	12:00	40.0±2.89**	1	2.1±0.05	5.05±0.02**	2.02±0.02	1.12	2
Hassani Rishak Ghermez	10:15	11:45	42.22±1.67	2	2.54±0.05	10.10±0.05	2.1±0.05	1.06	1
Hassani Rishak Ghermez	8:40	12:20	116.67±1.67**	2	1.52±0.02*	5.1±0.05**	2.1±0.05	1.22	1
IR58025A/ Khazar A2 / Hassani Rishak Gh.	8:45	12:20	65.0±2.89**	1	2.1±0.02	6.1±0.05*	2.02±0.02	1.22	4
Table t 0.05 level			2.776		2.776	2.776	2.776		
Table t 0.01 level			4.604		4.604	4.604	4.604		

GOT: Glume Opening Time (AM); GCT: Glume Closing Time (AM); DGO: Duration of Glume Opening (minutes); AC: Anther Colour (1 to 2); AL: Anther Length (mm); FL: Filament Length (mm); PIL: Pistil Length (mm); SL: Stigma Length (mm); SC: Stigma Colour (1 to 4)

Table 2. Continued

Cultivars	EP	ESS	F	ALP	DP	DFP	PL
Sepidrod	100	100	40±14.49	26.71±2.66	91.5±1.4	99.5±2.07	99.85±1.24
IR68897A/ Sepidrod	100	100	19±1.94**	29.5±2.6	92.25±1.4	100±2.87	101.2±1.2
IR58025A/ Sepidrod	100	100	30.75±2.5*	27.75±2.5	92±2.12	100±2.61	99.87±1.22
IR69229A/ Sepidrod	100	100	41.25±8.7	28±1.4	92.25±0.86	100±1.5	100.22±0.67
Tarom	100	100	92±1.52	22.22±1.33	78.67±0.22	90.22±0.22	140.22±1.8
IR68280A Tarom	100	100	22.22±1.67**	30±1	90.22±0.22**	101.67±0.22*	140.77±1.12
Khazar A1 Tarom	100	100	22.22±1.67**	30±1	88.22±0.22	97.87±1.87	129.5±0.87*
Neda	100	100	90±1.67	26±1	104±0.58	107.22±0.88	114±0.58
IR68888A/ Neda	100	100	0±0**	22.67±1.45*	96.67±0.22**	112.22±0.28*	97±0.58**
IR68280A/ Neda	100	100	0±0**	32±0.58**	112.67±0.22**	124±0.58**	95.27±0.41**
IR69624A/ Neda	100	100	0±0**	22.67±1.4*	102.22±0.22	111.6±0.28*	95±0.58**
IR58025A/ Neda	100	100	0±0**	31.67±1.45**	105.67±0.22	106.67±0.22	100±0.82**
IR67684A/ Neda	100	50	0±0**	22.67±1.45*	101.22±2.1*	110.67±0.88*	94.67±0.88**
IR68899A/ Neda	100	49	0±0**	28.32±2.67**	99±2.52**	112.67±0.22*	92.67±1.2**
Khazar A1 Neda	100	100	0±0**	26.15±0.86	102.5±1	111.62±1.1	96.9±1.6**
Shastac Mohamadi	100	100	60.5±2.5	26.5±1.5	67.5±1.5	80.0±2.0	122.6±2.0
Khazar A2 Shastac Mohamadi	100	49	0±0**	24.0±0.4*	68.0±1.0	81.0±2.0	122.5±2.5**
Nemat	100	100	92.22±1.67	27.22±0.67	98.0±0.0	105.0±0.58	116.22±0.33
IR62829A / Nemat	100	49	1.22±1.22**	30.22±0.67	97.22±0.22	104.67±0.22	96.0±0.29**
IR68888A / Nemat	100	100	20.0±2.89**	26.22±0.88	97.22±0.22	109.22±0.33*	107.92±0.22*
IR68899A/ nemat	100	100	1.22±1.22**	27.22±0.67	97.22±0.22	103.33±0.33	96.5±0.29**
Gerdeh	100	100	86.67±1.67	25.22±0.55	82.22±0.22	88.67±0.33	118.82±0.16
Khazar A2 / Gerdeh	100	49	1.22±1.22**	27.22±0.67	92.22±0.22**	98.22±0.33**	112.60±0.22**
Khazar A1 / Gerdeh	100	50	0.0±0.0**	24.22±0.88	92.22±0.22**	98.67±0.33**	121.26±0.27**
IR68888A / Gerdeh	100	30	0.0±0.0**	27.22±0.67	90.22±0.22**	97.22±0.33**	126.12±0.46**
Amol2	100	100	86.67±1.67	30.22±0.67	96.67±0.22	105.0±0.58	112.52±0.29
IR69624A / Amol <sub>2</sub>	100	49	0±0.0**	24.22±0.67**	102.22±0.22**	112.33±0.33**	102.42±0.29**
IR68888A / Amol <sub>2</sub>	100	60	0±0.0**	28.67±0.67	99.67±0.22**	112.33±0.33**	98.60±0.30
Dasht	100	100	90.67±1.67	27.22±0.67	98.67±0.22	104.33±0.33	127.42±0.29
IR68888A / Dasht	100	49	90.67±1.67**	30.22±0.67	101.67±0.22	110.33±0.33**	109.46±0.29**
IR68899A / Dasht	100	100	26.67±1.67**	30.67±0.22*	100.67±0.22	112.33±0.33**	104.0±0.57**
Khazar A1	100	100	90±0.0	30.67±0.22	97.22±0.22	124.33±0.33	128.0±0.57
Neda/ Khazar A1	100	100	0±0.0**	22.22±1.67	97.22±0.22	104.22±0.33**	93.50±0.28**
Onda	100	100	65.0±2.89	27.22±0.67	78.67±0.22	88.22±0.33	118.4±0.30
IR68899A / Onda	100	100	0±0.0**	25.22±0.67*	102.22±0.22**	110.22±0.33**	117.33±0.31
Hassani Rishak Ghermez	100	100	86.67±1.67	25.67±0.33	86.33±0.33	92.33±0.33	151.16±0.44
IR58025A/ Hassani Rishak Ghermez	100	100	1.33±1.33**	27.22±0.33	90.33±0.33	96.67±0.33**	111.20±0.41**
Khazar A2 / Hassani Rishak Ghermez	100	50	1.33±1.33**	27.22±0.67	90.67±0.33	96.33±0.33*	144.86±0.12**
Table t 0.05 level			2.776	2.776	2.776	2.776	2.776
Table t 0.01 level			4.604	4.604	4.604	4.604	4.604

EP: Projection Percentage Panicle from Sheath, ESS: Projection Percentage Flag from Floret, F: Fertility Percentage, ALP: Angle Between Lema and Palea (°), DP: Days to Ear Initiation, DFP: Days to 50% Ear, PL: Plant Height (cm)

کمک کلاله بیشتر می توانند گرده های آزاد محیط را دریافت کنند، بنابراین تیپ های ایده آل نرعقیم در این مطالعه شامل لاین های نرعقیم نداشته اند، IR68899A، IR68280A و IR68280A/IR68280A بودند. خروج کامل خوش از غلاف و خروج پرچم ها از گلچه، به عنوان دو عامل مهمی که می تواند فضای مناسبی را برای دریافت گرده خارجی توسط کلاله از طریق افزایش دگرگشتنی ایجاد کند، حائز اهمیت است.

هر گاه رنگ بساک در مشاهده ظاهری زرد روشن باشد، در مقایسه با حالت های سفید و زرد پر رنگ دارای دامنه زمانی بازماندن حداکثری دهانه گلچه بیشتری است. در لاین های نرعقیم سپیدرود، طارم A، ندا A، گرده / IR68888A، IR58025A، یعنی لاین های نرعقیم حاصل از ارقام سپیدرود، طارم و ندا، میزان دامنه زمانی بازماندن حداکثری دهانه گلچه، بین ۶۰ تا ۱۰۰ دقیقه و در لاین های نرعقیم گرده / IR68888A، IR58025A بین ۹۰ تا ۱۱۷ دقیقه بود (جدول ۲)، بنابراین می توان از رنگ بساک به عنوان عاملی برای شناسایی لاین های نرعقیمی که دارای دامنه زمانی بازماندن حداکثری دهانه گلچه بالاتری هستند، بهره برد.

طول بساک در ارقام سپیدرود، ندا، شستک محمدی، نعمت، گرده، آمل-۳، دشت، ندا، حسنی ریشك قرمز و لاین های نرعقیم آنها همگی مشابه و حدود ۲ میلی متر

تاخیر بسته می شوند. این امر به افزایش دگرگشتنی در لاین های نرعقیم کمک می کند و یک پدیده مثبت در تولید برنج هیرید تلقی می شود. دامنه زمانی بازماندن حداکثری دهانه گلچه در ارقام نعمت، گرده، حسنی ریشك قرمز به ترتیب ۴۷، ۴۵ و ۴۴ دقیقه بود، در حالی که در لاین های نرعقیم نعمت / IR68888A و لاین های نرعقیم گرده / IR68899A خزر ۱A، گرده / خزر ۲A و گرده / IR68888A به ترتیب ۲۲، ۸۵، ۵۵، ۲۷ و ۹۰ دقیقه بود (اختلافات معنی دار بین آنها معنی دار بود). در لاین های نرعقیم حسنی ریشك قرمز مدت زمان بازماندن حداکثری دهانه بیشتر از پایه پدری آنها بود، در حالی که مدت زمان بازماندن حداکثری دهانه گلچه های پایه پدری در ارقام آمل-۳، دشت و خزر نسبت به لاین های نرعقیم خود بیشتر بود که یک پدیده منفی در لاین های نرعقیم این سه رقم محسوب می شود (اختلافات بین آنها معنی دار بود).

زاویه بین لما و پالٹا می تواند مدت بازماندن گلوم را افزایش دهد (Narhari and Bora, 1963؛ Govindaraj and Virmani., 2000؛ Lodićikol, Miley پرچم، بساک، تخدمان و کلاله نیز به بازماندن گلوم کمک می کند (Parmar et al., 1979) گلچه ها با بساک های ضخیم، دارای زاویه بازتر در مقایسه با گلچه ها با بساک باریک هستند (Parmar et al., 1979). هر چه مدت زمان بازماندن گلوم طولانی تر شود لاین های نرعقیم به

سپیدرود / IR68280A، طارم / IR69229A، طارم / خزر ۱A، لاین‌های نر عقیم شصتک محمدی و نعمت طول میله پرچم به ترتیب ۱۰، ۵، ۶ و ۵ میلی‌متر اندازه گیری شد. طول میله پرچم در ارقام آمل-۳، دشت، حسنی ریشك قرمز و گرده نسبت به لاین‌های نر عقیم آنها

(جدول ۳). ولی در رقم طارم و لاین نر عقیم طارم / IR68280A بلندتر، یعنی ۲/۵ میلی‌متر بود.

طول میله پرچم در ارقام سپیدرود، طارم، شصتک محمدی و نعمت به ترتیب ۷، ۵/۵، ۶ و ۵ میلی‌متر بود، در حالی که در لاین‌های نر عقیم

جدول ۳- ضریب همبستگی فتوتیپی صفات مختلف مربوط به گل در لاین‌های نر عقیم برنج  
Table 3. Phenotypic correlation coefficient among different flower characteristics in male sterile lines of rice

صفات Traits	زاویه بین لما و پالتا Angle between lema and palea	مدت زمان باز ماندن گلوم During of opening glum (min)	طول کلاله Stigma length (mm)	طول مادگی Pistil length (mm)	طول میله پرچم Filament length (mm)
طول بساک Anther length	-0.225	0.210	-0.422	-0.257	-0.336
طول میله پرچم Filament length	0.720**	0.165	0.349	0.622*	
طول مادگی Pistil length	0.889**	0.149	0.246		
طول کلاله Sstigma length	0.027	-0.429			
مدت زمان باز ماندن گلوم During of opening glume	0.305				

\* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

\* and \*\*: Significant at 5% and 1% levels of probability, respectively .

لاین‌های نر عقیم سیتوپلاسمی ندا / IR68280A، ندا / IR67684A، ندا / IR68899A، ندا / IR58025A، ندا / IR68888A و ندا / خزر ۱A دارای عقیمی کامل و دانه گرده لاین‌های نر عقیم سپیدرود / IR58025A و سپیدرود / IR68897A و لاین‌های نر عقیم طارم / IR68280A و لاین‌های نر عقیم طارم / خزر ۱A دارای عقیمی نسبی بودند (جدول ۲).

بیشتر بود. از آن جایی که زاویه بین لما و پالتا همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول میله پرچم دارد (Parmar *et al.*, 1979)، بنابراین انتظار می‌رود که لاین‌های نر عقیم دارای طول میله پرچم بلندتر از تشکیل بذر بالاتری برخوردار باشند که این ویژگی برای تولید بذر هیبرید یک صفت بسیار خوب محسوب می‌شود (جدول ۲).

آزمون دانه گرده نشان داد که دانه‌های گرده

(Suh, 1988). دامنه دگرگشتنی از ۱۴/۶ تا ۱۳/۵٪ در آزمایش‌های مختلف در چین گزارش شده است (Xu and Li, 1998). بهبود دگرگشتنی طبیعی در لاین‌های نرعقیم برنج با ویژگی‌های مربوط به گرده گل در لاین‌های نرعقیم، والدین و عوامل محیطی در زمان گلدهی همبستگی بالایی دارد.

بعد از ورود ارقام هیرید و لاین‌های والدینی از کشور چین به هند، بنگladش، فیلیپین و سریلانکا به واسطه حساسیت این ارقام و لاین‌ها به آفات و بیماری‌ها در این کشورها، در ابتدای کار مشکلاتی را در راه تولید برنج هیرید ایجاد کرد، بنابراین این کشورها لاین‌های نرعقیم IR62829A و IR58025A را از مرکز تحقیقات بین‌المللی IRRI واقع در کشور فیلیپین، وارد کرده و اقدام به تولید لاین‌های نرعقیم سازگار با منطقه مورد نظر کردند. اغلب هیریدهای تولید شده در این کشورها بر پایه لاین‌های نرعقیم از لاین‌های IR58025A و IR62829A هستند. با توجه به این موضوع در این بررسی نیز اقدام به تولید لاین‌های نرعقیم سازگار با منطقه از طریق انتقال سیتوپلاسم نرعقیم از لاین‌های IR58025A، IR69229A، IR67684A، IR68280A، IR68897A، IR68888A و IR69624A، IR68899A به ارقم ایرانی طی شش نسل تلاقی شد، ولی برای تولید برنج هیرید هنوز راه زیادی مانده است که باید پیموده شود (Babaeian Jelodar et al., 2008).

ارقام سپیدرود، طارم و ندا به ترتیب دارای طول مادگی ۳/۱، ۳/۱ و ۳/۵ میلی‌متر بودند در حالی که طول مادگی لاین‌های نرعقیم آن‌ها حدود ۳ میلی‌متر و لاین‌های نرعقیم دشت/IR68899A و گرده خزر ۱A به ترتیب دارای طول مادگی ۴/۱ و ۲/۶۶ میلی‌متر بودند، سایر ارقام و لاین‌های نرعقیم موجود در این بررسی مادگی متوسط ۳/۱ میلی‌متری داشتند (جدول ۲). از آن جایی که زاویه بین لما و پالٹا همبستگی مثبت و معنی‌داری با طول مادگی دارد، هر چه طول مادگی کاهش پاید انتظار کم شدن ظرفیت پذیرش گرده خارجی و کاهش تشکیل بذر می‌رود که این پدیده برای تولید برنج هیرید مناسب نیست (جدول ۳).

رنگ کلاله در لاین‌های نرعقیم ندا/IR67684A، ندا/IR68888A و ندا/IR68899A ارغوانی روشن و در لاین‌های نرعقیم ندا/خزر ۱A، اوندا/IR68899A و حسنی ریشک قرمز/خزر ۲A به ترتیب ارغوانی، زرد و ارغوانی روشن بود. سایر ژنوتیپ‌ها رنگ کلاله سفید داشتند. رنگ کلاله می‌تواند یکی از معیارهای شناسایی مورفولوژیک لاین‌های نرعقیم حاصل از تلاقی ندا/IR68888A و ندا/IR67684A باشد.

انتخاب بر اساس صفات وابسته به گل از جمله طول کلاله و نسبت خروج کلاله از گلچه، باعث افزایش دگرگشتنی، در نتیجه سبب بهبود تولید بذر هیرید می‌شود (Tillebois and Guimaraes, 1988).

ایرانی حاصله پس از شش نسل تلاقی برگشتی با والد تکراری یعنی همان ارقام ایرانی، حاصل شده‌اند در نتیجه همه خصوصیات پایه پدری را دریافت کردند، همچنین لاین‌های نر عقیم ایرانی، نر عقیمی را از والد مادری خود یعنی لاین‌های نر عقیم خارجی (با پایه سیتوپلاسمی مشابه WA) دریافت کردند. پس دلیل اختلاف خصوصیات آلوگامی در لاین‌های نر عقیم حاصل از تلاقی یک رقم ایرانی را فقط می‌توان به دلیل اثر متقابل ژن‌های هسته‌ای پایه پدری و ژن‌های میتوکندریایی پایه مادری دانست که سبب می‌شود یک پایه پدری با برخی از لاین‌های نر عقیم خارجی دگرگشتنی بالاتری را نشان دهد. در نتیجه ژن‌های میتوکندریایی لاین‌های نر عقیم خارجی، علاوه بر نر عقیمی روی خصوصیات آلوگامی لاین‌های نر عقیم حاصله نیز موثر هستند.

لاین‌های نر عقیم تولید در این تحقیق، برای کارهای اصلاحی نظیر تولید برنج هیرید که حداقل با ۲۰٪ افزایش محصول مواجه خواهد بود می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از مسئولین سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی استان مازندران به خاطر تامین هزینه این پروژه و همچنین از مسئولین دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری و دانشگاه مازندران به خاطر فراهم آوردن امکانات برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

.(Babaeian Jelodar *et al.*, 2005

در مراحل اولیه تکنولوژی برنج هیرید در هند، تعداد هیریدهای معرفی شده ناچیز بود زیرا لاین‌های نر عقیم با منطقه سازگار نبودند و در نتیجه هیریدهای ناخالص تولید می‌شد. برای رفع این مشکل، چند لاین نر عقیم دیگر مثل PMS12A، APMS5A، DRR2A، CR32A و CRMS31A در هند برای اصلاح هیریدهای جدید استفاده شد (Krishnaiah *et al.*, 2001). از بین لاین‌های نر عقیم موجود از دو لاین نر عقیم IR58025A و IR62829A در سطح وسیعی استفاده می‌شود. هر چند که این دو لاین مقاومت به برخی از آفات و بیماری‌های مهم را ندارند. لاین‌های نر عقیم مطلوب در مطالعه کنونی شامل ندا/خزر ۱A، نعمت/۱A، IR68899A، گرده/۱A، IR68888A، آمل-۳/۱A، آمل-۳/۲A، IR69224A، دشت/۱A، اوندا/۱A، IR68899A، خزر ۱A/۱A و شصتک محمدی/خزر ۲A بودند.

علت اختلاف خصوصیات آلوگامی لاین‌های نر عقیم حاصل از تلاقی یک رقم ایرانی با لاین‌های نر عقیم IR69624A، IR68280A، IR68888A، IR68899A، IR67684A، IR58025A و IR62829A را می‌توان این گونه توجیه کرد. از آنجایی که لاین‌های نر عقیم

## References

- Anonymous. 1996.** Standard Evaluation System. International Rice Research Institute. Manila, Philippines.
- Babaeian Jelodar, N., Bagheri, N. A., and Hasannataj, E. 2005.** Development of new Iranian male sterile and restorer lines for developing three-line rice hybrids and quality of hybrid rice. International Rice Genetic Symposium. Manila, Philippines. page 103.
- Babaeian Jelodar, N., Bagheri, N. A., and Hassannataj, E. 2008.** Towards fully coupled crop-climate impacts assessments. 5<sup>th</sup> International Crop Science Congress and Exhibition. Jeju, Korea. page 67.
- Govindaraj, K., and Virmani, S. S. 2000.** Allelism Test for Restorer Genes of Promising IR Lines. IRRI, Manila, Philippines.
- Guanghua, H., Lei, H., Yuehua, X., Xiaoying, L., Guoqing, N., Guangwei, Y., and Yun, P. 2003.** A common sequence difference between cytoplasm male sterile lines and their maintainer lines existing in rice (*Oryza sativa* L.) chloroplast tRNA Leu gene region. *Euphytica* 131: 269-274.
- Ikehoshi, H., and Wan, J. 1998.** The wide compatibility system: current knowledge of it is genetic and use for enhanced yield heterosis. pp. 67-77. In: Virmani, S. S., Siddiq, E. A., and Muralidharan, K. (eds.) Advanced in Hybrid Rice Technology. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Jene, K. K., and Pandey, S. K. 1999.** DNA markers for purification of A and B lines for hybrid rice improvement. *Hybrid Rice Newsletter* 2: 13-14.
- Komari, T., and Nittam, N. 2004.** A simple method to control the seed purity of *Japonica* hybrid rice varieties using PCR- based markers. *Plant Breeding* 123: 549-553.
- Krishnaiah, K., Virakthamath, B. C., Ilyas Ahmad, M., Vijay Kumar, C. H. M., and Ramesha, M. S. 2001.** Recent developments in hybrid rice research in India. pp. 171-191. In: Peng, S., and Hardy, B. (eds.) *Rice Research for Food Security and Poverty Alleviation*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.
- Mao, C. X., Virmani, S. S., and Kumar, I. 1998.** Technological innovation to lower the cost of hybrid seed production. pp. 111-128. In: Virmani, S. S., Siddiq, E. A.,

- and Muralidharan, K. (eds.). *Advances in Hybrid Rice Technology*. International Rice Research Institute. Manila, Philippines.
- Murray, M. G., and Thompson, W. F. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nuclei Acids Research* 8: 4321-4325.
- Nadakumar, N., Singh, A. K., Sharma, R. K., Mohapatra, T., Prabhu, K. V., and Zaman, F. U. 2004.** Molecular fingerprinting of hybrids and assessment of genetic purity of hybrid seeds in rice using microsatellite markers. *Euphytica* 136: 257-264.
- Narhari, P., and Bora, K. C. 1963.** Radiation induced spikelet abnormalities and mutations in rice. *Indian Journal of Genetics* 23:7-18.
- Parmar, K. S., Siddiq, E. A., and Swaminathan, M. S. 1979.** Variation in components of flowering behavior of Indica rice. *Indian Journal of Genetics* 39: 542-550.
- Rajendran, N., Gandhimani, R., Singh, S., and Palchamy, K. 2007.** Development of a DNA marker for distinguishing CMS lines from fertile lines in rice (*Oryza sativa* L.). Research and Training Center, Barwal Fundation, Hyderabad, Andhera Pradesh, India.
- Sane, A. P., Seth, P., Ranade, S. A., Nath, P., and Sane, P. V. 1997.** RAPD analysis of isolated mitochondrial DNA reveals heterogeneity in elite wild abortive (WA) cytoplasm in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 1098-1103.
- Suh, H. S. 1988.** Multiple pistilate male sterile rice for hybrid seed production. pp. 181-187 In: Proceedings of the International Symposium on Hybrid Rice. 6-11 October 1986, Changsha, Hunaa, China.
- Tillebois, J., and Guimaraes, E. P. 1988.** Improving out crossing rate in rice (*Oryza sativa* L.). pp. 175-180. In: Proceedings of the International Symposium on Hybrid Rice. 6-11 October 1986, Changsha, Hunaa, China.
- Virmani, S. S. 1994.** Heterosis and Hybrid Rice Breeding, Monographs on Theoretical and Applied Genetics. 22, Springer- Verlag, Berlin.
- Virmani, S. S., Aquino, R. C., and Khush, G. S. 1982.** Heterosis breeding in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 63: 373-380.
- Xu, S., and Li, B. 1998.** Managing hybrid rice seed production. pp. 157-163. In: Proceedings of the International Symposium on Hybrid Rice. 6-11 October 1986, Changsha, Hunaa, China.

**Yashitola, J., Sundaram, R. M., Biradar, S. K., Thirumurugan, T., Vishnupriya, M. R., Rajeshwari, R., Viraktamath, B. C., Sharma, N. P., and Sonti, R. V.**  
**2004.** A sequence specific PCR marker for distinguishing rice lines on the basis of wild abortive cytoplasm from their cognate maintainer lines. *Crop Science* 44: 920-924.

Archive of SID