Archive of SID

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

ارزیابی میزان پایداری نرعقیمی در تعدادی از لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی در برنج

عمّار افخمی قادی[۱]، نادعلی بابائیان جلودار[۲] و نادعلی باقری[۳]

۱- کارشناس ارشد، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری،
(نویسنده مسوول: a.afkhami@sanru.ac.ir)
۲- استاد و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۴

چکیده

ارزیابی پایداری عقیمی لاین‌های نرعقیم جهت گزینش لاین‌های مطلوب از برنامه‌های مهم در تولید برنج هیبرید است. از این‌رو در تحقیق حاضر از ۷ لاین نرعقیم سیتوپلاسمی (A لاین) و تعداد ۳۳ لاین نرعقیم حاصل از هفتمین تلاقی برگشتی ارقام ایرانی با لاین‌های نرعقیم معرفی‌شده از ایری به همراه لاین والدینی به‌صورت آزمایش کرت‌های خردشده در زمان و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی استفاده گردید. صفات درصد عقیمی گرده در ۹ دوره و عقیمی خوشه در ۵ دوره در شرایط مزرعه‌ای و گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین اثر متقابل لاین‌های مورد مطالعه در زمان برای هر دو صفت عقیمی گرده و خوشه در سطح احتمال ۱ درصد بود. مقایسه میانگین صفت عقیمی گرده نشان داد که پنج رقم نعمت، شصتک محمدی، گرده، حسنی ریشک قرمز و خزر در تمامی تلاقی‌های انجام شده با لاین‌های نرعقیم بین‌المللی، عقیمی کامل در نه دوره ارزیابی از خود نشان داده‌اند و جزء لاین‌های کاملاً عقیم و پایدار بودند که نشان‌دهنده انتقال ژن‌های عقیمی از لاین‌های خارجی به ارقام مورد نظر بود. مقایسه میانگین درصد عقیمی گرده و خوشه در تعدادی از لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی برنج در مراحل ارزیابی عقیمی نشان داده که لاین حسنی A (حسنی × دانش۲A) ضمن داشتن عقیمی کامل در ۴ دوره زمانی مورد مطالعه از شهریور تا مهرماه، در سه دوره نیز از بهار تا شهریور باروری نسبی داشته و تنها در دوره اول کاشت در اوایل بهار بیشترین مقدار تولید بذر نوکلئوس (۲۵/۶۷ درصد) را داشته است. لاین IR68899A نیز که در تمامی مراحل ارزیابی عقیمی بالایی نشان داده بود در شرایط گلخانه‌ای با دمای بالا (> ۲۴ درجه سانتی‌گراد) و طول روز کوتاه (<۱۳/۷۵ ساعت) ۱۵/۶۷ درصد تشکیل بذر داشته است. از این‌رو از این لاین‌ها می‌توان در برنامه هیبرید دو لاین بهره برد.

واژه‌های کلیدی: پایداری عقیمی، نرعقیمی سیتوپلاسمی، برنج

مقدمه

برنج غذای اصلی حدود نیمی از مردم جهان و اغلب مردم کشورهای در حال توسعه است (۸). این محصول یک سوم کل سطح زیر کشت جهانی غلات را در بر دارد و حدود ۳۵ تا ۶۵ درصد کالری مصرفی ۲/۷ میلیارد نفر در جهان را تأمین می‌کند (۱۲). تولید سالانه برنج دنیا می‌بایستی از ۵۲۷ میلیون تن به ۷۵۸ میلیون تن تا سال ۲۰۲۰ برسد تا بتواند جوابگوی تقاضای مورد نیاز باشد (۹). برنج هیبرید ٪۲۰-۱۵ عملکرد بیشتری را نسبت به بهترین لاین‌های اصلاحی پاکوتاه نشان داده است (۲۳،۱۹) به‌طوریکه اصلاح برنج هیبرید نقش مهمی در افزایش عملکرد در تعدادی از کشورهای تولیدکننده برنج از جمله چین ایفا کرده است (۸). بنابراین تکنولوژی برنج هیبرید راهکار مؤثری در افزایش بیشتر عملکرد جهانی برنج ارائه کرد (۲۶،۱۹،۱۱،۷). در این بین جهت تولید بذرهای هیبرید تجاری در برنج، به‌کارگیری پدیده نرعقیمی از ضروریات امر می‌باشد. دو سیستم جهت تولید بذر هیبرید در برنج به‌صورت موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته است. در سیستم سه لاین[۱] از نرعقیمی سیتوپلاسمی CMS[۲] و در سیستم دو لاین[۳] از نرعقیمی حساس به محیط EGMS[۴] بهره‌برداری می‌شود (۲۵،۲۲). اگرچه انواع مختلف نرعقیمی در برنج شناسایی شدند، از میان آنها نرعقیمی سیتوپلاسمی در توسعه و تکامل فن‌آوری تولید بذر هیبرید نقش بیشتری دارد (۲۱). تحقیقات برنج هیبرید هم اکنون روی گسترش و شناسایی لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی بومی پایدار و اعاده‌کننده باروری مؤثر از لاین‌های الیت محلی از طریق تلاقی

1- Three- Line Hybrid
2- Cytoplasm Male Sterility (CMS)
3- Two- Line Hybrid
4- Environmental Genetic Male Sterility (EGMS)

www.SID.ir

Archive of SID

برگشتی تکراری تمرکز دارد (۳). ضرورتاً جهت تولید بذر هیبرید نیاز به لاین‌های نرعقیم پایدار است تا بذر هیبرید با خلوص ژنتیکی بالا تولید گردد. گزارش شده است که حتی ۱ درصد ناخالصی در لاین مادری، می‌تواند عملکرد بذر هیبرید را حدود ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کاهش دهد (۱۴). طبق گزارش سیندهو و کومار (۱۸)، خلوص ژنتیکی بذر هیبرید تجاری در هند ٪۹۸ می‌باشد. بنابراین ضرورت مطالعه پایداری لاین‌های نرعقیم اجتناب‌ناپذیر می‌نماید. ضروری است تا در روند برنامه تولید برنج هیبرید، ارزیابی از پایداری عقیمی در لاین‌های نرعقیم به عمل آید تا لاین‌های نرعقیم با پایداری مطلوب انتخاب و جهت ادامه مراحل کار حفظ و در برنامه سه لاین به‌کارگیری شوند. همچنین می‌توان از لاین‌های کاملاً عقیمی که طی شرایط دمایی و یا طول روز خاصی درصدی برگشت باروری نشان داده در برنامه تولید بذر برنج هیبرید به روش دو لاین بهره برد.

در دو دهه گذشته حدود ۲۰ منبع نرعقیم شناسایی شده است اما از منبع WA به دلیل ایجاد لاین‌های نرعقیم پایدار و وجود تعداد زیاد لاین‌های اعاده‌کننده برای آنها، در تولید هیبریدهای تجاری بیشتر استفاده می‌شود (۱۹). بابائیان جلودار و همکاران (۲) در مطالعه خود، با بررسی باروری دانه گرده در تلاقی‌های F_1 حاصل از لاین‌های نرعقیم بین‌المللی با ارقام محلی و اصلاح‌شده، ارقام سنگ طارم، دمسیاه، فجر و عنبربو را به‌عنوان ارقام نیمه بارور و ارقام سفید رود و حسنی را ارقامی با عقیمی ناپایدار معرفی نمودند. آنها ارقامی که در سال‌های متفاوت درصد عقیمی مختلفی نشان می‌دادند را به‌عنوان ارقام ناپایدار معرفی نمودند. منابع متعدد نرعقیم، عدم پایداری در نرعقیمی را نشان می‌دهند (۲۰،۴). پرادان و همکاران (۱۵) نیز طی مطالعاتی که روی پایداری عقیمی دانه گرده ۲۲ لاین نرعقیم ژنتیکی- سیتوپلاسمی در طی شش فصل از سال‌های متفاوت انجام دادند، این لاین‌ها بر اساس شکل ظاهری و رنگ دانه گرده به چهار گروه چروکیده بی‌رنگ عقیم، کروی بی‌رنگ عقیم، عقیم کم‌رنگ و کروی پررنگ بارور تقسیم شدند. دالماسیو و همکاران (۶،۵) دو لاین نرعقیم شناسایی نمودند که یکی از این لاین‌ها IR67707A بوده و دارای نرعقیمی کامل و پایداری است.

وانگ و لو (۲۴) با بررسی چهار لاین نرعقیم برنج از نوع WA و HL در تاریخ‌های مختلف کاشت، لاین Yuetai A که از نوع نرعقیم HL بود را به‌عنوان لاین کاملاً پایدار و رتون حاصله از آن را نیز بعد از رنگ‌آمیزی دانه گرده، کاملاً عقیم و پایدار معرفی کردند.

به‌طورکلی هدف از این تحقیق با توجه به تأثیر پایداری عقیمی لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی در میزان خلوص بذر تولیدی هیبرید و استفاده از لاین‌های کاملاً عقیم ناپایدار برای تولد بذر A لاین، مطالعه میزان پایداری لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسم برنج، شناسایی لاین‌های مستعد برای ایجاد سیستم دو لاین و تعیین نرعقیم‌های برتر از لحاظ پایداری عقیمی بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۷ لاین نرعقیم سیتوپلاسمی (A لاین) و نگهدارنده آنها (B لاین) و تعداد ۳۳ لاین نرعقیم برنج حاصل از تلاقی برگشتی ارقام ایرانی (BC_7) با لاین‌های نرعقیم ارسالی از ایری (۲) بودند که به همراه لاین والدینی جهت تولید بذر نوکلئوس کافی برای کشت در مزرعه آموزشی- پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری با مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۸ دقیقه شمالی و ۵۳ درجه و ۹ دقیقه شرقی استفاده گردید (جدول ۱).

در زمان خوشه‌دهی، لاین‌های نرعقیم از مزرعه به گلخانه منتقل و با لاین نگهدارنده مربوطه تلاقی داده شدند. بدین طریق که بوته‌های مادری A لاین در ساعات خنک روز و در هنگام غروب از درون مزرعه شالیزار جدا و در درون سطل‌های مناسب گذاشته شده و به گلخانه و در مکان خنک و سایه‌دار انتقال داده شدند. در صبح روز بعد خوشه‌هایی که یک سوم از غلاف بیرون آمدند و هنوز باروری در آن صورت نگرفته انتخاب و گلچه‌های آن به‌صورت اوریب با قیچی برش داده شدند. سپس با کاغذ سلوفان پوشش داده شدند. قبل از برش گلچه‌ها، از بوته‌های مربوط به لاین نگهدارنده (B لاین) مربوطه در مزرعه، خوشه‌هایی که دو سومشان از غلاف بیرون آمدند انتخاب و از بوته خود جدا شده و جهت استفاده از گرده در شرایط دمایی، رطوبتی و نوری مناسب نگهداری گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

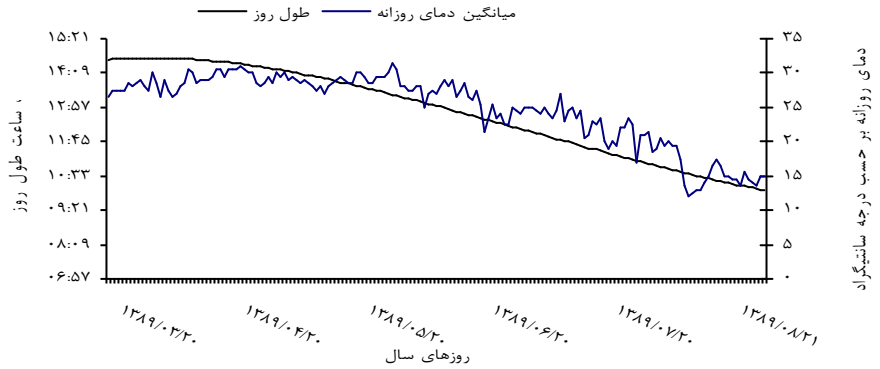
جدول ۱- اسامی لاین‌های نرعقیم حاصل از تلاقی برگشتی و والد مادری و نگهدارنده به همراه شجره آنها

ردیف	لاین‌های نرعقیم حاصل از تلاقی برگشتی	ردیف	لاین‌های نرعقیم حاصل از تلاقی برگشتی و A لاین‌های مادری	ردیف	لاین- B
۱	ندا A (ندا × IR58025A)	۲۱	گرده A (گرده × خزر A)	۱	IR68888 B
۲	ندا A (ندا × IR68280A)	۲۲	گرده A (گرده × IR68888A)	۲	IR68280 B
۳	ندا A (ندا × IR68899A)	۲۳	گرده A (گرده × دانش۲A)	۳	IR69224 B
۴	ندا A (ندا × خزر A)	۲۴	حسنی ریشک قرمز A (حسنی ریشک قرمز × دانش۲A)	۴	IR58025 B
۵	ندا A (ندا × IR62829A)	۲۵	IR68888A	۵	IR62829 B
۶	ندا A (ندا × IR67684A)	۲۶	IR68280A	۶	IR68899B
۷	ندا A (ندا × IR68888A)	۲۷	IR69224A	۷	خزر B
۸	ندا A (ندا × IR69224A)	۲۸	IR58025A	۸	ندا B
۹	ندا A (ندا × دانش۲A)	۲۹	IR62829A	۹	حسنی B
۱۰	حسنی A (حسنی × دانش۲A)	۳۰	IR68899A	۱۰	نعمت B
۱۱	نعمت A (نعمت × IR68888A)	۳۱	خزر A	۱۱	شصتک محمدی B
۱۲	نعمت A (نعمت × IR68899A)	۳۲	اوندا A (اوندا × IR58025A)	۱۲	دشت B
۱۳	نعمت A (نعمت × IR62829A)	۳۳	سنگ طارم A (سنگ طارم × IR68280A)	۱۳	اوندا B
۱۴	نعمت A (نعمت × IR68897A)	۳۴	سنگ طارم A (سنگ طارم × خزر A)	۱۴	آمل ۳ B
۱۵	شصتک محمدی A (شصتک محمدی × دانش۲A)	۳۵	سنگ طارم A (سنگ طارم × دانش۲A)	۱۵	گرده B
۱۶	دشت A (دشت × IR68899A)	۳۶	سپیدرود A (سپیدرود × IR69224A)	۱۶	حسنی ریشک قرمز B
۱۷	دشت A (دشت × IR68888A)	۳۷	سپیدرود A (سپیدرود × IR68897A)	۱۷	سنگ طارم B
۱۸	اوندا A (اوندا × IR68899A)	۳۸	سپیدرود A (سپیدرود × IR62829A)		
۱۹	آمل ۳ A (آمل ۳ × IR69224A)	۳۹	سپیدرود A (سپیدرود × IR67684A)		
۲۰	آمل ۳ A (آمل ۳ × IR68888A)	۴۰	سپیدرود A (سپیدرود × خزر A)		

در ساعات بین ۱۲:۳۰ تا ۱۳:۳۰ زمانی که بساک‌های مربوط به خوشه‌های B لاین به طور قابل قبولی نمایان شدند و آمادگی پخش دانه گرده را پیدا کردند برای گرده‌افشانی روی گلچه‌های برش داده شده از بوته A لاین ریخته شده و سپس با کاغذ سلوفان پوشانده شدند. بعد از رسیدگی، بذور برداشت و در یخچال نگهداری شد. در سال زراعی ۱۳۸۹، بذور لاین‌های نرعقیم در آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در زمان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت گردید. سه تاریخ کاشت اصلی (۶ اردیبهشت، ۶ خرداد و ۶ تیر) به فاصله زمانی یک ماه از هم برای بذرپاشی در نظر گرفته شد. یک ماه پس از بذرپاشی در خزانه، نشاها با فاصله ۲۵× ۲۵ سانتی‌متر در زمین اصلی کاشته شدند. از تعدادی بوته‌های هر تاریخ کاشت نیز برای رتون‌گیری استفاده شد. بدین طریق که تعدادی از بوته‌ها در مرحله رسیدگی، از ۳۰ سانتی‌متری سطح زمین برش داده شدند. همچنین تعدادی از بوته‌های مربوط به تاریخ کشت اصلی سوم در زمان پنجه‌زنی برای بررسی عقیمی در شرایط دمایی بالا (> ۲۴ درجه سانتی‌گراد) و طول روز کوتاه (در گلخانه < ۱۳/۷۵ ساعت) (شکل ۱) از مزرعه به گلخانه‌ی با دمای حداقل ۲۴ درجه سانتی‌گراد و حداکثر ۳۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. عملیات داشت از قبیل مبارزه با علف‌های هرز و آفات و بیماری‌ها طبق دستورالعمل فنی مؤسسه تحقیقات برنج کشور انجام گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- میانگین درجه حرارت و ساعات طول روز از تاریخ ۲۰ خرداد تا ۳۰ آبان ماه در سال ۱۳۸۹

بعد از گلدهی در ساعات اولیه صبح (۹-۱۱) از داخل لاین‌های مورد مطالعه بعد از یادداشت تاریخ شروع گلدهی و مشخص نمودن نام لاین مورد مطالعه روی اتیکت، ۳ بوته از هر لاین و از هر بوته ۲ خوشه انتخاب و به آزمایشگاه منتقل شدند.

جهت آزمون عقیمی دانه گرده لاین‌ها، در آزمایشگاه از بوته‌های انتخاب شده اولیه، ۵ گلچه مربوط به هر یک از خوشه‌ها به طور جداگانه برداشت و با قیچی طوری برش داده شدند تا پرچم‌های آن در معرض دید قرار گیرند (۱۸). سپس بساک‌ها جدا و روی لام قرار داده شد و با پنس به خوبی له شدند سپس یک قطره از محلول رنگ‌آمیزی ۱ درصد یدید یدور پتاسیم ($KI-I_2$)، به نمونه اضافه شد و لاملی روی آنها قرار گرفت. نمونه حاصل به ۵ ناحیه مساوی تقسیم و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴ و ۱۰ وضعیت باروری دانه‌های گرده هر نمونه شمارش گردید. میانگین اعداد به‌دست آمده به‌عنوان درصد عقیمی در آن نمونه در نظر گرفته شد. لاین‌های نرعقیم بر اساس میزان عقیمی دانه‌های گرده بصورت زیر طبقه‌بندی شدند (جدول ۲، شکل ۲) (۲۱،۱۰).

جدول ۲- طبقه‌بندی لاین‌های نرعقیم بر اساس درصد رنگ‌آمیزی دانه گرده

گروه	درصد دانه‌های گرده عقیم
کاملاً عقیم (CS)	۱۰۰
عقیمی بالا (HS)	۹۹-۹۹/۹
عقیم (S)	۹۵-۹۸/۹
نیمه عقیم (PS)	۷۰-۹۴/۹
نیمه بارور (PF)	۳۱-۶۹/۹
بارور (F)	۲۱-۳۰/۹
کاملاً بارور (CF)	۰-۲۰/۹

در مجموع ۹ دوره زمانی {کشت اول یک مرحله (۷ مرداد)، کشت دوم سه مرحله (۲۷ مرداد، ۳ شهریور و ۱۰ شهریور)، کشت سوم دو مرحله (۱۷ شهریور و ۲۴ شهریور)، رتون کشت اول دو مرحله (۳۱ شهریور و ۷ مهر تا ۱۴ مهر) و کشت در گلخانه یک مرحله (۳۱ شهریور-۱ آبان)} و حدوداً هر هفته یک بار ارزیابی عقیمی گرده لاین‌ها انجام گردید. لازم به ذکر است که رتون مربوط به کشت دوم و سوم لاین‌ها به‌علت شروع سرمای پاییزه به خوشه نرفته و بنابراین ارزیابی عقیمی گرده و خوشه در آنها صورت نپذیرفت. در مزرعه نیز تعدادی از خوشه‌های مربوط به بوته‌هایی که در مرحله بیرون آمدن از غلاف بودند با کاغذ سلوفان ایزوله کرده تا دانه گرده بیگانه روی آن ننشیند بدین ترتیب می‌توان درصد باروری خوشه را تعیین نمود (۸). این کار نیز برای ۵ تاریخ کشت اول (۶ اردیبهشت)، دوم (۶ خرداد)، سوم (۶ تیر)، رتون کشت اول (۲۷ مرداد) و گلخانه (انتقال در ۷ شهریور) انجام شد.

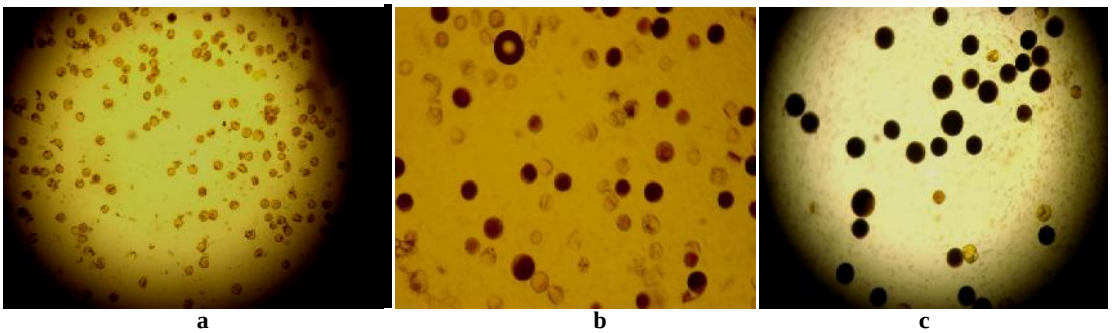
برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین لاین‌های مورد مطالعه بود که بیانگر این مطلب است که لاین‌ها به‌طور یکسان نتوانسته‌اند عقیمی کامل را از والد مادری دریافت نمایند و تعدادی از لاین‌ها، درصد متغیری از باروری نشان دادند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین اثر متقابل لاین‌های مورد مطالعه در زمان برای صفت عقیمی دانه گرده و خوشه در سطح احتمال ۱ درصد بود (جدول ۳).



a b c

شکل ۲- گروه‌بندی لاین‌های نرعقیم بر اساس میزان عقیمی دانه گرده a کاملاً عقیم، b نیمه عقیم، c باروری کامل

در مطالعه حاضر، بررسی سیتولوژی دانه گرده نشان‌دهنده این مطلب بود که تعدادی از لاین‌های مورد مطالعه همچون لاین‌های سپیدرود A (سپیدرود × IR69224A) و سپیدرود A (سپیدرود × IR62829A) دارای باروری گرده بالایی بوده‌اند (جدول ۳) و انتقال سیتوپلاسم عقیم نتوانسته است نتیجه رضایت‌بخشی نشان دهد و در هیچ یک از مراحل ارزیابی عقیمی کامل نداشته (داده‌ها نشان داده نشده است) بنابراین پیشنهاد حذف آنها از برنامه هیبرید داده می‌شود.

جدول ۳- تجزیه واریانس عقیمی دانه گرده و خوشه برای لاین‌های نرعقیم برنج مورد مطالعه در ۹ دوره ارزیابی عقیمی گرده و ۵ دوره ارزیابی عقیمی خوشه

منابع تغییرات	درجه آزادی	MS	منابع تغییرات	درجه آزادی	MS
		درصد عقیمی گرده			درصد عقیمی خوشه
بلوک	۲	۰/۷۷	بلوک	۲	۸/۵۸
لاین	۳۹	۳۱۹۱/۷۹**	لاین	۳۹	۸۵۹/۹۶**
بلوک داخل لاین	۷۸	۱/۴۵	بلوک داخل لاین	۷۸	۹/۱۴
زمان	۸	۱۰۵۶/۹۶**	زمان	۴	۳۲۷/۰۴**
لاین × زمان	۳۱۲	۴۳۴/۵۸**	لاین × زمان	۱۵۶	۱۶۹/۴۹**
بلوک × زمان	۱۶	۱/۵۱	بلوک × زمان	۸	۱/۵۵
باقیمانده (اشتباه)	۶۲۴	۱/۵۴	باقیمانده (اشتباه)	۳۱۲	۵/۸۹
CV (%)		۱/۳۲	CV (%)		۲/۵۰

*، **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns: غیرمعنی‌دار.

مقایسه میانگین صفت عقیمی دانه گرده (جدول ۴) نشان داد که پنج رقم نعمت، شصتک محمدی، گرده، حسنی ریشک قرمز و خزر در تمامی تلاقی‌های انجام شده با لاین‌های استاندارد، عقیمی کامل از خود نشان داده که این امر نشان‌دهنده صحت انتقال ژن‌های نرعقیمی از لاین‌های خارجی به ارقام مورد نظر می‌باشد همچنین این ارقام در تمامی طول سال چه در شرایط دمایی بالا (>۲۴ درجه سانتی‌گراد) و طول روز بلند (>۱۳/۷۵ ساعت) و چه در شرایط دمایی پایین (<۲۴ درجه سانتی‌گراد) و طول روز کوتاه (<۱۳/۷۵ ساعت) و چه شرایط دمایی بالا (> ۲۴ درجه سانتی‌گراد) و طول روز کوتاه (در گلخانه <۱۳/۷۵ ساعت) عقیمی کامل خود را حفظ کرده بنابراین جزء لاین‌های کاملاً عقیم و پایدار قرار می‌گیرند در نتیجه این دسته از لاین‌ها را می‌توان در برنامه تولید هیبرید سه لاین برای تکثیر و تولید بذر با خلوص ژنتیکی بالا به کار برد و نگرانی از بابت تولید بذر مادری (A لاین) در مجموعه بذر هیبرید وجود نخواهد داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد عقیمی گرده برای ۹ دوره ارزیابی عقیمی و خوشه برای ۵ دوره ارزیابی باروری خوشه در لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی برنج به همراه والد مادری آنها

لاین‌ها	درصد عقیمی گرده	درصد عقیمی خوشه	طول تاریخ خوشه‌دهی (ماه/ روز)	ادامه A لاین‌ها	درصد عقیمی گرده	درصد عقیمی خوشه	طول تاریخ خوشه‌دهی (ماه/ روز)
ندا A (ندا × IR58025A)	۹۹/۸۷^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۱۲-۰۵/۰۱	گرده A (گرده × خزر A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۱۲-۰۴/۲۱
ندا A (ندا × IR68280A)	۹۲/۹۴^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۱-۰۵/۰۴	گرده A (گرده × IR68888A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۷/۲۲-۰۴/۲۱
ندا A (ندا × IR68899A)	۹۳/۴۱^{g}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۵-۰۵/۰۲	گرده A (گرده × دانش۲A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۴-۰۴/۲۱
ندا A (ندا × خزر A)	۹۹/۲۹^{a}	۹۹/۴۰^{a}	۰۸/۰۲-۰۴/۲۹	حسنی ریشک قرمز A (حسنی ریشک قرمز × دانش۲A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۷/۲۷-۰۴/۲۵
ندا A (ندا × IR62829A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۶-۰۴/۲۹	IR68888A	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۱۰-۰۴/۳۱
ندا A (ندا × IR67684A)	۹۹/۹۳^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۳-۰۵/۰۵	IR68280A	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۱۰-۰۴/۲۹
ندا A (ندا × IR68888A)	۹۹/۸۲^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۵-۰۵/۰۵	IR69224A	۹۶/۹۲^{d}	۹۸/۸۷^{abc}	۰۷/۱۹-۰۵/۰۴
ندا A (ندا × IR69224A)	۹۹/۱۹^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۵-۰۵/۰۲	IR58025A	۹۷/۶^{c}	۹۹/۸۷^{a}	۰۸/۱۰-۰۵/۱۳
ندا A (ندا × دانش۲A)	۹۹/۷۷^{a}	۹۹/۸^{a}	۰۷/۲۴-۰۵/۰۲	IR62829A	۹۹/۷۸^{a}	۹۹/۱۳^{ab}	۰۸/۱۰-۰۵/۰۳
حسنی A (حسنی × دانش۲A)	۷۷/۴۱^{k}	۹۳/۲۷^{d}	۰۷/۱۶-۰۴/۱۶	IR68899A	۹۹/۳۷^{a}	۹۶/۸۷^{bc}	۰۷/۱۳-۰۴/۲۷
نعمت A (نعمت × IR68888A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۵-۰۵/۰۷	خزر A	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۳-۰۵/۰۳
نعمت A (نعمت × IR68899A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۵-۰۵/۱۰	اوندا A (اوندا × IR58025A)	۹۸/۳۳^{b}	۱۰۰^{a}	۰۸/۱۰-۰۴/۲۴
نعمت A (نعمت × IR62829A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۱۰-۰۴/۲۷	سنگ طارم A (سنگ طارم × IR68280A)	۷۷/۱۵^{k}	۹۶/۵۴^{c}	۰۷/۱۵-۰۴/۱۴
نعمت A (نعمت × IR68897A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۱۲-۰۵/۰۷	سنگ طارم A (سنگ طارم × خزر A)	۸۶/۶۳^{j}	۹۹/۴۵^{a}	۰۷/۱۸-۰۴/۱۹
شصتک محمدی A (شصتک محمدی × دانش۲A)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۰۷/۳۰-۰۴/۱۶	سنگ طارم A (سنگ طارم × دانش۲A)	۹۰/۳۰^{i}	۹۹/۶۱^{a}	۰۷/۱۸-۰۴/۲۲
دشت A (دشت × IR68899A)	۹۱/۴۸^{h}	۹۹/۴۷^{a}	۰۸/۱۰-۰۵/۰۲	سپیدرود A (سپیدرود × IR69224A)	۵۳/۵۶^{o}	۶۳/۶۲^{h}	۰۸/۱۲-۰۴/۲۲
دشت A (دشت × IR68888A)	۹۴/۷۸^{f}	۹۷/۸۷^{abc}	۰۸/۱۰-۰۴/۲۲	سپیدرود A (سپیدرود × IR68897A)	۶۸/۲۶^{n}	۸۳/۳۵^{f}	۰۸/۰۹-۰۴/۲۹
اوندا A (اوندا × IR68899A)	۹۹/۲۳^{a}	۱۰۰^{a}	۰۸/۰۳-۰۴/۲۳	سپیدرود A (سپیدرود × IR62829A)	۷۴/۲۶^{l}	۷۲/۰۱^{g}	۰۸/۰۲-۰۴/۲۷
آمل ۳ A (آمل ۳ × IR69224A)	۹۰/۹۲^{hi}	۹۶/۵۳^{c}	۰۸/۱۳-۰۵/۰۳	سپیدرود A (سپیدرود × IR67684A)	۷۲/۷۷^{m}	۹۰/۴۶^{e}	۰۸/۰۳-۰۵/۰۴
آمل ۳ A (آمل ۳ × IR68888A)	۹۲/۷۸^{g}	۹۹/۷۳^{a}	۰۸/۲۵-۰۵/۱۶	سپیدرود A (سپیدرود × خزر A)	۹۶/۰۶^{e}	۹۹/۹۷^{a}	۰۸/۰۱-۰۵/۰۳

در هر ستون حروف مشابه نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست.

www.SID.ir

Archive of SID

البته در بررسی انجام شده مشاهده شد که کیسه جنین لاین حسنی ریشک قرمز در آخر فصل کاشت و با قرار گرفتن در سرما به رشد خود ادامه و دو بافت لما و پالئای دانه را تشکیل داده اما آندوسپرم آن تشکیل نشده و در نهایت جنین از بین می‌رود. از میان لاین‌های ندا تنها در تلاقی ندا × IR62829A عقیمی کامل و پایدار حاصل شده پس مناسب‌ترین لاین ندا، در برنامه تولید بذر هیبرید است و البته سایر لاین‌های ندا از عقیمی بالایی ($\bar{x}$ =۹۸/۳۵) برخوردار بودند (داده نمایش داده نشده است). دالماسیو و همکاران (۵،۶) در مطالعات خود، دو لاین نرعقیم شناسایی نمودند که یکی از این لاین IR67707A که دارای سیتوپلاسم گونه *O. perennis* و هسته لاین IR64 بوده و نرعقیمی کامل و پایداری داشته است. نبوی و همکاران (۱۵) نیز در تحقیق خود علت اختلاف خصوصیات آلوگامی لاین‌های حاصل از تلاقی یک پایه پدری با برخی از لاین‌های نرعقیم را اثر متقابل ژن‌های هسته‌ای پایه پدری و ژن‌های میتوکندریایی والد مادری بیان کرده‌اند. در برخی از لاین‌ها همچون لاین حسنی A، آمل۳ A (آمل۳ × IR68824A)، سنگ طارم A (سنگ طارم × IR68280A) علی‌رغم ناپایداری در عقیمی، مشاهده شد که می‌توان در شرایط بخصوصی از سال (همچون ۳ و ۱۰ شهریور در این تحقیق برای لاین حسنی A) به عقیمی کامل رسید و در شرایطی دیگر از سال (همچون ۷ مرداد در این تحقیق برای لاین حسنی A) درصدی باروری ایجاد و در نتیجه بذر نوکلئوس مادری را بدون نیاز به تلاقی با لاین نگهدارنده تولید کرد (جدول ۵) زمانی هم که لاین‌ها عقیمی کامل دارند می‌توان در تلاقی با لاین برگرداننده برای تولید بذر هیبرید مورد استفاده قرار گیرند بنابراین به نظر می‌رسد این لاین‌ها پتانسیل تولید بذر هیبرید به روش سیستم دو لاین را داشته باشند. مقایسه میانگین درصد عقیمی گرده و باروری خوشه در تعدادی از لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی برنج در مراحل ارزیابی عقیمی نشان داده است که لاین حسنی A (حسنی × دانش۲A) ضمن داشتن عقیمی کامل در ۴ دوره (۳ شهریور، ۱۰ شهریور، ۱۷ شهریور و ۷ مهر تا ۱۴ مهر)، در سه دوره (تاریخ کاشت اول ۶ اردیبهشت، تاریخ کاشت سوم ۶ تیر و در گلخانه در ۷ شهریور) باروری نسبی داشته و در دوره اول کاشت (۶ اردیبهشت) بیشترین مقدار تولید بذر نوکلئوس (۲۵/۶۷ درصد) را داشته است. لاین IR68899A نیز که در تمامی مراحل ارزیابی عقیمی بالایی نشان داده بود در شرایط گلخانه‌ای با دمای بالا (< ۲۴ درجه سانتی‌گراد) و طول روز کوتاه (< ۱۳/۷۵ ساعت) ۱۵/۶۷ درصد تشکیل بذر داشته است (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین درصد عقیمی دانه گرده و درصد باروری خوشه در تعدادی از لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی برنج در مراحل ارزیابی عقیمی

	لاین‌ها	L10	L19	L30	L33	L34
		درصد عقیمی گرده				
مراحل ارزیابی عقیمی دانه گرده و باروری خوشه	(۷ مرداد)	۷۲/۶۷^{c}	۹۸/۶۷^{a}	۱۰۰^{a}	۳۰/۳۳^{e}	۸۲/۶۷^{d}
	(۲۷ مرداد)	e۵۲	۹۷/۶۷^{a}	۱۰۰^{a}	۶۹^{d}	۸۱/۶۷^{d}
	(۳ شهریور)	۱۰۰^{a}	۹۴/۶۷^{b}	۱۰۰^{a}	۹۲/۳۳^{b}	۸۲/۳۳^{d}
	(۱۰ شهریور)	۱۰۰^{a}	۹۸/۶۷^{a}	۱۰۰^{a}	۲۵^{f}	۹۲/۳۳^{b}
	(۱۷ شهریور)	۱۰۰^{a}	۸۴/۶۷^{d}	۹۹/۰۳^{b}	۹۲/۳۳^{b}	۸۶/۶۷^{c}
	(۲۴ شهریور)	۶۲^{d}	۷۲/۶۷^{f}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۷۳^{e}
	(۳۱ شهریور)	۸۳^{b}	۹۰/۳۳^{c}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۸۲/۳۳^{d}
	(۷ مهر تا ۱۴ مهر)	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}	۸۵/۳۳^{c}	۹۸/۶۷^{a}
	(از گلخانه۶/۳۱-۸/۱)	۲۷^{f}	۸۱^{e}	۹۵/۳۳^{c}	۱۰۰^{a}	۱۰۰^{a}
		درصد باروری خوشه				
	(تاریخ کاشت اول ۲/۶)	۲۵/۶۷^{a}	۰^{b}	۰^{b}	۵/۹۴ab	۰/۴۰^{bc}
	(تاریخ کاشت دوم ۳/۶)	۰^{d}	۰^{b}	۰^{b}	۱۱/۳۳a	۱/۳۳^{a}
	(تاریخ کاشت سوم ۴/۶)	۰/۳۳^{c}	۰^{b}	۰^{b}	۰^{b}	۰^{c}
	(رتون کشت اول۵/۲۷)	۰^{d}	۰^{b}	۰^{b}	۰^{b}	۱^{ab}
	(انتقال به گلخانه در ۶/۷)	۷/۶۷^{b}	۱۷/۳۳^{a}	۱۵/۶۷^{a}	۰^{b}	۰^{c}

L10: حسنی A (حسنی × دانش۲A)، L19: آمل ۳ A (آمل ۳ × IR69224A)، L30: IR68899A، L33: سنگ طارم A (سنگ طارم × IR68280A) و L34: سنگ طارم A (سنگ طارم × خزر A).

www.SID.ir

Archive of SID

از این‌رو از این لاین‌ها می‌توان در برنامه هیبرید دو لاین بهره برد. به نظر می‌رسد که لاین IR68899A از نوع لاین نرعقیم حساس به دما و طول روز (GMS PT برگشتی) باشد. لاین سنگ طارم A (سنگ طارم × خزر A) برعکس سایر لاین‌ها در شرایط گلخانه‌ای کاملاً عقیم بوده و بذری تشکیل نشده و در سایر مراحل ارزیابی، عقیمی متفاوتی داشته بود (جدول ۵).

محققانی همچون علی (۱) رقم JP 24A از گروه ارقام Indica و لو و همکاران (۱۳) رقم Dianxin/A از گروه ارقام Japonica را شناسایی کرده که منشأ آنها CMS بوده و در هند و چین اصلاح شده بودند که این ارقام علی‌رغم وجود نرعقیمی سیتوپلاسمی دارای نرعقیمی حساس به دما بوده و در شرایط دمایی بحرانی، باروری در آنها مشاهده شده بود.

لاین‌های نرعقیم نعمت، شصتک محمدی، گرده، حسنی ریشک قرمز، خزر، حسنیA و آمل۳ A برای کارهای اصلاحی نظیر تولید برنج هیبرید به روش سه لاین و دو لاین که عملکرد بیشتری نسبت به لاین‌های اصلاح شده دارند می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. با این حال برای تولید برنج هیبرید راه زیادی مانده است که باید تلاش بیشتری داشت. گزینش و اولویت‌بندی لاین‌های برتر مورد مطالعه از نظر صفات عقیمی دانه گرده و خوشه برای تولید بذر هیبرید به روش سه لاین به ترتیب مربوط به نعمت A، شصتک محمدی A، گرده A، حسنی ریشک قرمز A و ندا A [(ندا × IR62829A)]، می‌باشد (جدول ۴). همچنین در مورد تولید بذر هیبرید به روش دو لاین نیز لاین‌های حسنی A (حسنی × دانش۲A)، آمل۳ A (آمل۳ × IR68888A)، IR68899A و سنگ طارم A (سنگ طارم × خزر A) به‌عنوان لاین‌های برگزیده انتخاب گردیدند. مطالعه حاضر ارزیابی مقدماتی از لاین‌های نرعقیم اصلاح شده بوده و برای تولید بذر هیبرید تجاری مطالعات گسترده‌تری در زمینه شناسایی لاین‌های برگرداننده باروری و لاین‌های با قدرت انتشار دانه گرده نیازمند است. همچنین ضروری است تا در رابطه با نرعقیم‌های دو لاین، نقطه بحرانی عقیمی و باروری در شرایط فیتوترون ارزیابی تا شرایط بهینه برای تولید بذر هیبرید و نوکلئوس تعیین گردد.

منابع

1. Ali, J. 1993. Studies on temperature sensitive genic male sterility and chemical induced male sterility towards development of two-line hybrids in rice (*Oryza sativa* L.). Ph.D. thesis submitted to the Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India. 138 pp.
2. Babaeian Jelodar, N., N. Bagheri and E. Nattaj. 2005. Development of new Iranian male sterile and restorer lines for developing three-line rice hybrid and quality of hybrid rice. 5th International Rice Genetics Symposium and 3rd International Rice Functional Genetics Symposium, 19-23 Novamber. Manila, Philippines. 67 pp.
3. Bagheri, N. 2010. Genetic analysis and molecular mapping of the fertility restorer genes for WA-type cytoplasmic male sterility of rice. A Thesis Submitted for the Degree of PhD In Plant Breeding. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agricultural Sciences of University of Mazandaran, 148 pp. (In Persian)
4. Brar, D.S., Y.G. Zhu, M.L. Ahmad, P.J. Jachuk and S.S. Virmani. 1998. Diversifyng the CMS system to improve the sustainability of hybrid rice technology. Edited by Virmani, S. S. q.E.A. Sidd, K. Muralihava. 129-145.
5. Dalmacio, R.D., D.S. Brar, T. Ishii, L.A. Sitch, S.S. Virmani and G.S. Khush. 1995. Identification and transfer of a new cytoplasmic male sterility source from (*Oryza perennis*) in to Indica rice (*Oryza sativa*). Euphtica. 82: 221-225.
6. Dalmacio, R.D., D.S. Brar, S.S. Virmani and G.S. Khush. 1996. Male sterile line in rice (*Oryza sativa* L.) developed with O. glumoepatula cytoplasm. Int. Rice Res. NewsL. 21(1): 22-23.
7. He, H.H. and Y.B. Liu. 1998. The research progress on two-line system heterosis in crops. Acta Agric Univ. Jiangxi 20: 39-45.
8. He, H., X. Peng, H. Gong, C. Zhu and G. Ye. 2006. Fertility behavior of rice (*Oryza sativa*) lines with dominant male sterility gene and inheritance of sterility and fertility restoration. Filed Crops Research, 98: 30-38.
9. IRRI. 1989. Towards 2000 and Beyond. Intl. Rice Res. Inst., Manila.
10. IRRI. 2002. Standard evaluation system. International Rice Research Institute, Manila. Philppines. (2): 1-56.
11. Janaiah, A., M. Hossain. 2000. Hybrid rice for food security in the tropics: an evaluation of farm level experiences in India. In: Third International Crop Sci. Cong., 17-22 August, Hamburg Germany.

www.SID.ir

Archive of SID

12. Kazemi Poshtmassari, H.H. Pirdashti, M.A. Bahmanyar and M. Nasiri. 2007. Study the effects of nitrogen fertilizer rates and split application on yield and yield components of different rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. Pajouhesh & Sazandegi. 75: 68-77. (In Persian)
13. Lu, XG., Z.G. Zhang K. Maruyama and S.S. Virmani. 1994. Current status of two-line method of hybrid rice breeding In: Virmani SS, editor. Hybrid rice technology: new developments and future prospects. Manila (Philippines) International Rice Research Institute. 37-39 pp.
14. Mao, C.X., S.S. Virmani and I. Kumar. 1998. Technological innovation to lower the cost of hybrid seed production. In: Virmani et al., (ed) Advances in hybrid rice technology. International Rice Research Institute, Manila. Philippines, 111-128 pp.
15. Nabavi, R., N. Babaeian, N. Bagheri and E. Nataj. 2010. Allogamic characteristics of rice cytoplasmic male sterile lines and using STS marker for distinguishing them. Seed and Plant Improvment Journal. 4: 485-500. (In Persian)
16. Pradhan, S.B., S.N. Ratho and P.J. Jachuck. 1990. Stability of pollen sterility in cytoplasmic genetic male sterile lines in rice. Plant Sciences, 100: 101-105.
17. Sarial, A. and K. Sinh. 2000. Identification of restorers and maintainers for developing basmati and non basmati hybrid in rice, *Oryza sativa*. Plant Breeding, 119: 243-247.
18. Sindh, J.C. and I. Kumar. 2002. Quality seed production in hybrid rice. In: Abstract of the 20th session of International Rice Commision, Bangkok, Thailand. 129-133 pp.
19. Virmani, S.S. 1994. Prospects of hybrid rice in the tropics and subtropics. In: Virmani, S.S. (Ed.), Hybrid Rice Technology, New Developments and Future Prospects. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 7-19 pp.
20. Virmani, S.S. and F.U. Zaman. 1998. Improving grain quality of hybrid rice: chalengs, sterategies and achivment. In: Advance in hybrid rice technology. Edited by Virmani, S.S., E.A. Siddiq, K. Muralidharan. 177-186 pp.
21. Virmani, S.S., B.C. Viraktamath, C.L. Casal, R.S. Toledo, M.T. Lopez and J.O. Manola. 1997. Hybrid rice breeding manual: HR_2 01. International Rice Research Institute. 150 pp.
22. Virmani, S.S. and I.B. Edwards. 1983. Current status and future prospects for breeding hybrid rice and wheat. Advances in Agronomy 36: 145-214.
23. Virmani, S.S., Z.X. Sun, T.M. Mou, A. Jauhar Ali, C.X. Mao. 2003. Two line Hybrid Rice Breeding Manual. International Rice Research Institute, Los Banos Philippines. 88 pp.
24. Wang, J. and Z. LU. 2008. Influence of Genetic Drift of Restoring Gene (*Rf*) on Seed Purity of Yuetai A, a Honglian-Type Cytoplasmic Male Sterile Line in Hybrid Rice. Rice Science, 15(2): 101-109.
25. Yuan, L.P. 1994. Purification and production of foundation seed of rice PGMS and TGMS lines. Hybrid Rice. 6: 1-2.
26. Yuan, L.P. 1998. Hybrid rice breeding in China. In: Virmani, S.S., E.A., Siddiq, K (Eds.), Muralidharan. Advances in Hybrid Rice Technology. Proceedings of the 3rd International Symposium on Hybrid Rice, 14-16 November 1996, Hyderabad, India. Manila, International Rice Research Institute. 27-33 pp.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of Sterility Stability for Some of Rice Cytoplasmic Male Sterile Lines

Ammar Afkhami Ghadi[1], Nadali Babaeian Jelodar[2] and Nadali Bagheri[3]

1- M.Sc., Genetics & Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (Corresponding author: a.afkhami@sanru.ac.ir)
2 and 3- Professor and Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
Received: September 17, 2011 Accepted: May 3, 2012

Abstract

Evaluation of sterility stability between male sterile lines for favorite lines selection is necessary to production of hybrid rice program. So that in present research utilization of 7 cytoplasmic male sterile lines (A line) and 33 male sterile lines product of 7th backcrosses of Iranian varieties with IRRI standard male sterility lines. Experiment was based on a split plot to time design in RCBD. Results of variance analysis showed significant line × time interaction for pollen sterility and panicle at 5% level. Pollen sterility means comparison indicated that five varieties Nemat, Shastak mohammadi, Gerde, Hasani rishak ghermez and Khazar in all crosses with standard lines showed complete sterile in 9 evaluation stages and allocated as completely sterile and stable lines that can be used as sources for transforming sterility genes into new varieties. Pollen and panicle sterility percent of means comparison indicated that Hasani A line despite bearing complete sterility in four stages (3, 10, 17, 7 to 14), have partial fertility in three stages (6, 6, 7 in greenhouse) and have been maximum seed production percentage (25.67%) in 2 initial stages of plant. seed production percentage of IR68899A line that shown the most sterility in all stages was 15.67% at high temperature (> 24c°) and low light (< 13.75 h) conditions in greenhouse. Therefore, could be utilized for two line hybrid programs.

Keywords: Sterility stability, CMS, Rice

www.SID.ir