



ارزیابی میزان پایداری نرعییمی در تعدادی از لاین‌های نرعییم سیتوپلاسمی در برنج

عمار 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 مسؤل: 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 نرعییم جهت گزینش لاین‌های مطلوب از برنامه‌های مهم در تولید برنج هیبرید است. از این‌رو در تحقیق حاضر از ۷ لاین نرعییم سیتوپلاسمی (A لاین) و تعداد ۳۳ لاین نرعییم حاصل از هفتمین تلاقی برگشتی ارقام ایرانی با لاین‌های نرعییم معرفی شده 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 نرعییم 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 نرعییم سیتوپلاسمی برنج در مراحل ارزیابی عقیمی نشان داده که لاین حسنی A (حسنى × دانش A2) ضمن داشتن عقیمی کامل در ۴ دوره زمانی مورد مطالعه از شهر یور 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، نرعییمی سیتوپلاسمی، برنج

مقدمه

بیشتر عملکرد جهانی برنج ارائه کرد (۲۶،۱۹،۱۱،۷). در این بین جهت تولید بذره‌های هیبرید تجاری در برنج، به‌کارگیری پدیده نرعییمی 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 نرعییمی سیتوپلاسمی CMS^۲ و در سیستم دو لاین^۳ از نرعییمی حساس به محیط EGMS^۴ بهره‌برداری می‌شود (۲۵،۲۲). اگرچه انواع مختلف نرعییمی در برنج شناسایی شدند، از میان آنها نرعییمی سیتوپلاسمی در توسعه و تکامل فن‌آوری تولید بذر هیبرید نقش بیشتری دارد (۲۱). تحقیقات برنج هیبرید هم اکنون روی گسترش و شناسایی لاین‌های نرعییم سیتوپلاسمی بومی پایدار و اعاده‌کننده باروری مؤثر از لاین‌های الیت محلی از طریق تلاقی

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 ۱۵-۲۰٪ 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

1- Three- Line Hybrid

3- Two- Line Hybrid

2- Cytoplasm Male Sterility (CMS)

4- Environmental Genetic Male Sterility (EGMS)

وانگ و لو (۲۴) با بررسی چهار لاین نرعیقیم برنج از نوع WA و HL در تاریخ‌های مختلف کاشت، لاین Yuetai A که از نوع نرعیقیم HL بود را به‌عنوان لاین کاملاً پایدار و رتون حاصله از آن را نیز بعد از رنگ‌آمیزی دانه کرده، کاملاً عقیقیم و پایدار معرفی کردند. به‌طور کلی هدف از این تحقیق با توجه به تأثیر پایداری عقیمی لاین‌های نرعیقیم سیتوپلاسمی در میزان خلوص بذر تولیدی هیبرید و استفاده از لاین‌های کاملاً عقیقیم ناپایدار برای تولد بذر A لاین، مطالعه میزان پایداری لاین‌های نرعیقیم سیتوپلاسم برنج، شناسایی لاین‌های مستعد برای ایجاد سیستم دو لاین و تعیین نرعیقیم‌های برتر از لحاظ پایداری عقیمی بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق شامل ۷ لاین نرعیقیم سیتوپلاسمی (A لاین) و نگهدارنده آنها (B لاین) و تعداد ۳۳ لاین نرعیقیم برنج حاصل از تلاقی برگشتی ارقام ایرانی (BC₇) با لاین‌های نرعیقیم 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 نرعیقیم 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.

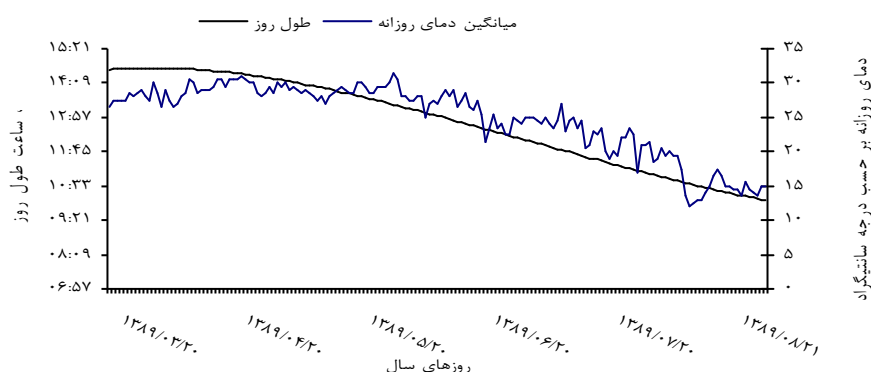
برگشتی تکراری تمرکز دارد (۳). ضرورتاً جهت تولید بذر هیبرید نیاز به لاین‌های نرعیقیم پایدار است تا بذر هیبرید با خلوص ژنتیکی بالا تولید گردد. گزارش شده است که حتی ۱ درصد ناخالصی در لاین مادری، می‌تواند عملکرد بذر هیبرید را حدود ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کاهش دهد (۱۴). طبق گزارش سیندهو و کومار (۱۸)، خلوص ژنتیکی بذر هیبرید تجاری در هند ۹۸٪ می‌باشد. بنابراین ضرورت مطالعه پایداری لاین‌های نرعیقیم اجتناب‌ناپذیر می‌نماید. ضروری است تا در روند برنامه تولید برنج هیبرید، ارزیابی از پایداری عقیمی در لاین‌های نرعیقیم به عمل آید تا لاین‌های نرعیقیم 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 نرعیقیم شناسایی شده است اما از منبع WA به دلیل ایجاد لاین‌های نرعیقیم 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 F₁ حاصل از لاین‌های نرعیقیم بین‌المللی با ارقام محلی و اصلاح‌شده، ارقام سنگ طارم، دمسپاه، 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 نرعیقیم، عدم پایداری در نرعیقیمی را نشان می‌دهند (۲۰،۴). پرادان و همکاران (۱۵) نیز طی مطالعاتی که روی پایداری عقیمی دانه گرده ۲۲ لاین نرعیقیم 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 (۵،۶) دو لاین نرعیقیم شناسایی نمودند که یکی از این لاین‌ها IR67707A بوده و دارای نرعیقیمی کامل و پایداری است.

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

ردیف	لاین‌های نرعیم حاصل از تلاقی برگشتی	ردیف	لاین‌های نرعیم حاصل از تلاقی برگشتی و A	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 × دانش A۲)	۳	IR69224 B
۴	ندا A (ندا × خزر A)	۲۴	حسنى ريشك قرمز A (حسنى ريشك قرمز × دانش A۲)	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 × دانش A۲)	۲۹	IR62829A	۹	حسنى B
۱۰	حسنى A (حسنى × دانش A۲)	۳۰	IR68899A	۱۰	نعمت B
۱۱	نعمت A (نعمت × IR68888A)	۳۱	خزر A	۱۱	شصتک محمدى 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 محمدى A (شصتک محمدى × دانش A۲)	۳۵	سنگ طارم A (سنگ طارم × دانش A۲)	۱۵	گرده B
۱۶	دشت A (دشت × IR68899A)	۳۶	سپيدرود A (سپيدرود × IR69224A)	۱۶	حسنى ريشك قرمز B
۱۷	دشت A (دشت × IR68888A)	۳۷	سپيدرود A (سپيدرود × IR68897A)	۱۷	سنگ طارم B
۱۸	اوندا A (اوندا × IR68899A)	۳۸	سپيدرود A (سپيدرود × IR62829A)		
۱۹	آمل ۳ A (آمل ۳ × IR69224A)	۳۹	سپيدرود A (سپيدرود × IR67684A)		
۲۰	آمل ۳ A (آمل ۳ × IR68888A)	۴۰	سپيدرود A (سپيدرود × خزر A)		

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.

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 نرعیم در آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده 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 بذریاشی در نظر گرفته شد. یک ماه پس از بذریاشی در خزانه، نشاها با فاصله ۲۵ × ۲۵ سانتی‌متر در



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

شد و با پنس به خوبی له شدند سپس یک قطره از محلول رنگ آمیزی ۱ درصد یدید 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 به دست آمده به عنوان درصد عقیمی در آن نمونه در نظر گرفته شد. لاین‌های نر عقیم بر اساس میزان عقیمی دانه‌های گرده بصورت زیر طبقه‌بندی شدند (جدول ۲، شکل ۲) (۲۱، ۱۰).

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

جدول ۲- طبقه‌بندی لاین‌های نر عقیم بر اساس درصد رنگ آمیزی 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

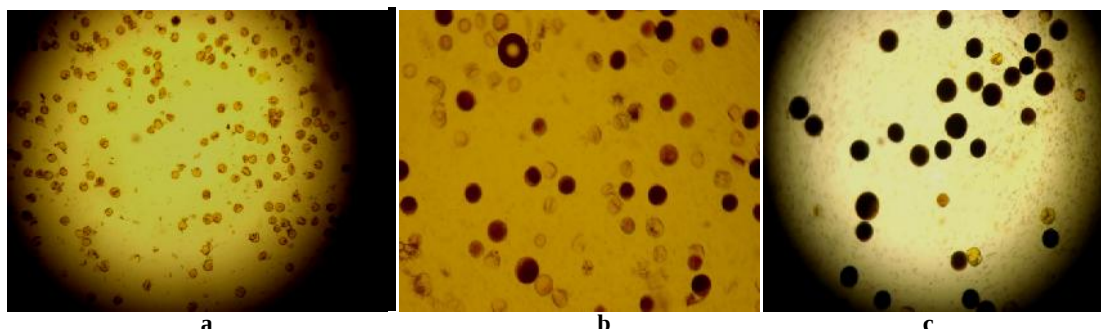
تعدادی از خوشه‌های مربوط به بوته‌هایی که در مرحله بیرون آمدن از غلاف بودند با کاغذ سلوفان ایزوله کرده تا دانه گرده بیگانه روی آن ننشینند بدین ترتیب می‌توان درصد باروری خوشه را تعیین نمود (۸). این کار نیز برای ۵ تاریخ کشت اول (۶ اردیبهشت)، دوم (۶ خرداد)، سوم (۶ تیر)، رتون کشت اول (۲۷ مرداد) و گلخانه (انتقال در ۷ شهریور) انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده گردید.

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 به علت شروع سرمای پاییزه به خوشه نرفته و بنابراین ارزیابی عقیمی گرده و خوشه در آنها صورت نپذیرفت. در مزرعه نیز

نتایج و بحث

لاین‌ها، درصد متغیری از باروری نشان دادند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین اثر متقابل لاین‌های مورد مطالعه در زمان برای صفت عقیمی دانه گرد و خوشه در سطح احتمال ۱ درصد بود (جدول ۳).

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



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

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.

در مطالعه حاضر، بررسی سیتولوژی دانه گرد نشان‌دهنده این مطلب بود که تعدادی از لاین‌های مورد مطالعه همچون لاین‌های سپیدرود A (سپیدرود × IR62829A) و سپیدرود A (سپیدرود × IR69224A) دارای باروری گرد بالایی بوده‌اند (جدول ۳) و انتقال

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

منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد عقیمی گرد	MS	منابع تغییرات	درجه آزادی	درصد عقیمی خوشه	MS
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.

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.

مقایسه میانگین صفت عقیمی دانه گرد (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 نرغیمی 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

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

لاین‌ها	درصد عقیمی گرده	درصد عقیمی خوشه	طول تاریخ	ادامه A لاین‌ها	درصد عقیمی گرده	درصد عقیمی خوشه	طول تاریخ
ندا A (ندا × IR58025A)	۹۹/۸۷ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۱-۰۸/۱۲	گرده A (گرده × خزر A)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۱-۰۸/۱۲
ندا A (ندا × IR68280A)	۹۲/۹۴ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۴-۰۸/۰۱	گرده A (گرده × IR68888A)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۱-۰۷/۲۲
ندا A (ندا × IR68899A)	۹۳/۴۱ ^g	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۲-۰۸/۰۵	گرده A (گرده × دانش A۲)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۱-۰۸/۰۴
ندا A (ندا × خزر A)	۹۹/۲۹ ^a	۹۹/۴۰ ^a	۰۴/۲۹-۰۸/۰۲	حسنى ريشك قرمز A (حسنى ريشك قرمز × دانش A۲)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۵-۰۷/۲۷
ندا A (ندا × IR62829A)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۹-۰۸/۰۶	IR68888A	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۳۱-۰۸/۱۰
ندا A (ندا × IR67684A)	۹۹/۹۳ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۵-۰۸/۰۳	IR68280A	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۹-۰۸/۱۰
ندا A (ندا × IR68888A)	۹۹/۸۳ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۵-۰۸/۰۵	IR69224A	۹۶/۹۲ ^d	۹۸/۸۷ ^{abc}	۰۵/۰۴-۰۷/۱۹
ندا A (ندا × IR69224A)	۹۹/۱۹ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۲-۰۸/۰۵	IR58025A	۹۷/۶ ^c	۹۹/۸۷ ^a	۰۵/۱۳-۰۸/۱۰
ندا A (ندا × دانش A۲)	۹۹/۷۷ ^a	۹۹/۸ ^a	۰۵/۰۲-۰۷/۲۴	IR62829A	۹۹/۱۳ ^{ab}	۹۹/۱۳ ^{ab}	۰۵/۰۳-۰۸/۱۰
حسنى A (حسنى × دانش A۲)	۷۷/۴۱ ^k	۹۳/۲۷ ^d	۰۴/۱۶-۰۷/۱۶	IR68899A	۹۶/۳۷ ^a	۹۶/۸۷ ^{bc}	۰۴/۲۷-۰۷/۱۳
نعمت A (نعمت × IR68888A)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۷-۰۸/۰۵	خزر A	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۳-۰۸/۰۳
نعمت A (نعمت × IR68899A)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۱۰-۰۸/۰۵	اوندA A (اوندA × IR58025A)	۹۸/۳۳ ^b	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۴-۰۸/۱۰
نعمت A (نعمت × IR62829A)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۷-۰۸/۱۰	سنگ طارم A (سنگ طارم × IR68280A)	۷۷/۱۵ ^k	۹۶/۵۴ ^c	۰۴/۱۴-۰۷/۱۵
نعمت A (نعمت × IR68897A)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۵/۰۷-۰۸/۱۲	سنگ طارم A (سنگ طارم × خزر A)	۸۶/۶۳ ^j	۹۹/۴۵ ^a	۰۴/۱۹-۰۷/۱۸
شصتک محمدى A (شصتک محمدى × دانش A۲)	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۱۶-۰۷/۳۰	سنگ طارم A (سنگ طارم × دانش A۲)	۹۰/۳۰ ⁱ	۹۹/۶۱ ^a	۰۴/۲۲-۰۷/۱۸
دشت A (دشت × IR68899A)	۹۱/۴۸ ^h	۹۹/۴۷ ^a	۰۵/۰۲-۰۸/۱۰	سپیدرود A (سپیدرود × IR69224A)	۵۳/۵۶ ^o	۶۳/۶۲ ^h	۰۴/۲۲-۰۸/۱۲
دشت A (دشت × IR68888A)	۹۴/۷۸ ^f	۹۷/۸۷ ^{abc}	۰۴/۲۲-۰۸/۱۰	سپیدرود A (سپیدرود × IR68897A)	۶۸/۳۶ ⁿ	۸۳/۳۵ ^f	۰۴/۲۹-۰۸/۰۹
اوندA A (اوندA × IR68899A)	۹۹/۲۳ ^a	۱۰۰ ^a	۰۴/۲۳-۰۸/۳	سپیدرود A (سپیدرود × IR62829A)	۷۴/۲۶ ^l	۷۲/۰ ^{۱g}	۰۴/۲۷-۰۸/۰۲
أمل A ۳ (أمل × IR69224A × ۳)	۹۰/۹۲ ^{hi}	۹۶/۵۳ ^c	۰۵/۰۳-۰۸/۱۳	سپیدرود A (سپیدرود × IR67684A)	۷۲/۷۷ ^m	۹۰/۴۶ ^e	۰۵/۰۴-۰۸/۰۳
أمل A ۳ (أمل × IR68888A × ۳)	۹۲/۷۸ ^g	۹۹/۷۳ ^a	۰۵/۱۶-۰۸/۲۵	سپیدرود A (سپیدرود × خزر A)	۹۶/۰۶ ^e	۹۹/۹۷ ^a	۰۵/۰۳-۰۸/۰۱

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

حسنى A) به عقیمی کامل رسید و در شرایطی دیگر از سال (همچون ۷ مرداد در این تحقیق برای لاین حسنى 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 نرغیم سیتوپلاسمی برنج در مراحل ارزیابی عقیمی نشان داده است که لاین حسنى A (حسنى × دانش A۲) 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).

البته در بررسی انجام شده مشاهده شد که کیسه جنین لاین حسنى 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 ($\bar{X}=98/35$) برخوردار بودند (داده نمایش داده نشده است). دالماسیو و همکاران (۵،۶) در مطالعات خود، دو لاین نرغیم شناسایی نمودند که یکی از این لاین IR67707A که دارای سیتوپلاسم گونه *O. perennis* و هسته لاین IR64 بوده و نرغیمی 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 نرغیم را اثر متقابل ژن‌های هسته‌ای پایه پدری و ژن‌های میتوکندریایی والد مادری بیان کرده‌اند. در برخی از لاین‌ها همچون لاین حسنى A، A۳ (A۳ × 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

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

درصد عقیمی گرده					
لاین‌ها	L10	L19	L30	L33	L34
(۷ مرداد)	۷۲/۶۷ ^c	۹۸/۶۷ ^a	۱۰۰ ^a	۳۰/۳۳ ^e	۸۲/۶۷ ^d
(۲۷ مرداد)	۵۵ ^۲	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 گلخانه ۶/۳۱-۸/۱)	۲۷ ^f	۸۱ ^e	۹۵/۳۳ ^c	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a
درصد باروری خوشه					
(تاریخ کاشت اول ۲/۶)	۲۵/۶۷ ^a	. ^b	. ^b	۵/۹۴ab	۰/۴۰ ^{bc}
(تاریخ کاشت دوم ۳/۶)	. ^d	. ^b	. ^b	۱۱/۳۳a	۱/۳۳ ^a
(تاریخ کاشت سوم ۴/۶)	۰/۳۳ ^c	. ^b	. ^b	. ^b	. ^c
(رتون کشت اول ۵/۲۷)	. ^d	. ^b	. ^b	. ^b	۱ ^{ab}
(انتقال به گلخانه در ۶/۷)	۷/۶۷ ^b	۱۷/۳۳ ^a	۱۵/۶۷ ^a	. ^b	. ^c

L10: حسنى A (حسنى × دانش A۲)، L19: A۳ (A۳ × IR69224A)، L30: IR68899A، L33: سنگ طارم A (سنگ طارم × IR68280A) و L34: سنگ طارم A (سنگ طارم × خزر A).

ارزیابی عقیمی در مراحل مختلف

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 × دانش A۲)، آمل A۳ (آمل × 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.

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، حسنی A و آمل A۳ 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

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 November. 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. Diversifying 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. glumepatula 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. Philippines. (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.

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, X.G., 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 Improvement 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 achivement. 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: HR₂ 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.

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

Ammar Afkhami Ghadi¹, Nadali Babaeian Jelodar² and Nadali Bagheri³

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 $\times$ 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 ($> 24^{\circ}\text{C}$) and low light ($< 13.75\text{ h}$) conditions in greenhouse. Therefore, could be utilized for two line hybrid programs.

Keywords: Sterility stability, CMS, Rice