

Ciri Morfologi, Fisiko-Kimia dan Kerintangan Dua Titisan Padi Kemandulan Jantan Sitoplasma (CMS) Baru

Elixon Sunian^a, Mohd. Solihen Jamal^b, Asfaliza Ramli^a, Othman Omar^a, Habibbudin Hashim^a, Siti Norsuha Misman^a, Maisarah Mohd Saad^a

^aPusat Penyelidikan Padi dan Tanaman Industri, MARDI Seberang Perai, Pulau Pinang, Malaysia

^bStesen Penyelidikan Padi Hibrid, MARDI Perlis, Tambun Tulang, Perlis, Malaysia

*Corresponding author: elixons@mardi.gov.my

Article history

Received :28 July 2014

Received in revised form :

11 September 2014

Accepted :16 September 2014

Graphical abstract



Abstract

CMS (cytoplasmic male sterile) line is one of the most important hybrid parents in hybrid rice production technology using Three-Line systems. Test-crosses for selection of candidate local maintainer lines were conducted using 24 rice varieties and two CMS-WA (wild abortive) lines IR78374A/B and 1A/B. The F_1 of the two combinations, namely IR78374A/P519 and 1A/MR243 had less than 10% spikelet fertility (6.4 and 7.2%, respectively), indicated that P519 and MR243 are partially maintainers and could be used for the development of new locally adapted CMS lines. As a results, two CMS lines, namely 0025A/B and 0047A/B were generated after 5 to 6 successive backcrossing of IR78374A with P519 and 1A with MR243. The CMS 0025A/B and 0047A/B lines had maturation age which is comparable to other commonly grown inbred varieties. The percentage of stigma exertion rate for CMS 0025A/B and 0047A/B were 17.9 and 21.3%, respectively, lower than that of IR78374A/B (43.2%). Both showed poor out-crossing rate. CMS 0025A/B and 0047A/B are classified as long and slender grain. They had intermediate amylose content. Their gel consistency was hard, comparable to that of MR263 (medium). CMS 0025A/B and 0047A/B lines were also moderately resistant to foliar blast disease and brown planthopper infestation.

Keyword: Yield; Cytoplasmic male sterile; backcross; hybrid rice; physical and chemical qualities; pest and disease; maintainer; restorer

Abstrak

Titisan padi CMS (Kemandulan jantan sitoplasma) merupakan salah satu induk yang penting dalam teknologi pengeluaran padi hibrid yang menggunakan sistem Tiga-titisan. Kacuk-uji untuk memilih titisan padi penyelenggara tempatan telah dilakukan dengan menggunakan 24 titisan padi dengan dua titisan CMS-WA (wild abortive) iaitu IR78374A/B dan 1A/B. Dua Kombinasi F_1 iaitu IR78374A/P519 dan 1A/MR243 menunjukkan peratusan biji bernas yang kurang daripada 10% (masing-masing 6.4 dan 7.2%), ini menunjukkan P519 dan MR243 ialah separa penyelenggara dan boleh digunakan dalam pembangunan titisan padi CMS tempatan. Hasilnya, dua titisan CMS iaitu 0025A/B dan 0047A/B telah dibangunkan melalui 5 hingga 6 proses kacukan balik, masing-masing dengan IR78374A dengan P519 manakala 1A dengan MR243. Titisan CMS 0025A/B dan 0047A/B mempunyai jangka masa matang yang julat yang sama seperti kebanyakan varieti inbred yang biasa ditanam. Peratusan juluran stigma bagi CMS 0025A/B dan 0047A/B ialah masing-masing 17.9 dan 21.3%, dan lebih rendah berbanding IR78374A/B (43.2%). Kedua-duanya juga menunjukkan kadar pengebungaan silang yang rendah. Kualiti beras CMS 0025A/B dan 0047A/B dikategorikan sebagai panjang dan tirus. Ia juga mempunyai kandungan amilosa yang sederhana dan setanding dengan MR263. Konsistensi gel titisan-titisan CMS tersebut adalah keras berbanding dengan MR263 (sederhana). Titisan CMS 0025A/B dan 0047A/B juga sederhana rintang kepada penyakit karah daun dan serangga perosak benah perang.

Kata kunci: Hasil; kemandulan jantan sitoplasma; kacukan balik; varieti padi hibrid; kualiti fizikal dan kimia; perosak dan penyakit; penyelenggara; pemulih

© 2014 Penerbit UTM Press. All rights reserved.

1.0 PENGENALAN

Varieti padi hibrid telah dilaporkan mampu mengeluarkan hasil yang tinggi iaitu sekitar 15-20% berbanding varieti terbaik padi

inbred. Sehingga kini, varieti padi hibrid telah ditanam secara meluas di negara China, Filipina, India, Bangladesh dan di beberapa negara lain. Beberapa kaedah boleh digunakan untuk membangunkan varieti padi hibrid, ini termasuklah *thermogenic*

male sterile line (TGMS) dan sistem Tiga-titisan. Namun demikian, kaedah sistem Tiga-titisan adalah lebih popular berbanding dengan TGMS. Kejayaan untuk membangunkan varieti padi hibrid yang berhasil tinggi menggunakan sistem Tiga-titisan bergantung kepada kualiti daripada ketiga-tiga induk yang penting iaitu kemandulan jantan sitoplasma (CMS), penyelenggara (maintainer) dan pemulih (restorer).

Penghasilan debunga yang mandul pada pokok padi CMS disebabkan oleh interaksi antara gen CMS dengan nukleus (Virmani *et al.*, 1981; Mei, 2011). Titisan padi CMS secara genetiknya mewarisi gen kemandulan jantan sitoplasma di dalam genom mitokondria pada sel sitoplasma yang menjejaskan penghasilan debunga yang subur dan menyumbang kepada penghasilan debunga padi yang mandul (Nematzadeh dan Kiani, 2010). Oleh itu, kesuburan CMS hanya boleh dipulihkan dengan kehadiran gen yang menyumbang kepada pada kesuburan debunganya (Eckardt, 2006).

Pembiakan benih CMS hanya dapat dilakukan melalui kacukan antara pokok padi CMS dengan pokok padi penyelenggara yang berfungsi sebagai penyumbang debunga. Titisan padi penyelenggara secara genetiknya mengandungi gen kesuburan yang resesif (*rf*) dan kacukannya dengan pokok padi CMS akan menghasilkan progeni yang mempunyai organ pembiakan jantan yang tidak reproduktif atau debunga mandul. Ini kerana semasa kacukan antara CMS (*rf*) × penyelenggara (*rf*), pokok padi CMS adalah lebih dominan disebabkan oleh kehadiran gen CMS pada sitoplasma. Manakala, kacukan antara pokok padi CMS x pemulih akan dapat menghasilkan benih F₁ yang bernas. Dalam pengeluaran benih padi hibrid F₁, stigma titisan padi CMS akan menerima debunga daripada pokok padi yang sesuai untuk menghasilkan benih yang heterozigus. Titisan padi pemulih mengandungi gen kesuburan yang dominan (*Rf*) dan boleh menghasilkan debunga yang subur. Oleh itu, kacukan antara CMS dan pemulih akan mengekalkan ciri-ciri kesuburan pada progeninya dan penyumbang kepada heterosis serta menghasilkan benih hibrid F₁ untuk tujuan komersil.

Secara amnya, pokok padi CMS dibahagikan kepada tiga jenis iaitu CMS-BT (Bao Tai), CMS-WA (wild abortive) dan CMS-HL (Honglian). Pengkelasannya berdasarkan kepada kebantutan debunganya (samada jenis tipikal, sfera atau debunga boleh diwarnakan) pada peringkat mononukleat, binukleat atau trinukleat (Zhu, 1979; Li, 1980). CMS-WA ialah dalam kelas kebantutan sporofit yang mana ia boleh menghasilkan debunga yang mandul dan jenis tipikal. Manakala, CMS-BT (*Japonica*) dan CMS-HL (*Indica*) pula jenis kebantutan gamet dan berlainan pemecahan penotipik debunganya serta keupayaan sifat pemulihnya berbanding dengan CMS-WA (Li *et al.*, 2007; Sattari *et al.*, 2008). Kebanyakan varieti padi hibrid yang telah dikomersilkan dikebanyakan negara adalah jenis *wild abortive* (Yuan, 1995; Biju *et al.*, 2007). Dalam pengeluaran benih hibrid F₁, kuantiti benih yang dihasilkan adalah rendah dan banyak bergantung kepada keberkesanan pendebungaan silang antara pokok padi jantan dan betina (Oka and Morishima, 1967). Kriteria ini merupakan penentu utama kepada kos pengeluaran dan harga benih hibrid di pasaran. Oleh demikian, titisan padi CMS perlu berkemampuan untuk menyumbang kepada pengeluaran benih hibrid F₁ yang tinggi dan efisien, tabiat pembungaan yang baik, kemandulan debunga yang stabil kepada persekitaran, mudah diuruskan dan daya gabung yang baik.

Kualiti biji padi juga antara ciri yang penting dan diberi keutamaan dalam pembangunan titisan padi CMS. Ciri kualiti yang penting adalah kualiti beras, pengilangan dan kandungan kimia. Kualiti biji biasanya ditentukan oleh bentuk biji dan endosperma. Kedua-duanya boleh mempengaruhi ciri pengilangan dan citarasa nasi (Tan *et al.*, 2000, Gholam *et al.*,

2004). Kualiti nasi adalah ditentukan oleh ciri-ciri kimianya seperti kandungan amilosa, suhu gelatinisasi dan konsistensi gel (Unnevehr *et al.*, 1992; Tan *et al.*, 1999). Kualiti biji padi bukan sahaja menyumbang kepada prestasi hasil tuaian tetapi ia juga mempengaruhi nilai komersil dan pasaran (Gupta *et al.*, 2006). China telah membangunkan banyak induk titisan padi CMS tetapi kebanyakannya tidak diterima dengan baik di India dan USA kerana para pengguna di Negara tersebut lebih mengemari beras yang panjang dan tirus serta berkualiti. Ini kerana kebanyakan bentuk biji padi padi CMS dan varieti hibrid dari China adalah pendek dan bulat, kandungan amilosa dan konsistensi gel yang tinggi serta endosperma lebih berkapur (Zhou *et al.*, 2003; Feng, 2009).

Beberapa padi CMS yang diimport dari International Rice Research Institute (IRRI) telah digunakan dalam program baikbaka hibrid MARDI seperti IR58025A/B dan IR62829A/B. Namun demikian, kedua-dua CMS ini matang singkat iaitu kurang daripada 110 hari dan kemandulan debunganya juga tidak stabil. MARDI juga telah membangunkan beberapa titisan padi CMS seperti MR83A/B, MR112A/B, RU2340A/B, MH805A/B dan MH813A/B tetapi kesemua titisan-titisan padi CMS ini tidak digunakan dalam pengeluaran benih F₁ disebabkan oleh keupayaan pendebungaan silang yang rendah dan kemandulan debunga yang tidak stabil (Guok, 1994).

Pembangunan titisan padi CMS tempatan merupakan salah satu agenda utama dalam program baikbaka padi hibrid MARDI. Untuk tujuan tersebut, ianya penting untuk mengenalpasti dan menilai varieti padi elit tempatan yang sesuai untuk digunakan sebagai induk padi penyelenggara yang lebih sesuai kepada persekitaran tempatan. Pembaikbakaan titisan padi CMS mengambil proses yang lama iaitu sekurang-kurangnya lima hingga enam proses kacukan balik. Kemandulan debunga yang tinggi dan stabil serta keupayaan pendebungaan silang yang efisien adalah antara ciri-ciri yang penting yang ada pada titisan padi CMS. Namun, ciri-ciri lain seperti kualiti biji padi serta kerintangan kepada perosak dan penyakit juga diberi perhatian. Oleh demikian, kajian ini telah dijalankan untuk mengenalpasti titisan padi penyelenggara tempatan yang sesuai digunakan didalam pembangunan titisan padi CMS tempatan. Titisan CMS yang telah dibangunkan seterusnya akan dinilai dari segi ciri-ciri penotipiknya seperti peratusan pendebungaan silang, juluran stigma dan tangkai padi, kualiti fizikal dan kimia serta kerintangan kepada perosak dan penyakit.

■2.0 BAHAN DAN KAEDAH

2.1 Ujian Kacukan Dan Mengenal Pasti Titisan Penyelenggara Berpotensi

Sebanyak 25 kacukan telah dilaksana antara 24 titisan/varieti Malaysia dengan dua titisan padi CMS pada musim utama 2008/2009 di MARDI Seberang Perai, Pulau Pinang. Kedua-dua CMS-WA (*wild abortive*) tersebut ialah IR78374A/B dan 1A/B. Kombinasi F₁ kemudiannya dinilai dari segi keupayaan menyelenggara pada musim luar 2009. Selepas 15-20 hari benih padi disemai, anak pokok padi kemudian dipindahkan ke plot eksperimen dengan satu anak pokok padi per perdu dan jarak antara perdu ialah 25 x 25cm. Anak pokok padi tersebut ditanam dalam dua baris dan setiap baris mengandungi 12 anak pokok. Untuk menentukan peratusan biji bernas per pokok, enam pokok bagi setiap kombinasi F₁ telah dipilih secara rawak sebagai sampel ujian. Tangkai padi yang baru terbit serta belum melalui proses anthesis telah dipilih dan ditutup dengan kertas sampul atau kertas glisin yang bertujuan untuk mengelakkan

pencemaran daripada debunga luar. Pada peringkat matang (85% biji padi pada setiap tangkai berwarna kekuningan), tangkai yang dipilih secara rawak kemudiannya dituai dan pengiraan peratusan biji bernas per tangkai adalah berdasarkan formula; biji bernas per tangkai (%) = (jumlah biji bernas per tangkai/jumlah biji per tangkai) \times 100%. Pengkelasan genotip adalah berdasarkan kepada Virmani *et al.*, (1997) iaitu pemulih (>75% biji bernas), separa pemulih (50.1 to 75% biji bernas), penyelenggara (0% biji bernas) and separa penyelenggara (0.1 to 50% biji bernas).

2.2 Kacukan-ulang dan Pembangunan CMS Baru

Dua kombinasi F_1 yang telah dinilai pada musim luar 2009, telah dipilih untuk proses kacukan-balik pada musim utama 2009/2010 yang bertujuan untuk memindahkan latar belakang genom nukleus daripada induk penderma dengan titisan/varieti elit penyelenggara tempatan. Kombinasi pertama yang digunakan menggunakan IR78374A sebagai padi induk betina dan penderma gen *cms*, manakala titisan padi P519 digunakan induk berulang (*recurrent parent*). Kombinasi kedua yang digunakan ialah CMS 1A sebagai penderma dan MR 243 sebagai induk berulang. Proses kacukan balik bermula dari generasi BC_1F_1 hingga BC_6F_1 . Kemandulan debunga telah nilai pada setiap generasi kacukan balik. Pemerhatian pada kemandulan debunga telah dilakukan dengan mengambil secara rawak 15-20 sampel spikelet padi di lapangan sebelum peringkat antesisnya dan diletakkan didalam tabung uji yang mengandungi 70% larutan etanol sebelum dibawa ke makmal. Anter daripada sampel spikelet padi tersebut dikeluarkan dengan menggunakan forsep dan diletakkan di atas slaid kaca. Anter bunga padi tersebut seterusnya diwarnakan dengan 1-2 titisan larutan 1% iodine potassium iodide (I_2KI) dan dilenyek secara perlahan-lahan menggunakan forsep untuk mengeluarkan debunga yang ada di dalam anternya. Selepas menyingkirkan sisa-sisa anter, sampel yang telah diwarnakan kemudian diperhatikan di bawah mikroskop untuk menilai penotipik kemandulan debunganya. Pengiraan peratusan kemandulan debunga = (jumlah debunga mandull/jumlah debunga) \times 100%. Klasifikasi debunga adalah berdasarkan kaedah Virmani *et al.*, (1997) iaitu mandul lengkap (100%), mandul (91-99%), separa mandul (71-90%), separa subur (31-70%), subur (21-30%) dan subur lengkap (0-20%).

2.3 Penilaian Ciri Penotipik dan Kandungan Fiziko-kimia

Dua titisan padi CMS baru yang telah dibangunkan melalui kaedah kacukan balik telah diberi kod iaitu 0025A/B dan 0047A/B dan telah dinilai ciri-ciri penotipiknya pada musim luar 2012. Satu titisan padi CMS IRRI, IR78374A/B dan varieti inbred MR263 telah digunakan sebagai perbandingan. Kesemua titisan padi yang diuji telah ditanam dalam empat baris dengan 12 anak pokok bagi setiap baris dan jarak antara perdu ialah 25 \times 25 cm. Reka bentuk Eksperimen yang digunakan ialah Rekabentuk Blok Rawak Lengkap dengan setiap rawatan direplikasi sebanyak lima kali. Pengumpulan data-data ke atas 50% tangkai terbit (hari), tinggi kulma (cm), bilangan tangkai/pokok, panjang tangkai (cm), kemandulan debunga (%), peratus juluran tangkai (PER), peratusan juluran stigma (SER), peratusan pendebungaan silang (OCR), peratus biji bernas/tangkai, masa antesis (masa) dan jangkamasa antesis (minit) telah direkodkan. Debunga debunga, PER, SER, OCR dan klasifikasi penotipik titisan CMS adalah berdasarkan Virmani *et al.*, (1997).

Pengiraan peratusan PER = (panjang juluran tangkai dari daun pengasuh/panjang keseluruhan tangkai) \times 100% dan

skornya ialah 1= juluran yang baik (0% PER dibaluti oleh daun pengasuh), 3 = separa terjulur (1-10% PER dilaluti oleh daun pengasuh), 5 = sedikit terjulur (11-25% PER dibaluti oleh daun pengasuh), 7 = hanya sedikit terjulur (26-40% PER dibaluti daun pengasuh) and 9 = penuh (> 40% PER dibaluti daun pengasuh).

Pengiraan peratusan SER = (bilangan spikelet dengan stigma yang terjulur/jumlah spikelet) \times 100% dan skornya ialah 1 = > 70% , 3 = 41-70% , 5 = 21- 40% , 7 = 11-20% dan 9 = 0 - 10% juluran stigma

Pengiraan peratus OCR = (Bilangan spikelet bernas per tangkai/jumlah spikelet per tangkai) \times 100% dan skornya adalah 1 = >35%, 3 = 25-35%, 5 = 15-25%, 7 = 5-15% dan 9 = 0-5% biji bernas per tangkai. Penerimaan penotipik bagi PER, SER and OCR diskor sebagai 1 = amat baik, 3 = baik, 5 = separa baik, 7 = lemah and 9 = tidak diterima.

Penilaian ciri-ciri fizikal dan analisis kimia biji padi dan beras adalah berdasarkan kepada Sistem Penilaian Piawaian yang disarakan oleh IRRI (IRRI SES, 1996). Pemerhatian dilakukan terhadap kepala beras (%), beras putih (%), panjang beras (mm), lebar beras (mm), nisbah panjang dan lebar beras, berat 1000-biji padi (g), kandungan amilosa (%), konsistensi gel (mm) and nilai pecahan alkali. Saringan terhadap penyakit dan perosak juga berdasarkan kepada SES IRRI (1996) yang telah diamalkan didalam program baikbaka dan saringan titisan/varieti padi MARDI.

3.0 KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

3.1 Ujian Kacukan dan Pemilihan Titisan Penyelenggara Berpotensi

Sebanyak 25 kombinasi hibrid F_1 telah dinilai terhadap peratusan biji bernas per tangkai (Jadual 1). Sebanyak sembilan kombinasi hibrid F_1 menunjukkan peratusan biji bernas per tangkai yang kurang daripada 50.1% iaitu sekitar 7.2 hingga 40.3% dimana induk jantannya boleh diklasifikasikan sebagai separa penyelenggara. Keputusan mendapati tiada induk padi jantan dikenalpasti sebagai penyelenggara lengkap (0% biji bernas per tangkai). Kombinasi hibrid F_1 iaitu IR78374A \times P519 and 1A \times MR243 menunjukkan peratusan biji bernas per tangkai yang rendah iaitu masing-masing 6.4 dan 7.2%. Oleh kerana kedua-dua kombinasi F_1 ini menunjukkan peratusan biji bernas per tangkai yang rendah, maka sumber penderma debunga ataupun penyelenggara masing-masing iaitu P519 dan MR243 telah digunakan didalam pembangunan titisan padi CMS yang baru di nurseri kacukan balik, dimana kedua-duanya digunakan sebagai induk berulang bagi induk penderma gen CMS IR78374A dan 1A. Proses pemindahan latarbelakang genom nukleus daripada titisan penyelenggara tempatan kepada titisan CMS baru memerlukan 5-6 generasi kacukan balik (BC_1F_1 hingga generasi BC_6F_1) (Virmani *et al.*, 1997).

Jadual 1 Biji bernas/tangkai bagi hibrid F_1 yang diperolehi daripada ujian kacukan antara titisan/varieti tempatan dengan titisan padi CMS-WA

Bilang an	Kombinasi	Biji bernas/tangkai (%)	Klasifikasi
1	IR78374A/MR241	94.0	R
2	IR78374A/P515	82.1	R
3	IR78374A/Y1558	80.0	R
4	IR78374A/Y1557	66.2	PR
5	IR78374A/MR253	58.4	PR
6	IR78374A/Y1563	51.4	PR
7	IR78374A/P501	68.2	PR
8	IR78374A/MR260	56.5	PR
9	IR78374A/P502	56.1	PR
10	IR78374A/P537	65.1	PR
11	IR78374A/MR266	73	PR
12	IR78374A/MR258	61.4	PR
13	IR78374A/Y1562	64.7	PR
14	IR78374A/P541	63.4	PR
15	IR78374A/Y1562	64.3	PR
16	IR78374A/P519	6.4	PM
17	IR78374A/P531	25.7	PM
18	IR78374A/Y1564	40.3	PM
19	IR78374A/MR264	32.3	PM
20	IR78374A/P512	20.5	PM
21	IR78374A/MR263	21.2	PM
22	IR78374A/MR267	23.6	PM
23	IR78374A/Y1304	26.5	PM
24	1A/MR243	7.2	PM
25	1A/MR241	61.0	PR

R = pemulih, PR = separa pemulih, M = penyelenggara dan PM = separa penyelenggara.

Tiga kombinasi hibrid F_1 menunjukkan bilangan biji bernas per tangkai yang melebihi 75% dan julatnya ialah sekitar 80.0 hingga 94.0%. Ini menunjukkan bahawa MR241, P515 dan Y1558 boleh diklasifikasikan sebagai sumber pemulih yang sesuai kepada titisan CMS IR78374A. Kombinasi-kombinasi ini boleh dijalankan ujian kacukan semula untuk memastikan keupayaan pemulihan sebelum dinilai di peringkat Penilaian Hasil Awal. Mohamad *et al.*, (1987) telah melaporkan bahawa terdapatnya beberapa varieti padi pemulih daripada varieti padi elit MARDI termasuklah MR109 dan MR79.

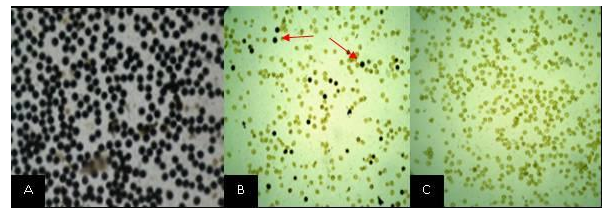
3.2 Kacukan Balik dan Pembangunan Titisan Padi CMS Tempatan

Jadual 2 menunjukkan proses kacukan balik untuk membangunkan titisan CMS 0025A/B dan 0047A/B (Gambar 1A dan B). CMS 0025A/B adalah hasil dari beberapa generasi kacukan balik antara titisan CMS IRR1 IR78374A dan induk berulang P519, manakala CMS 0047A/B diperolehi daripada kacukan antara CMS 1A dan induk berulang MR243. Pada generasi awal kacukan balik CMS 0025A/B (BC_1F_1 dan BC_2F_1), kemandulan debunganya adalah tidak stabil di mana beberapa pokok padi generasi BC_1F_1 menghasilkan debunga yang subur lengkap atau separa subur dan hanya 25 daripada 29 pokok telah menghasilkan debunga yang mandul (Gambar 2A, B dan C). Pada peringkat generasi BC_6F_1 , didapati 2 daripada 15 pokok yang diuji masih menghasilkan debunga separa mandul. Keputusan yang sama dapat diperhatikan pada pokok CMS 0047A/B. Debunga yang separa subur berkemungkinan mengandungi genotip yang heterozigus *Rf/rf* yang menyebabkan pada keupayaan pemulihan pada mod genotipiknya atau sesetengah genotipnya mungkin homozigus *rf/rf* yang sama seperti pokok padi penyelenggara, atau ianya juga berkemungkinan berlaku kontaminasi pada pokok penyelenggaranya (Tan *et al.*, 2009). Ini menunjukkan bahawa progeneri tersebut masih perlu dikacukan balik sehingga kemandulan debunga adalah stabil. Masalah ini juga boleh diminimalkan dengan mengurangkan kadar kontaminasi melalui pemilihan pokok CMS dan saringan debunga progeneri yang lebih teliti. Semasa proses kacukan balik, progeneri yang menunjukkan debunga yang separa mandul akan disingkirkan dan hanya

progeneri yang mempunyai peratusan kemandulan debunganya sekitar 99.0 to 99.9% sahaja yang dipilih dan dimajukan ke generasi kacukan balik seterusnya.



Gambar 1 A) Titisan padi CMS 0025A/B dan B) 0047A/B yang dihasilkan melalui $BC_5F_1 - BC_6F_1$ generasi kacukan balik



Gambar 2 Sifat debunga A) subur yang boleh diwarnakan B) separa mandul dimana terdapat debunga berwarna (anak panah) dan C) mandul yang nyahwarna dengan larutan I_2KI

Pemerhatian ke atas kemandulan debunga CMS 0025A/B and 0047A/B menunjukkan bentuk debunganya adalah tipikal, bentuk sfera dan nyahwarna dengan larutan 1% I_2KI . Debunga yang nyahwarna, debunga seakan-akan kecil dan tidak normal menunjukkan debunga tersebut adalah mandul atau tidak subur. Ciri-ciri ini merupakan kriteria utama bagi debunga daripada sistem CMS-WA yang kebiasaannya menunjukkan debunga pecah pada peringkat uninukleat semasa pembangunan mikrospora. Pecahan debunga CMS-WA biasanya sporofitik, kemandulan debunganya lebih stabil kepada pelbagai persekitaran dan ianya dipengaruhi oleh 1-2 pasang alel-alel pemulihan kesuburan *Rf3* dan *Rf4* (*restoration-fertility alleles*) yang dominan sebagai pemulih kesuburannya (Li *et al.*, 2007).

Jadual 2 Pemilihan dan penilaian ke atas titisan CMS-WA

Bil.	Entri	Pedigree	Generasi	Jumlah pokok diuji	Steriliti (%)				
					FF 0-20	F 21-30	PF 31-70	PS 71-90	S 91-99
1	0025A/B	IR78374A/P519	F_1	7	0	0	0	0	7
			BC_1F_1	29	1	1	1	1	25
			BC_2F_1	34	1	1	1	7	23
			BC_3F_1	341	0	0	0	3	338
			BC_4F_1	60	0	0	2	2	53
			BC_5F_1	28	0	0	0	0	28
2	0047A/0047B	1A/MR 243	BC_6F_1	15	0	0	0	2	13
			F_1	5	0	0	1	1	3
			BC_1F_1	4	0	0	0	0	4
			BC_2F_1	12	0	0	0	0	12
			BC_3F_1	28	0	0	7	10	11
			BC_4F_1	24	5	1	3	0	15
BC_5F_1	34	0	0	1	8	25			

MS = musim utama, OS = musim luar

FF = Subur lengkap, F = subur, PF = separa subur, PS = separa mandul dan S = mandul

3.3 Ciri Morfologi Titisan Padi CMS

Pemerhatian terhadap hari 50% tangkai terbit menunjukkan CMS 0025A/B dan 0047A/B adalah signifikan tetapi matang lewat (masing-masing 83 dan 85 hari) berbanding IR78374A/B (61 hari) (Jadual 3). Latar belakang genetik bagi sifat ini berkemungkinan disumbangkan oleh titisan padi penyelenggara tempatan (masing-masing P519 dan MR243) yang mempunyai jangkamasa matang sekitar 104 -115 hari. Namun demikian, tinggi kulma bagi 0025A/B dan 0047A/B (masing-masing 73.9 and 74.0cm) adalah tidak signifikan berbanding IR78374A/B (77.8cm). Keputusan juga menunjukkan tidak signifikan antara kesemua titisan padi CMS tersebut bagi ciri panjang tangkai per pokok.

Jadual 3 Ciri morfologi bagi titisan baru CMS-WA

Pedigree	TT (hari)	TK (cm)	BT	PT (cm)	PER (%)	SER (%)	OCR (%)	DM (%)	BBT (%)	AM (masa)	AA (masa)	JA (minit)
-	61 ^d	77.8 ^b	35.3 ^a	27.2 ^a	68.2 ^a	35.0 ^a	1.7 ^a	99.9 ^a	99.8 ^a	11.00a m	1.00pm	120
IR78374 A/P519	83 ^b	73.9 ^b	20.8 ^a	26.5 ^b	63.2 ^{ab}	21.3 ^b	0.3 ^b	99.9 ^a	100 ^a	10.30a m	1.30pm	180
1A/ MR243	85 ^c	74.0 ^b	41.1 ^a	27.7 ^a	65.7 ^a	17.9 ^b	0.3 ^b	99.9 ^a	100 ^a	10.30a m	1.30pm	180

Min yang mempunyai abjad sama tidak signifikan pada $p < 0.05$ berdasarkan Perbezaan Keertian Terkecil (LSD). TT=hari 50% tangkai terbit, TK=tinggi kulma, BT=bilangan tangkai, PT=Panjang tangkai, PER = Kadar juluran tangkai, SER = kadar juluran stigma, OCR = kadar pendebungaan silang, DM=Debunga mandul, BBT=bilangan biji berna per tangkai, AM=Antesis mula, AA=Antesis akhir dan JA=jangkama antesis

Berdasarkan Virmani *et al.*, (1997), tangkai padi CMS biasanya tidak terjulur sepenuhnya dan sebahagian (satu per empat) tangkai padi masih dibaluti oleh daun pengasuh kerana dipengaruhi oleh gen CMS tersebut. Keputusan mendapati peratusan juluran tangkai (PER) kesemua CMS ini adalah sekitar 60.6 hingga 68.2%. Berdasarkan pemerhatian, satu per empat daripada tangkai padi tersebut masih dibaluti oleh daun pengasuh (Gambar 3). Berdasarkan pengkelasan Virmani *et al.*, (1997), ciri PER bagi kesemua CMS yang diuji adalah melebihi 40%. Keadaan tangkai bagi kesemua CMS adalah dibaluti oleh daun pengasuh dan ciri penotipik ini adalah dalam kategori tidak boleh diterima. Oleh demikian, titisan-titisan CMS ini memerlukan rawatan hormon GA₃ untuk menggalakkan juluran tangkai padi serta menggalakkan juluran stigma bagi memudahkan pendebungaan silang yang lebih efisien antara pokok padi jantan dan betina semasa proses pembiakan benih hibrid. Di dalam pengeluaran benih hibrid secara komersil, kadar PER yang baik amat dikehendaki untuk memudahkan penerimaan debunga dan meningkatkan pengeluaran benih padi berna pada padi CMS. Manakala, PER yang tidak sempurna secara fizikalnya akan menghalang penerimaan debunga oleh stigma CMS disebabkan sebahagian besar tangkai padi masih dibaluti oleh daun pengasuh dan stigma terhalang daripada menerima debunga daripada pokok padi jantan (Salgotra *et al.*, 2009).



Gambar 3 Juluran tangkai padi CMS yang tidak terbit sepenuhnya daripada daun pengasuh (anak panah)

Peratusan juluran stigma (SER) bagi CMS 0025A/B dan 0047A/B adalah signifikan tetapi rendah (masing-masing 17.9 and 21.3%) berbanding IR78374A/B (43.2%). CMS 0025A/B menunjukkan penerimaan penotipik yang lemah berbanding penotipik bagi CMS 0047A/B dan IR78374A/B.

Peratusan pendebungaan silang (OCR) bagi kesemua CMS yang dinilai juga tidak memuaskan dan penotipiknya adalah tidak diterima. Keputusan menunjukkan OCR bagi CMS 0025A/B dan 0047A/B adalah signifikan tetapi rendah (masing-masing 0.3%) berbanding IR78374A/B (1.7%). Peratus OCR yang rendah bagi CMS 00254A/B dan 0047A/B berkemungkinan dipengaruhi oleh latarbelakang genetik pokok padi penyelenggaranya. Xie (2009) melaporkan bahawa kebanyakan CMS dari China menunjukkan pengeluaran biji berna per tangkai yang baik berbanding CMS IRRI. Ini disebabkan oleh pokok padi penyelenggara IRRI yang dikenalpasti semasa proses ujian kacukan telah digunakan secara langsung dalam pembangunan CMS tanpa pembalakanan yang spesifik yang menambahkan tabiat pembungaannya. Mao *et al.*, (2009) melaporkan bahawa varieti hibrid WeiYou 35 tidak mendapat sambutan oleh pengeluar benih disebabkan oleh hasil pengeluaran benih F₁ yang rendah dan tidak menguntungkan dari segi komersil walaupun hibrid tersebut mempunyai potensi hasil yang tinggi dan mendapat sambutan yang menggalakkan oleh para petani di wilayah Hunan, China. Oleh demikian, SER dan OCR bagi kedua-dua titisan CMS 0025A/B dan 0047A/B masih perlu ditambahbaik melalui kacukan dengan titisan penyelenggara yang mempunyai tabiat pembungaannya yang dikehendaki. Spesies padi liar seperti *Oryza longistaminata*, (Taillebois dan Guimaraes, 1986) dan sesetengah varieti tradisional (seperti Jarum Mas dsb) mempunyai stigma yang besar dan *vigorous* yang berpotensi digunakan sebagai induk penderma untuk menambahkan ciri pendebungaan silangnya (Gambar 4).



Gambar 4 Juluran stigma yang baik pada spesies padi liar dan padi tradisional boleh digunakan sebagai sumber penderma (anak panah) untuk menambahkan keupayaan pendebungaan silang

Namun demikian, kedua-dua CMS baru tersebut menunjukkan kemandulan debunga yang baik (99.9%) sama seperti IR79127A/B. Untuk memastikan pengeluaran benih hibrid yang tinggi, maklumat berkenaan dengan masa puncak antesis dan jangka masanya adalah penting semasa melakukan aktiviti bantuan pendebungaan. Kedua-dua titisan CMS 0025A dan 0047A mempunyai jangkamasa antesis sekitar 180 minit yang bermula sekitar jam 10:30am hingga 1:30pm. Salgotra *et al.*, (2009) telah melaporkan bahawa kebanyakan CMS import dan dinilai di persekitaran subtropika menunjukkan masa puncak antesisnya ialah sekitar 11:00am hingga 1:30pm.

3.4 Ciri Fizikal dan Kimia

Kualiti fizikal beras bagi kedua-dua titisan padi CMS tersebut (Jadual 4) ialah dikategorikan sebagai beras panjang (>6.6 mm) dan berdasarkan kepada nisbah panjang dan lebar beras ianya dalam kategori beras tirus (>3.0 mm). Berat 1000 biji padi ialah sekitar 22.64-25.04 g. Kedua-dua CMS 0025A/B dan 0047A/B mempunyai kandungan amilosa yang sederhana dan kategori yang sama seperti varieti pembanding MR263, manakala IR78374A/B mempunyai kandungan amilosa yang rendah. Ini menunjukkan bahawa, titisan 0025A/B dan 0047A/B mempunyai tekstur yang sederhana lembut dan kualiti nasinya setanding dengan MR263. Kekonsistenan gel (GC) bagi kedua-dua CMS 0025A/B dan 0047A adalah keras (masing-masing 40mm) berbanding MR263 (sederhana), manakala IR78374A/B mempunyai GC yang lembut. Varieti padi yang mempunyai GC yang lembut kebiasaannya mempunyai nasi yang lembut selepas dimasak. Bagaimanapun, penerimaan kandungan GC adalah berbeza-beza mengikut negara dan pengguna. Pengguna di Indonesia dan Filipina lebih mengemari GC yang sederhana ke keras tetapi pengguna di Bangladesh lebih mengemari sederhana ke lembut (Unnevehr *et al.*, 1992). Nilai pecahan alkali bagi kesemua entri padi adalah lembut iaitu sekitar 6.0-7.0 termasuklah varieti kawalan MR263.

Pemilihan induk hibrid adalah penting kerana ianya mempengaruhi prestasi suatu varieti hibrid (Gu *et al.*, 2009). Menurut Tan *et al.*, (2009), pembangunan suatu varieti hibrid yang mempunyai kualiti biji yang baik adalah lebih kompleks berbanding inbred. Oleh demikian, baikbaka varieti hibrid perlu dilakukan melalui pemilihan induk hibrid yang menepati ciri-ciri fizikal dan kimia yang dikehendaki.

Jadual 4 Penilaian ciri-ciri fizikal dan kimia keatas titisan padi CMS-WA

	BP (%)	KB (%)	BH (%)	PB (mm)	KB	LB (mm)	PB/LB	BB	BS (g)	A (%)	KA	G (mm)	KG	NP
B	62.81	66.27	33.73	6.76 ± 0.18	P	1.95	3.47	T	24.72	20.8	S	40	K	7.0
B	66.79	86.79	13.61	6.61 ± 0.13	P	1.91	3.46	T	24.80	20.8	S	40	K	7.0
VB	68.11	76.32	23.68	6.71 ± 0.33	P	1.74	3.86	T	22.64	13.1	R	78	L	6.0
3)	62.76	85.16	14.84	6.68 ± 0.23	P	2.03	3.29	T	25.04	21.9	S	60	SL	7.0

Petunjuk:

BP = Beras putih, KB = Kepala beras, BH = Beras hancur, PB = Panjang beras, KB = Kategori beras, LB = Lebar beras, PB/LB = Nisbah Panjang dan lebar beras, BB = Bentuk beras, BS = Berat 1000 biji padi, A = amilosa, KA = Kategori amilosa, G = konsistensi gel, KG = Kategori konsistensi gel, NP = nilai pecahan alkali, KNP = Kategori nilai pecahan alkali, P = panjang, T = Tirus, S = sederhana, K = Keras, L = Lembut, SL = Sederhana Lembut dan R = Rendah

3.5 Kerintangan Kepada Penyakit Karah dan Benah Perang

Keputusan saringan terhadap penyakit karah daun pada musim utama 2012/2013 (Jadual 5) menunjukkan IR78374A/B adalah rintang manakala, titisan CMS 0025A/B dan CMS 0047A/B sederhana rintang kepada penyakit tersebut. Manakala, keputusan saringan kepada benah perang pada musim utama 2012/2013 menunjukkan kedua-dua titisan CMS baru adalah sederhana rintang kepada serangan serangga perosak tersebut. Di Malaysia, penyakit karah dan serangga perosak benah perang adalah antara tekanan biotik yang utama dan sering penyebab utama kepada kehilangan hasil padi yang tinggi. Kemunculan biotip benah perang dan patotip penyakit karah yang baru dan seringkali menyebabkan wabak disebabkan oleh amalan agronomi yang intensif termasuklah penggunaan baja yang tinggi, penggunaan racun perosak yang mempunyai kesan menyeluruh, penanaman dua kali setahun, kepadatan tanaman dan penggunaan varieti yang rentan (Saad *et al.*, 2012). Oleh kerana titisan padi penyara juga mempunyai kesan samada secara langsung atau tidak langsung (*determinant or co-*

determinant) keatas suatu sifat pada progeninya, kacukan keatas varieti elit padi penyelenggara dengan varieti padi yang mempunyai gen utama yang rintang kepada penyakit dan perosak utama perlu diberi perhatian. Penggabungan dengan beberapa gen (poligen) rintang untuk mengatasi isolat-isolat tempatan bagi penyakit karah dan serangga perosak benah perang dapat membantu memanjangkan hayat kerintangan suatu titisan/varieti padi penyelenggara atau CMS tempatan dan seterusnya keatas varieti hibrid itu sendiri.

Jadual 5 Kerintangan titisan padi CMS-WA terhadap karah dan benah perang

Entri	Karah daun	Benah perang
0025A/B	Sederhana rintang	Sederhana rintang
0047A/B	Sederhana rintang	Sederhana rintang
IR78374A/B	Rintang	Sederhana rintang
MR84 (kawalan untuk rintang kepada karah)	Rintang	-
Rathu Heenathi (kawalan untuk rintang kepada benah perang)	-	Rintang
Taichung Native 1 (kawalan untuk rentan)	Amat rentan	Amat rentan

4.0 KESIMPULAN

Dua titisan CMS (0025A/B dan 0047A/B) telah dibangunkan melalui menggunakan kaedah kacukan balik. Kedua-duanya mempunyai kemandulan debunga lebih daripada 99.0%. Titisan CMS 0025A/B dan 0047A/B mempunyai jangkamasa matang yang sama seperti kebanyakan varieti padi inbred yang ditanam di Malaysia dan pokoknya lebih rendah berbanding dengan titisan penderma gen *cms* IR78374A dan 1A yang berasal daripada IRR1. Namun demikian, peratus juluran stigma dan kadar pendebungaan silang bagi CMS 0025A/B dan 0047A/B adalah rendah berbanding IR78374A/B dan masih perlu ditambahbaik. Titisan CMS 0025A/B dan 0047A/B mengandungi kualiti fizikal dan kimia yang bersesuaian dengan citarasa tempatan seperti berasnya adalah panjang dan tirus serta sederhana kandungan amilosa dan secara amnya ia menepati piawaian tempatan. Titisan CMS 0025A/B dan 0047A/B juga sederhana rintang terhadap penyakit karah daun dan serangan benah perang. Titisan CMS ini boleh digunakan dalam program baikbaka padi hibrid MARDI tetapi penambahbaikan kepada ciri-ciri penting yang lain seperti juluran tangkai, juluran stigma, pendebungaan silang, potensi hasil serta kerintangan kepada penyakit dan perosak perlu berkesinambungan.

Penghargaan

Penyelidikan ini dibiayai dibawah Projek Pembangunan Teknologi Pengeluaran Padi Inbred dan Hibrid Untuk Peningkatan Tahap Sara Diri Beras Negara (21003001400001). Penulis mengucapkan penghargaan kepada Nur Sufiah Sebaweh, Nor Hidayah Ismail dan Siti Fairuz Ishak atas sumbangan mereka semasa kerja-kerja pengurusan plot penyelidikan, pengumpulan data dan analisis makmal. Penghargaan juga kepada staf daripada Program Pengurusan Penyakit dan Perosak; Pn. Jamilah Ishak, Mohd Arif Ashrof dan Mohd Sabri Sharudin atas sumbangan mereka semasa menjalankan kerja-kerja saringan penyakit dan perosak.

Rujukan

- [1] Biju, S., Thiyagarajan, K. and Manonmani, S. 2007. Cytoplasmic Male Sterile Lines for Hybrid Rice Production. *Journ. of app. Sci. Res.* 3(10): 935-937.
- [2] Eckardt, N. A'. 2006. Cytoplasmic Male Sterility and Fertility Restoration. *The Plant Cell.* 18: 515-517.

- [3] Feng, W., Wuge L., Yisheng H. and Zhenrong L. 2009. Improving Grain Quality in Hybrid Rice. In: *Accelerating Hybrid Rice Development*. Edited by F. Xie and B. Hardy. Publisher IRRI. 366–375.
- [4] Fu, F. H., Wang, F., Huang, W. J., Peng, H. P., Wu, Y. Y. and Huang, D. J. 1994. Genetic Analysis on Grain Characters in Hybrid Rice. *Acta Agron. Sin.* 20(1): 39–45.
- [5] Golam, F., Mohamad, O., Hadzim, K. and Meisner C. A. 2004. Inheritance of Kernel Elongation in Rice. *Int. J. Agri. Biol.* 6(5):813–815.
- [6] Gu, M., Lie, Q., Yan, C., and Tang S. 2009. Grain Quality of Hybrid Rice: Genetic Variation and Molecular Improvement. In: *Accelerating Hybrid Rice Development*. Edited by F. Xie and B. Hardy. Publisher IRRI. 345–356.
- [7] Guok, H. P. 1994. Hybrid Rice Research in Malaysia. In: Virmani S.S, editor. *Hybrid Rice Technology: New Developments and Future Prospects*. Manila (Philippines): International Rice Research Institute. 207–212.
- [8] Gupta, P.K., Rustgi, S. and Kumar, N. 2006. Genetic and Molecular Basis of Grain Size and Grain Number and Its Relevance to Grain Productivity in Higher Plants. *Genome*. 49: 565–571.
- [9] IRRI. 1996. 4th edition. Standard Evaluation System for Rice (SES), Manila, Philippines.
- [10] IRRI (International Rice Research Institute). <http://www.knowledgebank.irri.org/rkb/index.php/rice-milling> Retrieved August 07 2013.
- [11] Jena, K. K., Mackill, D. J. 2008. Molecular Markers and Their Use in Marker-assisted Selection in Rice. *Crop Sci.* 48: 1266–1276.
- [12] Jena, K. K. and Suh, J. P. 2009. New Genes for Brown Planthopper, Blast, and Bacterial Blight Resistance, and Marker-assisted Breeding in Rice. In: *Accelerating Hybrid Rice Development*. Edited by F. Xie and B. Hardy. Publisher IRRI. 149–158.
- [13] Li, S. Q., Yang, D. C. and Zhu, Y. G. 2007. Characterization and Use of Male Sterility in Hybrid Rice Breeding. *J Integr. Plant Biol.* 49(6): 791–804.
- [14] Li, Z.B. 1980. A Preliminary Discussion About the Classification of Male Sterile Lines of Rice in China. *Acta Agronomica Sinica*. 6: 17–26.
- [15] Mao, C., Shi, Y., Wei, S., Song, Z., Zhou, H., Wang, W., Xie, L. and Liu, B. 2009. How to Increase Use Efficiency of Rice Hybrids and Their Parental Lines. In: *Accelerating Hybrid Rice Development*. Edited by F. Xie and B. Hardy. Publisher IRRI. 159–168.
- [16] Mei, Q., Xie, R., Liu, C., Zhou, X. and Zhu, Y. 2011. Breeding and Characterization of Homokaryotic Heteroplasmic male Sterile Lines in Rice (*Oryza Sativa*). *Pak. J. Bot.* 43(3): 1691–1694.
- [17] Mohamad, O., Guok, H. P and Othman, O. 1987. Hybrid Rice Breeding in Malaysia. *Malaya Appl.Biol.* 16: 129-138.
- [18] Nematzadeh, G. A. and Kiani, G. 2010. Genetic Analysis of Fertility Restoration Genes for Watype Cytoplasmic Male Sterility in Iranian Restorer Rice Line DN-33-18. *African Journal of Biotechnology*. 9(38): 6273–6277.
- [19] Oka, H.T. and Morishima, H. 1967. *The Ancestors of Cultivad Rice and Their Evolution*. Japan: Department of Applied Genetics, National Institute of Genetic. 145–145.
- [20] Saad, A., Yahya, H., Nik Mohd Noor, N. S. Azmi, M., Badrulhadza, A., Siti Norsuha, M., Azimah, A.K. dan Sivapragasam A. 2012. Pengurusan Perosak Bersepadu: Prinsip, konsep dan Amalan. Bab dalam buku: Pengurusan Perosak Bersepadu Tanaman Padi Kearah Pengeluaran Lestari. Penyunting: Saad, A., Badrulhadza, A., Sariam, O., Azmi, M., Yahya, H., Siti Norsuha, M. dan Maisarah, M.S. *Terbitan MARDI (Malaysia Research and Development Institute)*. 2–46.
- [21] Salgotra, R. K., Gupta, B. B and Singh, S. 2009. Evaluation of Various Floral Traits in Some Rice CMS Lines that Influence Seed Setting Under Subtropical Condition. *SABRAO J. of Breeding and Genetic*. 41(2): 115–122.
- [22] Sattari, M., Kathiresan, A., Gregorio, G.B. and Virmani, S. S. 2008. Comparative Genetic Analysis and Molecular Mapping of Fertility Restoration Genes for WA, Dissi, and Gambiaca Cytoplasmic Male Sterility Systems in Rice. *Euphytica*. 160: 305–315.
- [23] Taillebois, J. and Guimaraes, E. 1986. Improving Outcrossing Rate in Rice (*Oryza sativa* L.). n: Hybrid Rice. *Proceedings of the International Symposium on Hybrid Rice 6-10 October 1986 Changsha, Hunan, China*. 175–180.
- [24] Tan, X., Hong, R., Tan, Y., Jin S., Xu, H., Guo, A., Chen, L., Huang, D., Zhang, Z., Tao, G., Wang, X., Zhang, S., Shi, C., and Li, Z. 2009. Research on the Development of CMSD1-based Japonica Hybrid Rice with High Yield Potential for the Yun-Gui Plateau. In: *Accelerating Hybrid Rice Development*. Edited F. Xie and B. Hardy. Publisher IRRI. 131–138.
- [25] Tan, Y. F., Xing, Y. Z., Li, J. X., Yu, S. B., Xu, C. G and Zhang, Q. 2000. Genetic Bases of Appearance Quality of Rice Grains in Shanyou 63, An Elite Rice Hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 101: 823–829.
- [26] Unnevehr, L. J., Duff, B. and Juliano, B. O. 1992. Consumer Demand for Rice Grain Quality: Introduction and Major Findings. In: *Consumer Demand for Rice Grain Quality*. Terminal Report of IDRC Projects National Grain Quality (Asia). Edited by L. J. Unnevehr, B. Duff, and B. O. Juliano. Publisher International Rice Research Institute. 5–20.
- [27] Virmani, S. S. Choudhury, R. C, Khush, G. S. 1981. Current Outlook on Hybrid Rice. *Oryza*. 18: 87–92.
- [28] Virmani, S. S., Viraktamath, B. C., Casal, C. L., Toledo, R. S., Lopez, M. T. and Manalo, J. O. 1997. *Hybrid Rice Breeding Manual*. International Rice Research Institute (IRRI). Los Banos, Philippines. 37–43.
- [29] Xie, F. 2009. Priorities of IRRI Hybrid Rice Breeding. In: *Accelerating Hybrid Rice Development*. Edited F. Xie and B. Hardy. Publisher International Rice Research Institute. 49–62.
- [30] Yuan, L. P. 1995. Current Status of Hybrid Rice in China and Future Strategies for 21st Century. In: Ahmed M. I., Viraktamath B. C. (Eds). *Hybrid Rice Seed Production Technology*. Directorate of Rice Research, Hyderabad, India.
- [31] Zhou, P. H., Tan, Y. F., He, Y. Q., Xu, C. G. and Zhang, Q. 2003. Simultaneous Improvement for Four Quality Traits Of Zhenshan 97, An Elite Parent Of Hybrid Rice, by Molecular Marker-assisted Selection. *Theor. Appl. Genet.* 106: 326–331.
- [32] Zhou, J. H., Wang, J. L., Xu, J. C., Lei, C. L. and Ling, Z. Z. 2004. Identification and Mapping of a Rice Blast Resistance Gene *Pi-G(T)* In The Cultivar Guangchangzhan. *Plant Pathol.* 53: 191–196.
- [33] Zhu, Z., Min J., Zhang, B., Chen, N., and Wang, D. 2009. Hybrid Rice Quality in China. In: *Accelerating Hybrid Rice Development*. Edited by F. Xie and B. Hardy. Publisher IRRI. 357–366.
- [34] Zhu, Y. G. 1979. Studies on Male Sterile Lines of Rice with Different Cytoplasm. *Acta Agronomica Sinica*. 5: 29–38.