Abstract

This study was carried out at the Experimental Farm and Rice Biotechnology Lab of Rice Research and Training Center (RRTC), Sakha, Kafr El-Sheikh, Egypt during 2005-2007 seasons to produce double haploid lines with high nutritional value by using anther culture technique. Black Rice (Jiegnou 9601) and Four Egyptian rice varieties *(Oryza sativa L.)* were utilized in this study namely (Giza 177, Sakha 101, Sakha 102 and Sakha 104). The parental varieties were crossed using line×tester design. Sixty six double haploid lines (DHLs) and five parents including two checks; Jiegnou 9601 (Black rice) and Giza 177 were used as nutritional value varieties and evaluated under normal conditions. Ten agronomic, yield and its components characters were measured for all genotypes and eight characters for nutritional value and grain quality characters. The mean square estimates revealed highly significant variations among genotypes for all studied characters. It was observed that phenotypic coefficients of variability (P.C.V.) were, as expected, greater than respective genotypic ones (G.C.V.) for all traits. Maximum variability was observed for grain yield plant^{-1} (PCV = 25.79%, GCV= 25.01%), and minimum variability was recorded (PCV = 2.75%, GCV=2.24%) for spikelet fertility. The high estimates of heritability in broad sense (h^2 %) were scored for plant height, grain yield plant^{-1}, days to heading, panicle length, and flag leaf area. For nutritional and quality traits, results revealed that high estimates were observed for Fe concentration in milled (PCV=41.9, GCV=41.3) and brown rice (PCV=38.83, GCV=38.6). Also results demonstrated that grain yield plant^{-1} was highly significant and positive correlated with panicle length and plant height and positive significant association was found with flag leaf area. Plant height showed highly positive significant correlation with panicle length. Regarding number of tillers per plant, highly significant positive correlations were recorded with number of panicles, and spikelet fertility. For number of panicles, data recorded highly positive significant correlations with number of tillers and spikelet fertility. Highly significant positive correlations were recognized between (hulling and milling), (Mn/br and Mn/mi), (Zn/br and Zn/mi) and (Fe/br and Fe/mi). The selected genotypes were tested by using Simple Sequence Repeats (SSRs) technique. Four SSR markers were used *i.e.* RM 590, RM 152, RM 153 and RM 295, all of them generated polymorphic bands among the genotypes. Two alleles were detected for each marker among thirteen genotypes for each character. The level of polymorphism generated was good to study the diversity among the selected genotypes and SSRs markers had a relationship with nutritional value characters (Highly concentrations of Mn, Zn and Fe).

الخـــلاصـــــة

تم تنفيذ هذه الدراسة في المزرعة البحثية و معمل التكنولوجيا الحيوية بمركز البحوث و التدريب في الارز بسخا- كفر الشيخ- مصر خلال المواسم الزراعية من ٢٠٠٥-٢٠٠٧ وذلك لأنتاج سلالات أرزنقية وراثيا ذات قيمة غذائية عالية باستخدام تكنيك زراعة المتوك. تم استخدم الأرز الأسود وأربعة أصناف مصرية وهي (جيزة ١٧٧ ، سخا ١٠١، سخا ١٠٢ ، سخا ١٠٤) وتم التهجين بين هذه الاصناف بطريقة(line× tester). تم الحصول علي 66 سلالة زرعت بالاضافة الي الخمسة أباء منهم صنفين كشافين للقيمة الغذائية (الأرز الأسود ، جيزة ١٧٧) وقيمت تحت ظروف الارض العادية. تم تقييم عشر صفات من الصفات الخضرية وصفات المحصول ومكوناته وثماني صفات من صفات القيمة الغذائية وجودة الحبوب. اظهرت تقديرات مربعات التباينات وجود تباينات عالية المعنوية بين كل الصفات لجميع التراكيب الوراثية المدروسة وبالنسبة لمعاملات التباين المظهري والتباين الوراثي للصفات الخضرية وصفات المحصول. كانت معاملات التباين المظهري ٢,٧٥ – ٢٥,٧٩ % اعلي من معاملات التباين الوراثي ٢,٢٤ – ٢٥,٠١ % لكل الصفات كما هو متوقع. وظهر اعلي تباين مظهري ووراثي لصفة محصول الحبوب ٢٥,٧٩ % - ٢٥,٠١ %. وأقل تباين مظهري ووراثي ظهر لصفة نسبة الخصوبة ٢,٧٥ % ، ٢,٢٤ % وأعلى تقديرات لدرجة التوريث بالمعني الواسع تحققت لصفة طول النبات ومحصول الحبوب للنبات وعدد الايام حتي التزهير وطول السنبلة ومساحة الورقة العلم. بينما معاملات التباين المظهري والتباين الوراثي لصفات القيمة الغذائية وجودة الحبوب. كانت أعلى معاملات للتباين المظهري والوراثي لصفة تركيز الحديد في الأرز الأبيض ٤١,٩ ، ٤١,٣ % والأرز المقشور ٣٨,٨٣ ، ٣٨,٦ %. كما أظهر محصول النبات الفردي ارتباطا موجبا عالي المعنوية مع كل من طول السنبلة ، طول النبات ، ارتباط موجب مع صفة مساحة الورقة العلم. وأظهرت صفة طول النبات إرتباط موجب عالي المعنوية مع طول السنبلة وبالنسبة لصفة عدد الفروع للنبات ظهرت الارتباطات موجبة وعالية المعنوية مع صفتي عدد السنابل ونسبة الخصوبة. وأيضا بالنسبة لصفة عدد السنابل كان ارتباطها موجب وعالي المعنوية مع كلتا الصفتين. كما ظهرت إرتباطات موجبة عالية المعنوية بين كل من (التقشير والتبييض)، (محتوي المنجنيز في الأرز المقشور، وفي الأرز الأبيض) ، (محتوى الزنك في الأرز المقشور ، وفي الأرز الأبيض) ، (محتوى الحديد في الأرز المقشور، وفي الأرز الأبيض). كما تم اختبار التركيبات الوراثية المنتخبة بواسطة تكنيك دلائل الـ (SSRs) حيث تم استخدم أربعة دلائل هي RM590 ، RM152 ، RM153 و RM 295 وقد اظهرت جميعها وجود تباين بين التراكيب الوراثية. وكان عدد الاليلات الناتجة 2 اليل لكل معلم جزيئي بين 13 تركيب وراثي لكل صفة على حدا وكان مستوى التباين الوراثي جيد لدراسة الاختلافات الوراثية بين التراكيب الوراثية المنتخبة وكان هناك ارتباط بين الدلائل المستخدمة وصفات القيمة الغذائية (تركيز المنجنيز والزنك والحديد).

List of Contents

1.	INTRODUCTION	1
2.	REVIEW OF LITERATURE	4
2.1.	Definition of the Problem	4
2.1.1	Importance of Rice	4
2.1.2	Black Rice and Nutritional Value	6
2.2.	Genetic Parameters	10
2.3.	Correlation Coefficient	16
٢,٤.	Utilization of Anther Culture	18
2.4.1	Advantages of Anther Culture over Conventional Breeding	18
2.4.2.	Utilization of Anther Culture for Rice Improvement and Factors Affecting it	21
2.5.	Marker Assisted Selection in Breeding Rice for High Nutritional Value	23
2.5.1.	Simple Sequence Repeats (SSRs)	23
3.	MATERIALS AND METHODS	26
3.1.	Plant Materials	26
3.2.	Anther Culture Technique	27
3.3.	Evaluation of the Tested Genotypes	30
3.4.	Studied Characters	32
3.4.1	Agronomic and Yielding Characters	32
3.4.2.	Yield and its Component Characters	33
3.4.3.	Nutritional Value and Grain Quality Characters	34
3.5.	Statistical Analysis	35
3.5.1.	Analysis of Variance	35
3.5.2.	Estimation of Variance Components	36
3.5.3.	Estimation of Phenotypic Correlation	37
3.6.	Molecular Analysis	38
3.6.1.	DNA Isolation and Quantification	38
3.6.2.	SSR Protocol	40
3.6.3.	Electrophoresis, Staining and analysis	41
4.	RESULTS AND DISCUSSION	42
4.1.	Field Evaluation	42
4.1.1.	Mean Performance	42
4.1.1.1	Agronomic Characters	42
4.1.1.2	Yield and its Component Characters	47
4.1.1.3	Nutritional Value Characters	52
4.1.1.4	Grain Quality Characters	57
4.2.	Genetic Variability for the Studied Characters	60
4.2.1.	Agronomic and its Yield Component Characters	60
4.2.2.	Nutritional Value and Grain Quality Characters	64
4.3.	Correlation Coefficients for all the Studied Characters	66
4.3.1.	Correlation Coefficients for Agronomic Characters and their Yield Components	66
4.3.2.	Correlation Coefficients for Nutritional Value and Grain Quality Characters	69
4.4.	Molecular Marker Validation of High Nutritional Known Linked Markers	71
4.4.1.	Mn Linked SSR Marker Validation RM 590	72
4.4.2.	Zn Linked SSR Marker Validation. a- RM 152 marker	75
4.4.2.	Zn Linked SSR Marker Validation. b- RM 153 marker	77
4.4.3	Fe Linked SSR Marker Validation RM 295	79
5.	REFERENCES	82
6.	SUMMARY	96
7.	ARABIC SUMMARY	102

Abbreviations

TCC	Total chlorophyll content
FLA	Flag leaf area
DAH	Days to heading
PLH	Plant height
PAL	Panicle length
NOT	Number of tillers plant^{-1}
NOP	Number of Panicles plant^{-1}
SFP	Spikelet fertility percentage
TGW	Thousand grain weight
GYP	Grain yield plant^{-1}
Bro. rice	Brown (Hulled) rice
Mill. rice	Milled rice
Mn/Brow.	Manganese concentration in Brown Rice
Mn/ Mill.	Manganese concentration in Milled Rice
Zn/Brow.	Zinc concentration in Brown Rice
Zn/Mill.	Zinc concentration in Milled Rice
Fe/Brow.	Iron concentration in Brown Rice
Fe/Mill.	Iron concentration in Milled Rice
Hull.%	Hulling Percentage
Mill.%	Milling Percentage
$\bar{X}$	Grand Mean
σ^2_g	Genetic variance
σ^2_{ph}	Phenotypic variance
GCV	Genotypic coefficient of variation
PCV	Phenotypic coefficient of variation
h^2	Heritability in broad sense
GS	Genetic advance
GA%	Genetic advance as percentage of mean
L.S.D.	Least Significant Difference
DHLs	Doubled haploid lines
RCBD	Randomized Complete Block Design
SSRs	Simple Sequence Repeats
QTL	Quantitative Trait Loci
RRTC	Rice Research & Training Centre