بسم الله الرحمن الرحيم

١١١٢٦٤

۸۷/۱/۱۰۷۹۲۱
۸۸/۱/۳۰

دانشگاه مازندران
مجتمع آموزش عالی علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
دانشکده علوم زراعی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

عنوان:

شناسایی ژن های اعاده کننده باروری در ارقام و لاین های مختلف برنج با استفاده از نشانگرهای مولکولی

اساتید راهنما:

آقای دکتر نادعلی بابایان

آقای دکتر قربانعلی نعمت زاده

استاد مشاور:

آقای مهندس نادعلی باقری

۱۳۸۸ /۱/ ۲۸

ارائه دهنده:

آرمیندخت یزدان پناه

بهمن ۱۳۸۶

۱۱۱۲۶۴

نتایج زحماتم را تقدیم می دارم به

پدر و مادر بسیار مهربان و عزیزم که

وجودم برایشان همه رنج بود و وجودشان برایم همه مهر،

توانشان رفت تا به توانایی برسم،

مویشان سپید گشت تا رویم سپید بماند

و راستی قامتم در شکستگی قامتشان تجلی یافت.

تقدیم به همسر فداکار و باوفایم که همواره در زندگی یار و مشوقم بوده و

تقدیم به پسر خوب و صبورم که دوری مرا تحمل می کرد.

برگ درختان سبز در نظر هوشیار هر ورقش دفتری است معرفت کردگار

حمد و سپاس رب العالمین را که هر چه هست از اوست و قدرت عظمای او را شکر می گویم که راهبری و هدایت مرا نه تنها در انجام تحقیق حاضر بلکه در تمام مراحل زندگی عهده دار بوده است.

از زحمات و راهنماییهای اساتید محترم راهنما، جناب آقایان دکتر نادعلی بابائیان جلودار و دکتر قربانعلی نعمت زاده و استاد محترم مشاور آقای مهندس نادعلی باقری برای انتقال تجربیات و اطلاعات علمی ایشان کمال تشکر را دارم.

از آقایان دکتر کاظمی تبار و دکتر اسماعیلی و خانم دکتر چالوی که زحمت داوری و تصحیح پایان نامه را بر عهده داشتند متشکرم.

از اساتید بزرگوار جناب آقای پرفسور رحیمیان و آقای دکتر تاجیک به واسطه راهنمایی و مساعدت علمی صمیمانه سپاسگزارم.

از اساتید محترم موءسسه تحقیقات بیوتکنولوژی و کشاورزی کرج، جناب آقایان دکتر محسن مردی و دکتر بهزاد قره یاضی به واسطه کمک های علمی و زحمات بی دریغشان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از مسولین محترم آزمایشگاههای بیوتکنولوژی، اصلاح نباتات و علوم دامی دانشگاه ساری آقایان مهندس نتاج، مهندس شاهسواری برای کمک های صادقانه کمال امتنان را دارم.

همچنین از مسولین محترم بخش ژنومیکس موءسسه تحقیقات بیوتکنولوژی و کشاورزی کرج آقای مهندس پیرسیدی و آقای مهندس غفاری که با فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و در اختیار گذاشتن اطلاعات علمی و تجربیات با ارزش زحماتی را متحمل گردیدند بی نهایت سپاسگزارم.

از سرکار خانم مهندس نوروزی مسئول محترم تحصیلات تکمیلی برای تلاش و کوشش فراوان سپاسگزارم.

از تمام دوستانی که در انجام این تحقیق مرا یاری رسانده و با کمک های بی دریغشان در ارائه طریق لازمه حقیر را محظوظ گردانیدند به خصوص خانم مهندس آمنه سادات هاشمی، خانم مهندس هدا هاشمی، خانم مهندس گلسا سمیعی، خانم مهندس شعله کیانی، آقای مهندس علی دهستانی، آقای مهندس رضا طالبی، آقای دکتر هومن خالق مقدم و آقای مهندس وحید همتی دوست کمال تشکر را داشته و برای ایشان آرزوی موفقیت دارم.

در پایان صمیمانه ترین قدرشناسی را نثار سرمایه های جاودانی زندگیم، خواهر و برادرانم خانم مهندس آنسه یزدان پناه، آقای دکتر آرمان یزدان پناه و آقای مهندس آریان یزدان پناه و مادر بسیار مهربان همسرم و خانواده محترم ایشان می نمایم که زبانم در قدر دانی از آنها قاصر می باشد.

آرمیندخت یزدان پناه

شناسایی ژن های اعاده کننده باروری در ارقام و لاین های مختلف برنج با استفاده ازنشانگرهای مولکولی

چکیده

به منظور بهره گیری از پدیده هتروزیس و تولید برنج هیبرید، شناسایی لاین های اعاده کننده باروری بسیار ضروری و حائز اهمیت می باشد. به این منظور روی ۶۰ لاین و رقم مختلف برنج، ارزیابی مولکولی با استفاده از دو نشانگر STS شامل، RG140 همبسته با ژن Rf_3، روی کروموزوم شماره ۱و نشانگر S10019 همبسته با ژن Rf_4 واقع بر کروموزوم شماره ۱۰ و یک نشانگر SSR به نام RM6344 همبسته با ژن Rf_1 واقع بر کروموزوم شماره ۷ برنج انجام گرفت. نتایج نشان دادند که تعداد ۵ لاین و رقم فاقد هر گونه ژن اعاده کننده باروری هستند که این ارقام مناسب برای تولید لاین های نرعقیم سیتوپلاسمی می باشند. همچنین تعداد۶ لاین و رقم دارای هر سه ژن اعاده کننده باروری روی هر سه کروموزوم ۱، ۷ و ۱۰ می باشند، لذا این ارقام می توانند لاین های اعاده کننده مناسبی برای باروری باشند و استفاده از آنها در تولید بذر هیبرید می تواند مفید باشد. همچنین تعدادی از لاین ها و ارقام، تنها دارای یک ژن اعاده کننده باروری و برخی از آنها دارای دو ژن از ژن های مذکور (Rf_3, Rf_4 و Rf_1) می باشند.

بررسی های انجام شده نشان دادند که سه نشانگر نامبرده، نشانگرهای اختصاصی مناسبی برای غربالگری لاین های اعاده کننده باروری در برنج می باشند، ولیکن برای تایید بیشتر از پنج نشانگر دیگر SSR شامل نشانگرهای RM1108 , RM258 وRM171 همبسته با ژن Rf_4 واقع بر کروموزوم شماره ۱۰ و نشانگر های RM443 و RM1 همبسته با ژن Rf_3 واقع بر کروموزوم شماره ۱ برنج استفاده گردید که موءید نتایج پیشین می باشند.

کلمات کلیدی: برنج، ژن اعاده کننده باروری، نشانگر مولکولی.

فهرست مطالب

فصل اول- مقدمه

۱-۱-تولید کنندگان برنج..... ۳
۱-۲- کشت برنج در ایران..... ۳

فصل دوم- کلیات

۲-۱- مشخصات گیاه برنج..... ۸
۲-۱-۱- خواص برنج..... ۸
۲-۱-۱-۱- دسته بندی دانه برنج..... ۹
۲-۲- وضعیت ژنتیکی برنج..... ۱۰
۲-۳- پدیده هتروزیس..... ۱۱
۲-۴- نرعقیمی..... ۱۲

فصل سوم- بررسی منابع

۳-۱-انواع نرعقیمی..... ۱۶
۳-۱-۱- نرعقیمی ژنتیکی..... ۱۶
۳-۱-۲- نرعقیمی سیتوپلاسمی..... ۱۷
۳-۱-۳- نرعقیمی ژنتیکی – سیتوپلاسمی..... ۱۷
۳-۲- ضرورت داشتن منابع متنوع نرعقیمی سیتوپلاسمی..... ۱۹
۳-۳- روشهای ایجاد تنوع در منابع CMS ۲۰
۳-۳-۱- تلاقی داخل گونه ای..... ۲۰
۳-۳-۲- تلاقی بین گونه ای..... ۲۰
۳-۴- سیستم سه لاین..... ۲۱
۳-۵- سیستم دو لاین..... ۲۲
۳-۶- فراوانی و جستجوی لاین های اعاده کننده باروری..... ۲۲
۳-۷- کنترل ژنتیکی اعاده کردن باروری..... ۲۴
۳-۸- نشانگرها در برنامه های اصلاحی..... ۲۵
۳-۸-۱- تعریف نشانگر..... ۲۵
۳-۸-۲- انواع نشانگرها..... ۲۶
۳-۸-۲-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی..... ۲۶
۳-۸-۲-۲- نشانگرهای سیتوژنتیکی..... ۲۶

۳-۸-۲-۳- نشانگرهای بیوشیمیایی..... ۲۷
۳-۸-۲-۴- نشانگرهای مولکولی..... ۲۷
۳-۸-۲-۴-۱- نشانگرهای مولکولی مبتنی بر هیبرایدسیون..... ۲۸
۳-۸-۲-۴-۲- نشانگرهای مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمراز..... ۲۸
۳-۹- تاریخچه کاربرد نشانگرهای مولکولی..... ۲۹
۳-۱۰- کاربرد نشانگرهای مولکولی در برنج..... ۳۰
۳-۱۱- انتخاب به کمک نشانگرها..... ۳۱
۳-۱۲- شرایط استفاده از نشانگرهای مولکولی در برنامه های تهیه نقشه ژنتیکی..... ۳۲
۳-۱۳- روش انجام PCR (واکنش زنجیره ای پلیمراز)..... ۳۲
۳-۱۴- الکتروفورز..... ۳۴
۳-۱۵- نقاط نشانمند از توالی (STS) ۳۶
۳-۱۵-۱- مزایای این روش..... ۳۷
۳-۱۵-۲- معایب این روش..... ۳۷
۳-۱۶- میکروساتلایت..... ۳۸
۳-۱۶-۱- تشخیص آلل های ریزماهواره..... ۴۰
۳-۱۶-۲- مزایای ریز ماهواره..... ۴۱
۳-۱۶-۳- مشکلات کار با ریز ماهواره..... ۴۱
۳-۱۶-۳-۱- اشتباهات آلل خوانی..... ۴۱
۳-۱۶-۳-۲- آلل های صفر..... ۴۲
۳-۱۶-۳-۳- اندازه نمونه مورد نیاز..... ۴۲
۳-۱۶-۴- کاربردهای ریز ماهواره..... ۴۳
۳-۱۷- سابقه نقشه یابی ژن اعاده کننده باروری..... ۴۸

فصل چهارم- مواد و روشها

۴-۱- کشت ارقام ولاین ها..... ۵۲
۴-۲- تهیه نمونه های برگی..... ۵۲
۴-۳- استخراج DNA..... ۵۳
۴-۴- انواع روش های استخراج دی.ان.ای. از گیاهان عالی..... ۵۳
۴-۵- انجام مراحل استخراج DNA..... ۵۴
۴-۶- بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده..... ۵۸
۴-۶-۱- از طریق اسپکتروفتومتر..... ۵۸
۴-۶-۲- به وسیله الکتروفورز ژل آگارز..... ۵۸
۴-۷- بارگذاری نمونه ها و اجرای الکتروفورز..... ۶۱

۴-۸- آماده سازی آغازگرها..... ۶۴
۴-۹- انجام واکنش PCR..... ۶۴
۴-۱۰- الکتروفورز ژل عمودی..... ۷۰
۴-۱۰-۱- تیمار ظرف ژل..... ۷۰
۴-۱۰-۲- تهیه ژل پلی اکریل امید واسرشته ساز..... ۷۲
۴-۱۰-۳- بارگذاری نمونه ها و انجام الکتروفورز..... ۷۳
۴-۱۰-۴- تهیه نمونه ها جهت بارگذاری در ژل..... ۷۴
۴-۱۱- رنگ آمیزی ژل به روش نیترات نقره..... ۷۷
۴-۱۲- تجزیه و تحلیل داده ها و مشاهدات ۸۰

فصل پنجم- نتایج و بحث

۵-۱- ارزیابی مولکولی..... ۸۲
۵-۱-۱- نتایج حاصل از اعمال نشانگرRG140 ..... ۸۴
۵-۱-۲- نتایج حاصل از اعمال نشانگرS10019 ..... ۸۶
۵-۱-۳- نتایج حاصل از اعمال نشانگر RM6344 ..... ۸۹
۵-۱-۴- نتایج حاصل از اعمال نشانگر RM1..... ۹۷
۵-۱-۵- نتایج حاصل از اعمال نشانگر RM443..... ۹۸
۵-۱-۶- نتایج حاصل از اعمال نشانگرRM171 ..... ۱۰۰
۵-۱-۷- نتایج حاصل از اعمال نشانگر RM 258 ..... ۱۰۲
۵-۱-۸- نتایج حاصل از اعمال نشانگر RM 1108 ..... ۱۰۴
نتیجه گیری..... ۱۱۱
پیشنهادات..... ۱۱۳
منابع..... ۱۱۴

فهرست جداول

جدول ۳-۱- منابع نرعقیم ایجاد شده از طریق سیتوپلاسم در برنج..... ۲۱
جدول۴-۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش پی.سی.آر ۶۶
جدول۴-۲- برخی از مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش پی.سی.آر..... ۶۷
جدول ۴-۳- مقادیر مورد نیاز برای تهیه محلول مادری..... ۶۷
جدول ۴-۴- زمان‌بندی سیکل‌های حرارتی پی.سی.آر..... ۶۸
جدول ۴-۵- مقادیر مورد نیاز برای هضم آنزیمی محصولات پی.سی.آر..... ۶۹
جدول ۴-۶- تهیه محلول‌های مورد نیاز و زمان‌بندی در رنگ‌آمیزی نیترات نقره..... ۸۰
جدول ۵-۱- ارقام و لاین های برنج که در تحقیق حاضر مورد مطالعه قرار گرفته اند..... ۸۳
جدول ۵-۲- جدول ارزیابی مولکولی ارقام مطالعه شده با سه نشانگر یاد شده..... ۹۱
جدول ۵-۳- پراکنش (توزیع) ژن های مختلف اعاده کننده باروری در ارقام مختلف برنج مورد مطالعه..... ۱۰۷

فصل اول

مقدمه

برنج یکی از مهم ترین غلات در آسیا و از خانواده گرامینه ها (گندمیان) میباشد. دانه برنج و فراورده های آن تقریبا ۴۰ درصد غذای نصف مردم دنیا را تشکیل میدهد. این محصول از نظر تولید جهانی با گندم برابری می نماید.

۱-۱- تولید کنندگان برنج:

پس از گندم، برنج دومین غله مهم در دنیا به حساب می آید. نزدیک به ۹۰ درصد سطح زیر کشت و تولید برنج متعلق به کشورهای خاور دور می باشد. بیش از نصف محصول برنج در دو کشور هند و چین تولید می شود. به طور کلی، کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری برمه، تایلند، ویتنام، لائوس، اندونزی، فیلیپین، پاکستان، هند، آمریکا، ژاپن، ایتالیا، مصر، چین، برزیل، کوبا، مکزیک و استرالیا از تولید کنندگان برنج به شمار می آیند. میزان تولید برنج در تایلند، برمه، ویتنام و لائوس بیش از مصرف داخلی آنهاست و بنابراین قسمت عمده برنج این مناطق صادر می شود. نزدیک به ۹۰ درصد برنج موجود در بازارهای دنیا متعلق به این ۴ کشور می باشد (۴۶).

۱-۲- کشت برنج در ایران:

کشت برنج در ایران در نواحی شمالی به ویژه رودسر و جنوبی به ویژه خوزستان تاریخچه طولانی دارد. شواهد نشان میدهد که این محصول در این ناحیه قرنها پیش از میلاد مسیح و در زمان هخامنشیان رواج داشته است. البته امروزه با توجه به رشد روزافزون جمعیت ایران، تولید داخلی برنج پاسخگوی نیاز مردم نیست و مقادیر قابل توجهی از خارج وارد میشود. به منظور تامین غذای جمعیت رو به رشد درچهل سال آینده بایستی تولیدات غذایی سه برابر گردد و افزایش تولید به دو روش افزایش سطح زیر کشت و افزایش در واحد سطح امکانپذیر می باشد. به دلیل محدود بودن زمین های زراعی، نیز کمبود شدید آب، بدون تردید باید تولید را در واحد سطح از طریق بهره مندی از سیستمهای به زراعی و به نژادی افزایش داد.

دستیابی به خود کفایی در تولید برنج و حفظ ثبات قیمت آن، از جمله اهداف مهم در کشورهای کم درآمدی است که برنج به عنوان تنها غذای اصلی، اساس تامین نیازهای غذایی بوده و برای مردم فقیر و آسیب پذیر این کشورها، شغل و درآمد ایجاد می نماید (۴۶).

تا سال ۲۰۳۰ تولید برنج باید به میزان ۷۰ درصد بیش از برنج تولیدی در سال ۱۹۹۵باشد تا بتواند جوابگوی تقاضای جمعیت در حال رشد و بالا رفتن سطح درآمدها باشد. ازجمله راههای ژنتیکی جهت افزایش تولید، توسعه تیپ های گیاهی جدید مبتنی بر دستکاری ژنتیکی وفیزیولوژیکی، استفاده از ابزار جدید زیستی جهت افزایش عملکرد و بهره مندی از هتروزیس عملکرد می باشد. از میان این گزینه ها، یکی از راههای عملی جهت افزایش تولید، بهره مندی از فناوری برنج هیبرید یا به عبارتی استفاده از رشد عالی هیبرید می باشد (۷۷، ۱۰۸، ۱۰۶، ۱۰۷، ۱۲۱، ۱۰۳ و ۱۰۲).

تکنولوژی برنج هیبرید در افزایش عملکرد برنج در چین و سایر مناطق موفقیت آمیز بوده است. واریته های برنج هیبرید به مقدار ۱/۵-۱ تن در هکتار بیشتر از ارقام اصلاح شده نیمه پاکوتاه در چین و سایر کشورها محصول تولید می کنند (۶۳). بکارگیری این تکنولوژی در کشورهایی نظیر ویتنام، هند، فیلیپین، بنگلادش، میانمار و آمریکا موجب افزایش عملکرد دانه و نیز افزایش درآمد برای کشاورزان آن مناطق شده است. شایان ذکر است که این تکنولوژی در کشور چین فرصتهای شغلی فراوانی ایجاد نموده است. بر اساس آمارهای موجود، تقاضا برای مصرف برنج در کشور به علت افزایش جمعیت، مرتباً رو به افزایش می باشد، به نحوی که هر ساله برای تامین نیازهای داخلی مقادیر قابل توجهی برنج از خارج وارد می گردد. تامین کمبود برنج از طریق کاشت و برداشت ارقام بومی قابل حصول نمی باشد، زیرا ارقام بومی عمدتاً ارقام پا بلند، با خاصیت کود پذیری کم و حساس به بیماری‌ها و خوابیدگی می باشند و عموماً عملکردی پایین دارند. لذا تهیه ارقام پر محصول با خاصیت کود پذیری بالا و نیز با کیفیت پخت مناسب بسیار حائز اهمیت است. ارقام برنج هیبرید می تواند جایگزین مناسبی برای حصول عملکرد بیشتر و گامی مؤثر جهت کاهش واردات برنج باشد (۷، ۱۱۹ و ۱۲۰).

نرعقیمی سیتوپلاسمی و سیستم اعاده کنندگی باروری برای گسترش و تجارتی نمودن این تکنولوژی بسیار کارآمد می باشند. نرعقیمی سیتوپلاسمی پدیده ای معمول در گیاهان می باشد که به طور گسترده به منظور ممانعت از خودگرده افشانی جهت تولید بذور هیبرید در محصولات مختلف به کار گرفته می شود. در برنج سیستم سه لاینی که متشکل از اعاده کننده های باروری (R)، لاین های نرعقیم[1] (A) و نگهدارنده ها ی باروری (B) می باشد که برای تولید بذور هیبرید از سال ۱۹۷۵ در چین به کار گرفته شده است (۱۰۲).

تکوین تکنولوژی برنج هیبرید توسط چینی ها در دهه ۱۹۷۰، نشان دادکه استفاده از برنج هیبرید می تواند عملکردرا به میزان ۱۵تا ۲۵ درصد افزایش دهد (۱۱۶، ۱۱۷ و ۶۳).

از آنجا که برنج گیاهی خودگشن است، به منظور انجام دگر گشنی در آن از سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی استفاده می شود به طوری که لاین نرعقیم قادر به تولید دانه گرده بارور نمی باشد. پس از معرفی یا اصلاح لاین های نرعقیم با سیتوپلاسم محلی، گام بعدی ارزیابی و شناسایی لاین هایی است که بتوانند در تلاقی با لاین نرعقیم، نتاج بارور تولید نمایند تا بذر هیبرید تولید گردد. برای حصول به این هدف غربال ژرم پلاسم منطقه برای یافتن لاین ها یا ارقام دارای این ژن ها ضروری است.

تعداد کم لاین های اعاده کننده باروری قابل دسترس و پایه محدود ژنتیک آنها، همواره یکی از مشکلات اساسی تولید برنج هیبرید بوده است. استفاده از انتخاب شجره ای، کشت بساک و انتخاب دوره ای از روش های اصلاح و معرفی لاین های جدید اعاده کننده باروری بوده است (۱۰۴).

در سالهای اخیر با پیشرفت روش های نوین اصلاحی از جمله مهندسی ژنتیک و تکنیک انتقال ژن اقدامات زیادی در این زمینه انجام شده است. معرفی نشانگرها و استفاده از آنها در شناسایی و اصلاح ارقام جدید در سر لوحه این اقدامات است.

1-Cytoplasmic Male Steerility

هدف از این پژوهش ارزیابی نشانگرهای مولکولی ریزماهواره و نشانگرهای نشانمند از توالی در شناسایی ارقام دارای ژن های اعاده کننده باروری می باشد. نتایج حاصل می تواند در برنامه های اصلاحی به خصوص انتقال ژن های مذکور به ارقام زراعی با عملکرد بالا مفید باشد. همچنین می توان با این نشانگرها تنوع ژنی جایگاه های ژن مذکور را مورد بررسی قرار داد.

فصل دوم

کلیات

۲-۱- مشخصات گیاه برنج

برنج یکی از گیاهان مهم تیره غلات و دارای جنس ها و گونه های زیادی است که مهمترین آن جنس *Oryza* و گونه زراعی آن *sativa* است. در جنوب آفریقا گونه دیگری به نام *O. glabrima* وجود دارد که در غرب اروپا کشت و درحدود ۲۰ درصد سطح زیر کشت برنج را شامل می شود (۱۶).

ساقه برنج راست، استوانه‌ای و جز در قسمتی که گره‌ها وجود دارند تو خالی است . ارتفاع ساقه به ۶۰ تا ۲۰۰ سانتیمتر می‌رسد. برنج علاوه بر ساقه اصلی ، ۴ تا ۵ ساقه فرعی دارد. برگهای برنج به صورت متناوب در دو ردیف در دو طرف ساقه قرار گرفته‌اند. برگ برنج دارای غلاف، پهنک، زبانک و گوشوارک است.

همچنین برنج مانند گندم، دارای گل آذین خوشه‌ای می‌باشد که دانه‌ها در آن قرار می گیرند. برخلاف سنبلچه‌های گندم و جو و ذرت که فشرده و نزدیک به هم هستند، سنبلچه‌های برنج به صورت غیر فشرده روی محورهای اصلی و فرعی گل آذین قرار می‌گیرد. میوه برنج دارای غلافی سفید رنگ، قهوه‌ای، کهربایی، قرمز یا بنفش است که این میوه را به همراه غلاف آن، شلتوک می‌نامند. برای قابل استفاده شدن برنج برای انسان، باید شلتوک را پوست کنند، یعنی غلاف را از دانه جدا نمایند(۶).

خوشه برنج دارای گلهای دو جنسی انفرادی است که در خوشه چه های تک گلی قرار دارند. هر گل دارای شش پرچم و یک تخمدان با دو کلاله پر مانند دو شاخه است. شکافتن بساک ها و خروج آنها کم و بیش همزمان انجام می شود و پس از آن پوشینکهای خارجی و داخلی دوباره بسته می شوند. این مرحله معمولا" در بالاترین گلچه های خوشه، موقعی صورت می گیرد که ۵۰ تا ۶۰ درصد خوشه از غلاف خارج شده باشد (۱۲ و ۱۰۶).

۲-۱-۱- خواص برنج

بیرونی‌ترین لایه برنج پریکارپ نام دارد که بسیار سخت و شفاف است. پوست دانه زیر این بخش قرار گرفته که از لحاظ پروتئین و چربی غنی، ولی از نظر نشاسته‌ای فقیر است. پس از پوست، لایه

آلورن هست که جزء آندوسپرم می‌باشد. بنابراین ضمن عمل پوست کنی، بخش عمده‌ای از مواد مغذی برنج از دست می‌رود. اکثر مردم آسیا از برنج تغذیه می‌کنند. این ماده غذایی کامل نیست، چون میزان پروتئین و اسید آمینه آن خیلی کم است. برنج گلوتن ندارد، پروتئین عمده آن اوریزنین می‌باشد. ترکیب اصلی برنج، نشاسته است که عمدتا در آندوسپرم قرار گرفته است. برنجهایی که آمیلوپکتین بیشتری دارند لعاب بیشتری داده و انبساط آنها موقع پخت کم است. برنج را پس از جوشاندن و دم کردن، همراه با گوشت، ماهی و انواع سبزی میل می‌کنند. در تهیه نشاسته، شیرینی هم از آن استفاده می‌شود. البته در کشورهایی که انحصارا از برنج به عنوان غلات خود استفاده می‌کنند، بیماریهای مختلف سوء تغذیه از جمله بری بری، کاهش رشد افراد، کاهش توان نیروی کار دیده می‌شود. برنج را باید همراه با سایر غلات مصرف نمود. چون مصرف آن به تنهایی تمام نیازهای غذایی بدن را بر آورده نمی‌سازد (۶).

۲-۱-۱-۱-دسته بندی دانه برنج

با توجه به خصوصیات مختلف دانه از جمله سنگینی، طول، باریک یا گرد بودن و غیره دانه برنج را به چهار دسته کلی دسته بندی میکنند. ۱-برنج های بلند: طول دانه صیقل شده این دسته برنج به ۷ میلیمتر یا بیشتر میرسد. در ایران این برنجها به برنج صدری معروفند. برنج های صدری از نظر طول و باریک بودن به ترتیب شامل برنج های سالاری، صدری دم سیاه، صدری معمولی، امیری و اربابی هستند. ۲- برنج های متوسط: طول دانه صیقل شده این دسته برنج ۶ تا ۷ میلیمتر میباشد. به این گروه برنج ها در ایران چمپای زودرس می گویند. انواع برنج های چمپا شامل برنج رسمی، چمپای سیاه، چمپای سفید و برنج بینام میباشند. قابل توجه است که برنج های صدری نسبت به برنج های چمپا عملکرد پایین تری دارند و در برابر آفات و همچنین کم آبی حساس ترند. ۳- برنج های کوتاه:

طول دانه صیقل داده شده این برنج ها ۵ تا ۶ میلیمتر است. به این دسته برنج در ایران چمپای دیر رس می گویند. دانه های زیر ۵ میلیمتر را در ایران برنج گره میگویند.

برنج ها را بر اساس وزن دانه به سه دسته تقسیم می کنند: ۱-برنج های خیلی سنگین: که وزن ۱۰۰۰ دانه آنها بیش از ۲۸ گرم است. ۲- برنج های سنگین: که وزن ۱۰۰۰ دانه آنها بین ۲۲ تا ۲۸ گرم است. ۳-برنج های کمی سنگین: که وزن ۱۰۰۰ دانه آنها کمتر از ۲۲ گرم میباشد.

برنج را میتوان از نظر میزان نشاسته به دو دسته تقسیم کرد: ۱-لعابدار: نشاسته برنج لعابدار به صورت آمیلوپکتین بوده و میزان آمیلوز آنها کمتر از ۲ در صد می باشد. هرچه میزان آمیلوز برنج کمتر باشد، چسبنده تر می شود. ۲-غیر لعابدار: نشاسته موجود در آندوسپرم برنج غیر لعابدار سخت و شیشه ای است و بنابراین دانه ها هنگام پختن بهم نمی چسبند. مقدار آمیلوز این دسته برنج ها بیش از ۵ درصد می باشد (۶).

۲-۲- وضعیت ژنتیکی برنج

برنج امروزه به عنوان یک سیستم مدل برای آنالیز ژنتیکی و کاربردهای بیوتکنولوژی به منظور توسعه و پیشرفت تک لپه ایها کاربرد دارد. عواملی که چنین شرایطی را فراهم می آورند شامل کوچک بودن اندازه ژنوم برنج که تنها شامل ۴۳۰ بیلیون باز است و مقایسه ژنوم آن در مقایسه با بقیه گندمیان و راحتی تغییر شکل آن است(۱). به دلیل کوچکی اندازه ژنوم، مطالعات ژنتیکی بسیاری روی آن انجام گرفته است.

جنس *Oryza* دارای بیست گونه با تعداد کروموزوم های گامتی ۱۲(n=۱۲) است. این جنس دارای گونه های دیپلوئید و تتراپلوئید با شش گروه ژنومی A، B، C، D، E و F می باشد. گونه برنج زراعی اوریزا ساتیوا دارای ۲۴ کروموزوم (۲n=۲۴) و فرمول ژنومی آن AA می باشد. گونه های تتراپلوئید آن با ۴۸ کروموزوم نیز موجود است (۱).

برنج معمولی از لحاظ ژنتیکی و سیتولوژیکی بیشتر شبیه گونه های دیپلوئید است، ولی اطلاعات ژنتیکی و سیتولوژیکی نشان می دهد که این گونه در اصل پلی پلوئید بوده و شماره کروموزومی پایه آن ۵ می باشد (n=۵). چنین فرض شده است که گونه ای با n=۵ کروموزوم (A، B، C، D، E) با گونه دیگری که n=۵ کروموزوم داشته است ترکیب شده، آمفی پلوئید حاصل بر اثر اختلالاتی که در میوز آن انجام گرفته، گیاهی با ۱۲کروموزوم تولید کرده است (۵کروموزوم از هر والد + یک کروموزوم A_1 و یک کروموزوم B) (۱۶ و۲۳).

تا به حال گیاه برنج با n=۵ کروموزوم دیده نشده است و ممکن است از بین رفته باشد(۲).

کروموزوم های گونه *O. glaberrima* به خوبی با *O. sativa* جفت نشده و لذا به آن فرمول ژنومی AgAg داده اند. شش گونه اوریزا، یکساله می باشند. دو گونه *O. nivara* و *O. rafipogon* که وحشی بوده و دارای ژنوم AA می باشند، به طور وسیعی در جنوب شرقی آسیا توزیع یافته و به راحتی با یکدیگر و با برنج زراعی تلاقی پذیر است.

هیبریدهای حاصل از تلاقی بین ارقام ایندیکا و ژاپونیکا از حیث درجه عمیقی تفاوت دارند. بعضی کاملا سالم و برخی قسمتی یا کاملاً عقیم هستند (۱۶). علیرغم جفت شدن نرمال کروموزوم ها در این هیبریدها، ۱۰تا ۷۰ درصد عقیمی وجود دارد. این عقیمی اولین بار به دلیل اختلالات کروموزومی در این دو تیپ گیاهی مطرح گردید. ولی گزارش های مبنی بر وجود ژن های عقیمی در کروموزومهای ۵ و ۶ وجود دارد (۶۱).

۲-۳-پدیده هتروزیس[1]

هتروزیگوسیتی نتیجه تلاقی دو والدی است که از نظر ژنتیکی با یکدیگر تفاوت دارند. بسیاری از هیبریدها پدیده ای به نام هتروزیس (یا رشد عالی هیبرید)[2] را نشان می دهند که می توان آن را

۱- Heterosis

2- Hybrid Vigour