دانشکده علوم کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

رشته اصلاح نباتات

مکان یابی QTLهای کنترل کننده تحمل سرما در برنج

از:

دینا کبریایی

استادان راهنما:

دکتر حبیب الله سمیع زاده

دکتر علی اعلمی

استاد مشاور:

مهندس مهرزاد اله قلی‌پور

شهریور ۱۳۹۰

تقدیم به برترین واژه های زندگی ام

تقدیم به پروردگارم که از دمش در وجودم روح نشاند و یاریم کرد تا موجود ناتوان این ایزد متعال راه های ترقی را طی کند

تقدیم به پدرم که بذر تلاش در عرصه ی وجودم پاشاند

و مادرم که تندیس محبت و فداکاری است

و تقدیم به آنان که در مسیر زندگی چراغ راهم شدند

باشد تا روزی به ثمر بنشیند این زحماتشان

به نام تک آموزگار هستی

قبل از هر چیز خدای را شاکرم که مرا قوت داد تا بتوانم تاب پیمودن این طریق را همواره در قدمهایم دریابم و از همه ی کسانی که در این مدت، زمانم در حضور ایشان صرف آموختن شد، تشکر کنم. جا دارد در این مقام از اساتید راهنمای خود جناب آقای دکتر سمیع زاده و جناب آقای دکتر اعلمی که در هدایت و به ثمر رساندن این پروژه نقش اصلی و اساسی ایفا نموده اند تشکر صمیمانه ی خود را بجای آورم و نیز از آقای مهندس اله قلی پور که همواره ذکر نکات راهبردی ایشان نتیجه بخشی این پروژه را تسریع نمود کمال سپاس و قدردانی را دارم. همچنین از دوستان مهربان سرکار خانم مهندس سمیرا صفی یار، سرکار خانم مهندس پرستو مرادی، آقای مهندس محسن زاده، آقای مهندس مجتبی کردستمی کمال تشکر را دارم.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی ..... خ
چکیده انگلیسی ..... د
مقدمه ۱

فصل اول- کلیات و مرور منابع

۱-۱- برنج ٦
۱-۲- خصوصیات گیاه شناسی برنج ۷
۱-۳- نشانگرهای ژنتیکی ۸
۱-٤- انواع نشانگرهای ژنتیکی ۹
۱-۵- مقدمه‌ای بر PCR ۱۰
۱-۵-۱-تاریخچه PCR ۱۰
۱-۵-۲- نکات مهم در فرایند PCR ۱۱
۱-۵-۳- واکنش زنجیره‌ای پلی مراز ۱۱
۱-٦-نشانگرهای ژنتیکی ۱۲
۱-٦-۱- ریزماهواره‌ها ۱۲
۱-۷- تاریخچه‌ی AFLP ۱۶
۱-۷-۱- مراحل روش AFLP ۱۷
۱-۷-۱-۱- هضم DNA ژنومی ۱۷
۱-۷-۱-۲- تکثیر پیش از مرحله‌ی انتخاب ۱۸
۱-۷-۱-۳- تکثیر انتخابی ۱۹
۱-۸- اصول و مبانی تجزیه QTL ۲۱
۱-۸-۱- اهداف مکان‌یابی QTL ۲۲
۱-۹-مواد مورد نیاز جهت مکان‌یابی QTL ۲۲
۱-۹-۱-جمعیت نقشه‌یابی QTL ۲۲
۱-۹-۲- غربال فنوتیپی صحیح جمعیت نقشه‌یابی و تهیه یک نقشه پیوستگی اشباع مبتنی بر نشانگرهای مولکولی ۲۳
۱-۱۰- انواع جمعیت‌های نقشه‌یابی ۲۴
۱-۱۰-۱- جمعیت F2 ..... ۲٤
۱-۱۰-۲- تلاقی برگشتی (BC) ۲۵
۱-۱۰-۲- اینبرد لاین‌های نوترکیب (RIL) ۲۵
۱-۱۰-۳- هاپلوئیدهای دوگانه (DH) ۲٦
۱-۱۰-٤- لاین‌های نسبی هم ژن (NIL) ۲٦

۱-۱۰-۵- Fx:y ۲۷
۱-۱۰-٦- جمعیت‌های طبیعی ۲۷
۱-۱۱- روش‌های آماری تجزیه اطلاعات ژنوتیپی در ترکیب با اطلاعات فنوتیپی جهت مکان‌یابی QTL ۲۷
۱-۱۱-۱- تجزیه تک‌نشانگری ۲۸
۱-۱۱-۲- مکان‌یابی فاصله‌ای ساده ۲۹
۱-۱۱-۳- مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) ۳۰
۱-۱۱-٤- مکان‌یابی فاصله‌ای چندگانه (MIM) ۳۱
۱-۱۲-مکانیسم مقاومت به تنش‌ها ۳۲
۱-۱۲-۱- درجه ی حرارت پایین ۳۳
۱-۱۲- ۲-تنش سرما ۳۳
۱-۱۲-۳- راه‌های مقابله با خسارت سرمایی ۳۵
۱-۱۲-٤- اثرات سرما در گیاه برنج ۳۸
۱-۱۲-۵- مدیریت آب ۳۸
۱-۱۲-٦- کاربرد کودها ۳۹
۱-۱۲- ۷- عملیات اصلاحی برای مقابله با سرما ٤۰
۱-۱۳-مرور منابع ٤۰

فصل دوم- مواد و روش‌ها

۲-۱- جمعیت نقشه‌یابی ٤٤
۲-۲- صفات مورد بررسی و روش اندازه‌گیری آن‌ها ٤٤
۲-۲-۱-شاخص جوانه‌زنی ٤٦
۲-۲-۲-سرعت جوانه زنی ٤۷
۲-۲-۳-درصد جوانه-زنی ٤۷
۲-۲-٤-میزان کلروفیل ٤۹
۲-۳-تهیه نمونه‌های برگی ٤۹
۲-٤- استخراج DNA ژنومی ۵۱
۲-۴-۱- تعیین غلظت و کیفیت DNA ۵٤
۲-۴- ۲-رقیق سازی DNA ژنومی استخراج شده ۵۸
۲-۵- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۵۸
۲-۵-۱-آغازگرهای ریزماهواره یا SSR ۵۸
۲-٦- مواد مورد نیاز برای انجام PCR ٦۰
۲-٦-۳- **چرخه ی**PCR ٦۱
۲-٦-۴- الکتروفورز فرآورده های PCR ٦۲

۲-٦-۵-الکتروفورز با ژل آگارز ٦۳
۲-۷- تهیه ی ژل آگارز ٦۳
۲-۷-۱- بارگذاری نمونه‌ها ٦٤
۲-۸- انجام مراحل AFLP ٦۵
۲-۸- ۱- هم غلظت کردن نمونه ها ٦۵
۲-۸-۲- هضم DNA ژنومی ٦٦
۲-۸-۳- دو رشته‌ای کردن سازگارسازها ٦۷
۲-۸-۴- پیوند سازگارسازها باDNAهای هضم شده ٦۹
۲-۸-۵- مرحله پیش تکثیر ۷۰
۲-۸-۶ تکثیر انتخابی ۷۲
۲-۹- الکتروفورز با پلی‌آکریل‌آمید واسرشته ساز ۷٤
۲-۹-۱-تهیه ژل پلی‌آکریل‌آمید واسرشته ساز ۷۵
۲-۹-۲- بارگذاری نمونه ها واجرای الکتروفورز ۷٦
۲-۹-۳- رنگ آمیزی ژل به روش نیترات نقره ۷۷
۲-۱۰- بررسی‌های آماری ۸۱

فصل سوم- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی‌های فنوتیپی ۸٤
۳-۲- جستجوی چند شکلی در بین والدین ۸۸
۳-۳- تهیه نقشه پیوستگی ۹۳
۳-٤- مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده صفات مورد مطالعه ۹۳
۳-۴-۱- مکان‌یابی فاصله‌ای ۹۵
۳-۴-۲- مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب ۱۰۰
۳-۵- نتیجه‌گیری کلی ۱۰۸
۳-٦- پیشنهادات ۱۱۰
فهرست منابع ۱۱۲

فهرست جداول

عنوان ..... صفحه

جدول ۱-۱- عوامل کاهش و ضعف عملکرد در اثر سرما در گیاه برنج ۳۷
جدول ۲-۱- محلول‌های مورد نیاز جهت استخراج DNA و بارگذاری ژل ۵۳
جدول ۲-۲- مواد مورد استفاده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای نشانگرهای ریزماهواره ٦۰
جدول ۲-۳- آنزیم‌ها و مواد مورد استفاده جهت برش آنزیمی بررسی AFLP ٦٦
جدول ۲-٤- مخلوط واکنش جهت دو رشته‌ای کردن سازگارساز ECORI ٦۸
جدول ۲-۵- مخلوط واکنش جهت دو رشتهای کردن سازگارساز MseI ٦۹
جدول ۲-٦-و ۲-۷- اجزاء واکنش جهت اتصال سازگارسازهای MseI و ECORI به DNA هضم شده ۷۱
جدول ۲-۷-اجزا واکنش برای تکثیر DNA قبل از مرحله‌ی انتخابی ۷۱
جدول ۲-۸- نام و توالی آغازگرهای مورد نظر در مرحله تکثیر انتخابی ۷۳
جدول ۳-۱- ارزش‌های فنوتیپی صفات مرتبط با عملکرد در والدین و نسل $F_{2:3}$ ۸۵
جدول ۳-۲- واریانس فنوتیپی، ژنوتیپی و محیطی و وراثت پذیری عمومی صفات مورد مطالعه ۸۵
جدول ۳-۳- نشانگرهای ریزماهوارهٔ چند شکل مورد مطالعه و آزمون کای اسکور (χ^2) آن‌ها ۸۹
جدول ۳-٤- نشانگرهای AFLP چند شکل مورد مطالعه و آزمون کای اسکور (χ^2) آن‌ها ۹۰
جدول ۳-۵- نشانگرهای پیوسته با QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با عملکرد در روش مکان‌یابی فاصله‌ای ۹۹
جدول ۳-٦- نشانگرهای پیوسته با QTLهای کنترل کننده صفات مرتبط با عملکرد در روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب ۱۰۵

فهرست شکل‌ها

عنوان ..... **صفحه**

شکل ۱-۱- عکس ژل تنوع مربوط به ریزماهواره‌ای ۲۶ رقم برنج ۱۵
شکل ۱-۲-مراحل انجام AFLP ۲۰
شکل ۲-۱- نمونه‌ای از DNA استخراج شده جمعیت F_2 ..... ۵۷
شکل ۲-۲- چرخه حرارتی PCR مورد استفاده برای نشانگرهای ریزماهواره ۶۱
شکل ۲-۳- نمونه‌ای از باندهای مشاهده شده از افراد F_2 برای نشانگر ریزماهواره RM101 ..... ۶۲
شکل ۲-۴- برنامه دمایی دو رشته‌ای کردن سازگارسازها ۶۸
شکل ۲-۵- برنامه دمایی پیوند سازگارسازها ۷۰
شکل ۲-۶- برنامه دمایی مرحله پیش تکثیر ۷۱
شکل ۲-۷- نمایش نمونه DNA تکثیر شده تعدادی از افراد F_2 در مرحله پیش تکثیر، روی ژل آگارز ۷۲
شکل ۲-۸- برنامه دمایی مرحله تکثیر انتخابی ۷۳
شکل ۲-۹- قسمتی از تصویر ژل پلی آکریل‌امید واسرشته‌ساز مربوط به تکثیر انتخابی والدین ۸۲
شکل ۳-۱- توزیع فراوانی ارزش‌های فنوتیپی صفت ارتفاع بوته در نتاج F_2 ..... ۸۷
شکل ۳-۲- نقشه پیوستگی ۱۰۱ نشانگر SSR و AFLP در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی دمسیاه و لاین PR27137-CR153 ..... ۹۴
شکل ۳-۳- QTL شناسایی شده برای صفات مربوط به سرما به روش CIM در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی رقم دمسیاه و لاین PR27137-CR153 ..... ۱۰۶
شکل ۳-۴- QTL شناسایی شده برای صفات مربوط به سرما به روش IM در جمعیت F_2 حاصل از تلاقی رقم دمسیاه ولاین PR27137-CR153 ..... **۱۰۷**

چکیده

مکان‌یابی QTLهای کنترل کننده تحمل به سرما در گیاه برنج (*Oryza sativa L.*)

دینا کبریایی

در این تحقیق به منظور شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با تحمل به دماهای پائین در برنج، یک جمعیت F_2 متشکل از ۱۲۸ بوته، حاصل از تلاقی لاین PR27137-CR153 (مقاوم به سرما) و رقم دمسیاه (حساس به سرما) در سال ۱۳۸۹ در مزرعه‌ی تحقیقاتی موسسه‌ی تحقیقات برنج کشور کشت و مورد ارزیابی قرار گرفت. از بین نشانگرهای مورد استفاده، ۲۰ نشانگر SSR و ۷ جفت نشانگر AFLP چندشکلی خوبی در بین والدین داشتند. همچنین نتایج تجزیه‌ی پیوستگی نشان داد که نشانگرهای چند شکل را می توان به ۱۲ گروه پیوستگی منتسب نمود. ارتباط نشانگرها با صفات بر اساس روش‌های مکان‌یابی فاصله‌ای و مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب ارزیابی شد. در روش مکان‌یابی فاصله‌ای ۲۱ QTL روی ۷ کروموزوم شامل ۱، ۲، ۳، ٤، ۸، ۱۰ و۱۲ مکان‌یابی شد. همچنین با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب ۲۳ QTL برای صفات مورد نظر روی ٦ کروموزوم قرار گرفت. که برای صفت CINT (مقاومت به نکروزه شدن)، پنج QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۳ (QTL۲)، ۱۰ و ۱۲، برای صفت CIWT (مقاومت به پژمردگی) سه QTL روی کروموزوم‌های ۲، ۸ و ۱۲، و برای صفت CIYT (مقاومت به زرد شدن) سه QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۲ و ۸ و برای صفت CT (مقاومت به سرما) دو QTL روی کروموزوم های ۳ و۱۲ مکان‌یابی گردید، همچنین برای صفات میزان کلروفیل، سه QTL، روی کروموزوم‌های ۱، ۸ و ۱۰، برای صفت درصد جوانه‌زنی، دو QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۱۰، و برای سرعت جوانه‌زنی سه QTL روی کروموزوم‌های ۲ (دوQTL) و ۱۰ مکان یابی شد. بررسی اثرات فنوتیپی QTLها نشان داد که *CIWT12*، *CINT12*، *CIYT2*، *VP10*، *Ch10* با توجیه فنوتیپی ۳۲/۳۵، ۱۱/۱،۱٦/۷۳،۲۳/۲۳، ۱۱/۸ به عنوان QTL بزرگ اثر برای تحمل به سرما بوده و می توان از نشانگرهای پیوسته با آن‌ها در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

کلید واژه: سرما، مکان یابی ژن های کمی، برنج، نشانگرهای مولکولی

Abstract

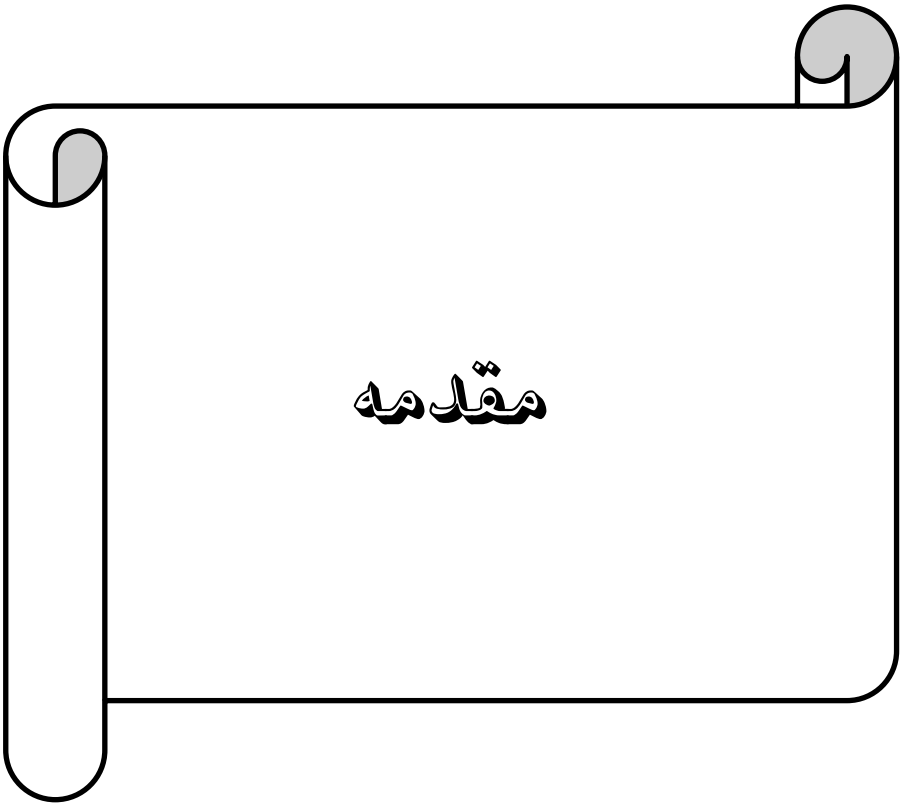
The identification of QTLs controlling cold tolerance in Rice (*Oryza Sativa* L.)

Dina Kebriyaee

In this study, QTLs controlling Cold tolerance, a F_2 population consisting 128 derived from the cross between two pure lines, Domsiah (Cold susceptible) and PR27137-CR153 line (Cold resistant), were cultivated and evaluated in Research field of Rice Research Institute in 2009.

Results showed that 20 SSR and 7 pairs AFLP markers, had adequate polymorphism between the parents. Also the results of linkage analysis showed that polymeric markers can be associated in 12 linkage groups. Using Interval mapping and Composite interval mapping for showing the assocation between markers and traits. Using the Interval mapping (IM) method 21 QTLs were mapped on seven chromosomes that were 1, 2, 3, 4, 8, 10 and 12 chromosomes. Composite Interval Mapping (CIM) method were mapped 23 QTLs for the studied traits on 6 chromosomes. Five QTLs were mapped for CINT (Cold induced necrosis tolerance) on chromosome 1, 3 (two QTLs), 10 and 12 , three QTLs for CIWT (Cold induced wilting tolerance) on chromosomes 2, 8 and 12, three QTL for CIYT (Cold induced yellowing tolerance) on chromosome 1, 2 and 8, two QTLs for CT (Cold tolerance) on chromosomes 3 and 12. Also three QTLs for chrophyl content were mapped on on chromosomes 1, 8 and 10 , two QTLs for seedling percent on chromosomes 1 and 10 and three QTLs for seedling speed on chromosomes 2 (two QTLs) and 10.The phenotypic evaluation showed that CIWT12 ، CINT12 ،CIYT2 ،VP10 ،Ch10 have 32.35, 23.23, 16.73, 11.1, 11.8 phenotipic variation and they are large effect QTL for cold tolerance and

Keywords: Cold, Quantitative trait loci, Rice, Molecular markers.


مقدمه

در تأمین مواد غذائی مورد نیاز بشر، نقش غلات بیش از سایر گیاهان است، به طوری که گندم و برنج جمعا حدود ٤٠ درصد از انرژی مصرفی انسان را تشکیل می‌دهند و در این راستا برنج پس از گندم مهمترین منبع غذائی انسان به شمار می‌رود [شرفی، ١٣٧٤].

برنج غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان به ویژه در قاره آسیا، آمریکای لاتین و آفریقا می باشد. اگرچه سطح زیر کشت برنج در دنیا کمتر از گندم است ولی میزان عملکرد برنج تقریبا برابر گندم می‌باشد. مهمترین مناطق کشت برنج در کشور، استان‌های گیلان و مازندران می‌باشد که جمعا حدود ۷۱ درصد از سطح زیر کشت و ٧٤ درصد از کل تولید محصول کشور را به خود اختصاص داده‌اند. با توجه به مشکل سرما در اوایل فصل در استان‌های شمالی کشور که برای ارقام مورد کشت وجود دارد، باعث می شود که هر سال زارعین برنجکار خسارت زیادی از بابت سرمای بهاره در خزانه متحمل شوند و گاهی مبادرت به تهیه خزانه و کشت مجدد می‌نمایند که این امر برای کل اراضی شمال کشور رقم قابل توجهی بوده و دقت خاصی را طلب می کند. از طرف دیگر کشت مجدد باعث تاخیر در زمان کشت شده و موجب می‌شود که طول دوره رسیدن طولانی شده و با مشکل بارندگی شدید و مداوم آخر فصل مواجه شده و خسارت زیادی را در این مرحله ببینند و همچنین کشاورز زمان کافی و مناسب برای کشت دوم خود را هم از دست بدهد. خسارت ناشی از تنش سرما در طی چندسال گذشته بواسطه اینکه در زمان بذرپاشی مواجه با افت شدید درجه حرارت در فروردین ماه شده بود بعنوان یک معضل برای کشت برنج تلقی می‌شود. همچنین در برخی از استان‌های کشور مانند کهگیلویه و بویر احمد ، چهارمحال و بختیاری ، اصفهان ، لرستان ، آذربایجان شرقی و غربی و برخی از مناطق کوهستانی شمال کشور که در ابتدای فصل کشت مواجه با کاهش دمای هوا و یا آبیاری با آب سرد می‌شوند نیز خساراتی را بوجود می‌آورد. در کشورمان گرچه مطالعاتی در جهت بررسی و مقایسه ارقام در مناطق سرد توسط محققین مختلف انجام گردیده و چند لاین و رقم نیز معرفی شده است ولی مطالعات جامعی بر روی ارقام ایرانی و متداول کشت در مراحل مختلف رشد انجام نشده است. استفاده از پوشش نایلونی برای مقابله با سرمای اوایل بهار بعنوان یک راهکار عملی موثر بوده است ولی تحت همین شرایط نیز برخی از ارقام تحمل نکرده و دربعضی مناطق مجبور به بذرپاشی مجدد شدند و این خسارت نه تنها به افت شدید حرارت هوا بوده بلکه مدت زمان کاهش درجه حرارت نیز به افزایش خسارت جوانه زنی بذر کمک نموده است. بنابراین با معرفی ارقام و لاین‌های متحمل به تنش سرما نه تنها موجب صرفه‌جوئی در اقتصاد خانواده‌ها می‌گردد بلکه از خسارت ناشی ازاین تنش نیز کاسته می‌شود [اله قلی پور، ١٣٨٥].

با رشد مداوم جمعیت در جهان، محدودیت‌های دسترسی به فراورده های غذایی بیشتر حس می شود. با توجه به روند رشدی فوق و با وجود نقش عمده‌ی علم ژنتیک و اصلاح گیاهان در افزایش فراورده های غذایی ،هنوز، تلاش های بیشتری برای غلبه بر شرایط نامساعد محیطی و افزایش کیفیت و کمیت محصولات زراعی ضروری می باشد. اخیرا اصلاح گران به پیشرفت‌های قابل ملاحظه ای درخصوص اصلاح عملکرد برنج دست یافته اند . بنابراین برای اصلاح در جهت بهبود در صفات بهتر است ابتدا ژن با مکان‌های ژنی کنترل کننده این صفات و با استفاده از نشانگرهای ملکولی تعیین گردد و پس از آنها در برنامه‌های اصلاحی کلاسیک بصورت انتخاب به کمک نشانگرهای ملکولی تعیین گردد و پس از آنها در برنامه‌های اصلاحی کلاسیک بصورت انتخاب به کمک نشانگرهای ملکولی جهت اصلاح ارقام با علملکرد بالا و کیفیت مطلوب استفاده گردد. که یکی از پیشرفت‌های اخیر در زمینه ی ژنتیک مولکولی ، فرایندهای مکان‌یابی ژن[1] و نشامند کردن ژن[2]می باشد.از مهمترین فرایندها، مکان یابی ژن ها می باشد که دارای پیچیدگی های خاص در صفات کیفی و کمی می باشد. البته روش فوق در صفات کمی پیچیده تر خواهد بود، در صورتی که ارزیابی‌های فنوتیپی در صفات فنوتیپی مشکل تر خواهد بود.

مکان یابی شامل مراحل زیر خواهد بود:

- مطالعه ی تفرق هم زمان خصوصیات نشانگر ژنتیکی و ارزش فنوتیپی افراد
- تجزیه هم زمان خصوصیات ژنتیکی و ارزش فنوتیپی
- شناسایی مکان یابی QTL ها

به نظر می رسد که از مهم ترین کاربردهای QTL، انتخاب به کمک نشانگر و همسانه سازی QTL می باشد . البته قابل توجه است که دارای کاربردهایی دیگر، مانند درک بیشتر ما از وضعیت ژنتیکی صفات پیچیده،آگاهی از ژنومیکس گیاهی و... می باشد [ربیعی و صبوری، ۱۳۸۷].

[1] - Quantitative Trait loci
[2] -Gene tagging

یکی از برنامه های به نژادی در برنج ایجاد مقاومت به تنش های محیطی مانند سرما است که می توان با بررسی صفات کیفی و با اعمال روش های مناسب، تعداد ژن ها ، جایگاه ژنومی و سهم هر یک از آن ها را در کنترل تنوع فنوتیپی صفات کیفی مشخص نمود [ربیعی و صبوری،۱۳۸۷].

در این تحقیق اهداف زیر مد نظر بوده است:

شناسایی نشانگرهای ریزماهواه پیوست با صفات کمی.

مکان یابی QTL های کنترل کننده صفات مورد مطالعه.

برآورد سهم هر یک از QTL های شناسایی شده در توصیف صفات مورد مطالعه

کلیات و مرور منابع

۱-۱-برنج

برنج زراعی که غذای نیمی از جمعیت جهان را تأمین می‌کند یکی از مهمترین گیاهان زراعی بوده که با تولیدی حدود ٦٦٠ میلیون تن در سال ۱۱٪ از کل اراضی جهان را به خود اختصاص داده است [FAOSTAT data, 2011]. در ایران برنج قسمت اعظم غذای مردم را تشکیل می‌دهد که استان‌های گیلان و مازندران بیشترین سطح زیر کشت را دارا هستند [اشراقی، ۱۳٦٦]. برنج پس از گندم، از مهم‌ترین غلات به شمار می‌رود. سطح زیر کشت برنج در دنیا کمتر از گندم است، اما مقدار تولید آن تقریباً برابر گندم می‌باشد و غذای اصلی بیش از نیمی از مردم کره زمین را تشکیل می‌دهد و در بخش عظیمی از قاره آسیا، بیش از ۸۰ درصد کالری و ۷۵ درصد پروتئین مصرفی مردم را تأمین می‌کند. بنا بر آمار سازمان خواربار جهانی در سال ۲۰۱۰ میزان تولید شلتوک در ایران معادل ۲۲۵۰۰۰۰ تن بوده است که از سطح ۵۳۵۰۰۰ هزار هکتار شالیزار به‌دست آمده است [FAOSTAT data, 2011]. برنج دارای یکی از بزرگترین کلکسیون‌های ژرم پلاسم زراعی و وحشی در جهان است که این تنوع سهم بزرگی در اصلاح آن داشته است و بیش از۲۱٪ از انرژی مورد نیاز مردم جهان و ۷٦ درصد از انرژی مورد نیاز مردم جنوب شرقی آسیا را تأمین می کند. در اسناد و مدارک موجود از زمان باستان دلالت بر این دارند که برنج حداقل از یک قرن قبل از میلاد مسیح در ایران کشت می‌شده است. امروزه ایران تولید کننده‌ی متوسط برنج است به طوریکه در سال ۲۰۰۳ از مزارع و شالیزارهای غرقاب با مساحتی بالغ بر ٥٦۰۰۰۰ هکتار، ۳/۳ میلیون تن برنج برداشت شد. در ایران به ویژه در استان‌های شمالی برنج غذای اصلی مردم است و نقش بسیار تعیین کننده ای در اقتصاد شمال و برخی از استان‌های دیگر دارد [نوربخشیان، ۱۳۷٦]. به‌علاوه، برنامه‌های به‌نژادی بسیار مهمی در نواحی مختلف جهان برای برنج انجام شده است و هم اکنون سه گروه عمده بین المللی در جهان تحقیقات در زمینه‌های مختلف برنج را انجام می‌دهند [کارِنا، ۲۰۰۹]:

۱. موسسه تحقیقات بین المللی برنج (IRRI)[1]. این مرکز فعالیت جهانی خود را در لس بانوس فیلیپین انجام می‌دهد.

۲. کانون گسترش برنج غرب آفریقا (WARDA)[2]. این کانون در غرب آفریقا فعالیت دارد.

[1]-Internationl Rice Research Institute
[2]-West Africa Development Assocation

۳. مرکز بین‌المللی کشاورزی مناطق حاره (CIAT)[1]. حوزه فعالیت این مرکز در آمریکای لاتین می‌باشد.

علاوه بر این مراکز تحقیقاتی بین المللی، بسیاری از کشورهای با تولید عمده برنج در دنیا نظیر چین، ژاپن، هندوستان، اندونزی و پاکستان نیز واجد مرکز ملی تحقیقات برنج می¬باشند که هدایت برنامه‌های پژوهشی بسیار زیادی را روی برنج به عهده داشته و نیز فعالیت‌های زیادی دارند. در ایران نیز موسسه تحقیقات برنج کشور هدایت، پروژه‌های تحقیقاتی برنج در سطح ملی را به عهده دارد.

۱-۲-خصوصیات گیاه شناسی برنج

برنج زراعی (*Orayza sativa L.*) گیاهی است از تیره غلات، دیپلوئید، یکساله و تک لپه و خود گشن که غذای بیش از یک سوم جمعیت جهان می باشد [زوبا[2]،۱۹۹٤]. برنج گیاهی است نیمه آبزی و تا زمان رسیدن حدود ۲۰-۸ هزار متر مکعب در هکتار آب احتیاج دارد [علوی،۱۳۸۷]. این گیاه به عنوان یکی از غذاهای اصلی مردم در ایران به شمار می رود. زراعت برنج تا ارتفاع ۲۵۰۰ متر از سطح دریا به ویژه در نواحی حاره و نیمه حاره متمرکز است و نیاز حرارتی آن (٤۰۰۰ درجه در طول دوره رشد) از دیگر غلات بیشتر است [هال[3] ، ۱۹۹۲].

برنج گیاهی است گرمادوست و مخصوص نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری است که در درجه حرارت بین ۳۵-۲۰ درجه سانتی گراد رشد مطلوبی دارد و معمولا به درجه حرارت کمتر از (۱۵ درجه سانتی گراد) حساس می باشد [اشراقی،۱۳٦٦]. برنج ار دسته گیاهانی است که جنس ها و گونه های متنوعی دارد. مهمترین جنس آن Oryza و گونه زراعی مهم آن Sativaمی‌با شد. مطالعات گسترده ژنتیکی و سیتولوژیکی در برنج انجام گرفته است. مطالعات قدیمی عموماً در رابطه با صفات ریخت‌شناختی بود. اما بعدها مطالعات توارثی بیشتر در ربطه با صفات مهم زراعی (از قبیل ارتفاع گیاه، حساسیت به طول روز، بلوغ، عملکرد، مقاومت به بیماری و حشرات و اجزای کیفیت) مرتبط می‌گردد، مد نظر قرار گرفتند [هیرانو[4] و همکاران، ۲۰۰۸].

[1] -International Center for Tropical Agriculture
[2] -Czuba
[3] - Hall
[4] -Hirano

بیشتر این صفات که به عنوان صفات کمی نامیده می‌شوند توسط پلی‌ژن‌ها کنترل می‌شوند که معمولا دارای تأثیرات اندک بوده و تنها تعداد کمتری از آن‌ها تأثیرات بزرگی دارند. این مکان‌های ژنی اصطلاحاً QTL[1] نامیده می شوند.

۱-۳-نشانگرهای ژنتیکی

در دوره قبل از دهه ۱۹۸۰ مطالعه صفات کمی شامل تکنیک‌های آماری مبتنی بر میانگین‌ها، واریانس‌ها و کوواریانس-های افراد خویشاوند بود ولی از سال ۱۹۸۰ یک پیشرفت غیر منتظره بزرگ در تجزیه خصوصیت صفات کمی (که فرصت طلایی را جهت انتخاب QTLها ایجاد نمود) توسط نشانگرهای مولکولی آغاز گردید [ربیعی و صبوری، ۱۳۸۷]. این نشانگرها تقریباً نزدیک به ژن‌ها قرار دارند. نشانگرها در نزدیکی ژن‌های کنترل‌کننده صفت قرار دارند و یا به آنها پیوسته هستند. تمامی نشانگرهای ژنتیکی همچون ژن‌ها نواحی ژنومی خاص را در کروموزوم اشغال کرده‌اند. عمده‌ترین استفاده از نشانگرهای مولکولی در تحقیقات کشاورزی، ایجاد نقشه‌های پیوستگی است. نقشه‌های پیوستگی جهت تعیین نواحی کروموزومی که حاوی ژن‌های کنترل کننده صفات ساده (که توسط یک ژن کنترل می‌شود) و صفات کمی (که با استفاده از تجزیه QTL شناسایی میشوند) ایجاد می شوند. فرایند ایجاد نقشه‌های پیوستگی و انجام تجزیه QTL (جهت تعیین نواحی مرتبط با صفت) به‌عنوان مکان‌یابی QTL شناخته می‌شود [لورز و ویدهولم[2] ، ۲۰۰۵]. نشانگرها جهت تقسیم‌بندی جمعیت نقشه‌یابی به گروه‌های مختلف ژنوتیپی به‌کار می‌روند که این امر مبتنی بر حضور و یا عدم حضور مکان ژنی نشانگر خاص می‌باشد و موجب تخمین تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌های مرتبط با صفت مورد نظر می‌شوند. تفاوت‌های حاصله، بیانگر این حقیقت است که مکان ژنی نشانگر مورد استفاده، با QTL کنترل‌کننده صفت، مرتبط می‌باشد. هر چه این نشانگر به QTL مذکور نزدیک‌تر باشد شانس کمتری جهت وقوع نوترکیبی بین نشانگر و QTL وجود دارد. یک QTL پیوسته و نشانگرهای مجاور، اغلب با یکدیگر در نتاج به ارث میرسند [وو و همکاران[3] ، ۲۰۰۷].

[1] -Quantitative Trait Loci
[2]- Lorz and widholm
[3]- wu et al

۱-٤-انواع نشانگرهای ژنتیکی

با وجود اینکه بهره مندی از علم ژنتیک و اصلاح نباتات بیشترین نقش را در افزایش محصول و تولید فراورده‌های غذایی به عهده داشته است، به دلیل رشد روز افزون جمعیت، تلاش بیشتری برای چیرگی بر شرایط نامساعد محیطی، اعم از عوامل زیستی و غیر زیستی و افزایش کیفیت محصول لازم است. کاربرد نشانگرهای ژنتیکی به ده ها سال پیش از کشف DNA به عنوان ماده‌ی ژنتیک، مربوط می‌شود. نشانگرهای مولکولی فراوان و در هر موجود زنده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند. اگرچه پتانسیل نشانگرهای مولکولی برای اصلاح کنندگان از حدود ۷۵ سال پیش شناخته شده بود، ولی کاربرد آن-ها تا حدود ۳۰ سال پیش به دلیل نبود نشانگرهای DNA موجب به‌کارگیری روش‌های بسیاری برای غلبه بر مشکلات اصلاحی و ژنتیکی موجودات شده است. هریک از خصوصیات موجودات زنده که بتوان از آن به عنوان یک نشانه و مدرک برای بررسی شباهت‌ها و تفاوت‌های موجود بین ارقام، گونه‌ها، جنس‌ها و ... استفاده نمود، نشانگر ژنتیکی گفته می‌شود. نشانگرهای DNA دسته بزرگی از نشانگرها را شامل می‌شود و خود به دو دسته اصلی نشانگرهای مبتنی بر واکنش زنجیرهای پلی‌مراز (PCR)[۱] و نشانگرهای غیر مبتنی بر PCR تقسیم می‌شود. از جمله نشانگرهای غیر مبتنی بر PCR می‌توان به تفاوت طول قطعات حاصل از برش (RFLP)[۲] اشاره نمود که بوتستین و همکارانش(۱۹۸۰) برای مطالعه‌ی مستقیم DNA پیشنهاد معرفی گردید. همچنین نشانگر چندشکلی حاصل از تکثیر تصادفی DNA (RAPD)[۳]، تفاوت طول قطعات قابل تکثیر(AFLP)[٤] ، توالی‌های تکراری ساده (SSR)[٥] ، تفاوت شکل فضاییرشته‌های منفرد (SSCP)[٦] جزء نشانگرهای مبتنی بر PCR می‌باشند [نقوی، ۱۳۸۸]. استفاده از نشانگرهای DNA در اصلاح گیاهان زراعی و حیوانات قلمرو جدیدی را در کشاورزی گشوده که اصطلاحاً اصلاح مولکولی نامیده می‌شود.

[1]- Polymerase Chain Reaction
[2]- Restriction Fragment length polymorphisms.
[3] -Random Amplified polymorphic DNA.
[4] -Amplified Fragment length polymorphisms.
[5]- Simple Sequence length polymorphisms.
[6]-Simple Sequence Complete Polymorphisms.