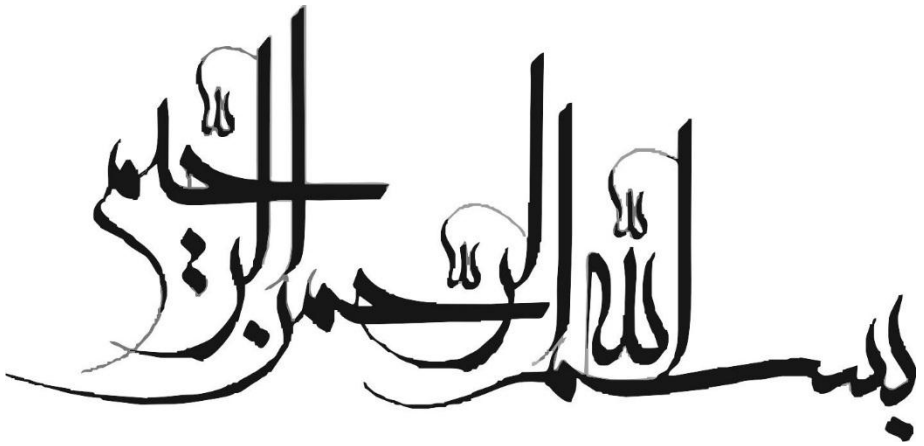

پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان

دانشکده علوم زراعی - گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M. Sc)

رشته مهندسی کشاورزی – گرایش اصلاح نباتات

موضوع

گزینش فنوتیپی و مولکولی ژن(های) اعاده کننده باروری در جمعیت‌های در حال تفکیک برنج

اساتید راهنما

دکتر غفار کیانی

دکتر قربانعلی نعمت‌زاده

پژوهشگر

مصطفی عیدی‌کهنکی

مهرماه ۱۳۹۲

پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری
کشاورزی طبرستان

تمام هزینه‌های این پایان‌نامه توسط

پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان

تأمین و پرداخت گردید.

پروردگارا

به من آرامشی ده

تا بپذیرم آنچه را که نمی توانم تغییر دهم

نیرویی ده

تا تغییر دهم آنچه را که می توانم تغییر دهم

وبینشی ده

تا تفاوت بین این دو را بدانم

مرا فهم ده

تا متوقع نباشم دنیا و مردم آن مطابق میل من رفتار کنند.

تقدیم به:

ساحت مقدس و آسمانی بزرگ منجی عالم بشریت

مهدی موعود (عج الله تعالی فرجه الشریف)

و به دو بال پرواز م پدر و مادر مهربانم

آنان که دعاهایشان بزرگترین سرمایه ام در مسیر زندگی است

در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می نهم و با دلی مملو از عشق، محبت و خضوع بر دستان پر مهرشان بوسه می زنم.

سپاسگزاری

همتم بدرقه راه کن ای طائر قدس که دراز است ره مقصد و من نوسفرم

شکر و سپاس، که هر چه طلب کردم از خدای ، بر منتهای همت خود کامروا شدم. اکنون که به یاری خدای متعال کار نگارش این رساله به پایان رسیده است، بر خود لازم می‌دانم از زحمات کلیه عزیزانی که در مراحل مختلف انجام این پروژه، بنده را یاری نمودند کمال سپاس و تشکر خود را ابراز داشته و از این همه منت که بر این حقیر روا داشته‌اند صمیمانه قدردانی نمایم.

اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می‌کند و سلامت امانت‌هایی را که به دستش سپرده‌اند تضمین؛ بر حسب وظیفه و از باب "من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر الله عزوجل" بر خود فرض می‌دانم که صمیمانه ترین تقدیرات خود را نثار استاد فرزانه و بزرگوارم جناب آقای دکتر نعمت‌زاده ریاست محترم پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان نمایم که همواره اینجانب را خالصانه از گنجینه علوم و معرفت خویش بهره‌مند فرمودند. همچنین از زحمات بیدریغ استاد گرامی جناب آقای دکتر غفار کیانی که قدم به قدم در روند پیشرفت این پایان نامه راهنمای بنده بودند کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم.

جای آن دارد از اعضای محترم هیأت علمی گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری که در محضرشان کسب علم نمودم تشکر گردد. از جناب آقایان دکتر نجفی و دکتر کاظمی‌تبار که زحمت مطالعه و تصحیح رساله اینجانب را بر عهده داشتند، کمال قدردانی را دارم در پایان از تمامی دوستانم که طی اجرای این پایان‌نامه از هیچ کوششی دریغ نورزیدند صمیمانه تشکر می‌کنم و بهترین‌ها را از درگاه ایزد منان برایشان مسئلت می نمایم.

مصطفی عیدی کهنکی

مهرماه ۱۳۹۲

چکیده

استفاده از سیستم نرعقیمی ژنتیکی- سیتوپلاسمی به منظور بهره‌برداری از پدیده هتروزیس در محصولات زراعی تنها وقتی امکان‌پذیر است که لاین‌های اعاده‌کننده باروری مطلوب موجود باشند. محدودیت ارقام مناسب اعاده‌کننده باروری، تعداد کم لاین‌های موثر و سازگار و پایه محدود ژنتیکی آن‌ها، همواره یکی از مشکلات اساسی تولید برنج هیبرید بوده است. این مطالعه با هدف شناسایی و گزینش بوته‌های دارای ژن‌های اعاده‌کننده باروری در جمعیت‌های در حال تفکیک برنج و استفاده از انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی به منظور شناسایی ژنوتیپ های دارای ژن‌های مذکور می‌باشد. براین اساس انجام آزمون باروری دانه گرده و خوشه، همراه با بررسی‌های مولکولی جهت شناخت لاین‌های اعاده‌کننده باروری در دو جمعیت حاصل از تلاقی متقارب (نعمت×پژوهش //IR58110 × پژوهش) و (نعمت×پژوهش// IR60819 × پژوهش) و دو جمعیت حاصل از (IR60819×پژوهش و IR58110×پژوهش) طی دو سال متوالی نشان داد که لاین‌های R7، R9، R45، R5 و R28 با انجام آزمون‌های باروری دانه گرده و خوشه دارای وضعیت مطلوبی بودند. با بررسی‌های مولکولی انجام شده بر روی لاین‌ها و ژنوتیپ‌های گزینش شده چهار نشانگر بکار رفته در این تحقیق شامل RM171، RM3148، RM1 وRM258 الگوی باندی مناسبی را ارائه نمودند به طوری که لاین‌های R3، R7، R9، R25، R29، R45، R5، R28 و R27 حداقل برای دو نشانگر الگوی باندی، مشابه شاهد اعاده‌کننده باروری یا IR50 را نشان دادند لذا با تلفیق نتایج حاصل از آزمون‌های باروری گرده و باروری خوشه و همچنین بررسی‌های مولکولی با نشانگرهای بکار برده شده لاین‌های R5، R7، R9، R29 و R45 به عنوان لاین‌های دارای پتانسیل مناسب جهت اعاده-کردن باروری شناسایی شدند که با بررسی‌های بیشتر در نسل‌های آینده می‌توانند به عنوان لاین‌های مطلوب اعاده‌کننده باروری در تولید بذر هیبرید مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات‌کلیدی: برنج، فنوتیپ، ژن(های) اعاده کننده باروری، نشانگر مولکولی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه..... ۱

فصل دوم: کلیّات و بررسی منابع

۲-۱- وضعیت ژنتیکی برنج..... ٤

۲-۲- روش‌های اصلاح برنج..... ٥

۲-۲-۱- وارد کردن مواد ژنتیکی..... ٥

۲-۲-۲- گزینش..... ٦

۲-۲-۳- دورگ‌گیری..... ٦

۲-۳- نر عقیمی در برنج..... ۷

۲-۳-۱- نرعقیمی ژنتیکی..... ۸

۲-۳-۱-۱- کاربرد نرعقیمی ژنتیکی در اصلاح‌نباتات..... ۹

۲-۳-۲- نرعقیمی سیتوپلاسمی..... ۹

۲-۳-۲-۱- طبقه بندی نرعقیمی سیتوپلاسمی در برنج..... ۱۱

۲-۳-۲-۱-۱- CMS-WA..... ۱۱

۲-۳-۲-۱-۲- CMS-HL..... ۱۳

۲-۳-۲-۱-۳- CMS-BT..... ۱۳

۲-۳-۳- نرعقیمی ژنتیکی-سیتوپلاسمی..... ۱۵

۲-٤- برنج هیبرید و هتروزیس..... ۱۵

۲-٤-۱- برنج هیبرید و اهمیت آن..... ۱۵

۲-٤-۲- تولید برنج هیبرید..... ۱٦
۲-٤-۳- هتروزیس و مفهوم آن..... ۱۷
۲-٤-٤- روش‌های استفاده از هتروزیس به منظور تولید برنج هیبرید..... ۱۹
۲-٤-٤-۱- سیستم سه لاینی..... ۱۹
۲-٤-٤-۱-۱- لاین نرعقیم (A لاین)..... ۲۰
۲-٤-٤-۱-۲- لاین نگهدارنده (B لاین)..... ۲۰
۲-٤-٤-۱-۳- لاین بازگرداننده باروری (R لاین)..... ۲۰
۲-٤-٤-۲- سیستم دولاینی..... ۲۱
۲-٤-٤-۲-۱- مزایا و معایب سیستم دولاینی..... ۲۱
۲-٤-٤-۳- روش شیمیایی..... ۲۲
۲-٤-٤-٤- روش تک لاین..... ۲۲
۲-٤-٥- مشکلات تولید بذر هیبرید..... ۲۳
۲-٤-٦- زمان‌های مختلف بذر پاشی برای تولید بذر هیبرید..... ۲٤
۲-٥- شناسایی لاین‌های اعاده کننده باروری و فرآوانی آن‌ها..... ۲٤
۲-٦- کنترل ژنتیکی اعاده‌کردن باروری..... ۲٥
۲-۷- نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی..... ۲۷
۲-۷-۱- نشانگرهای ریز ماهواره..... ۲۷
۲-۷-۲- تشخیص آلل‌های ریزماهواره..... ۲۹
۲-۷-۳- مزایای ریز ماهواره..... ۳۰
۲-۷-٤- کاربردهای ریز ماهواره..... ۳۰
۲-۸- نقشه‌یابی ژن‌های اعاده‌کننده باروری..... ۳۱

فصل سوّم: مواد و روش‌ها

۳-۱- مکان و زمان اجرای آزمایش..... ۳٤

۳-۲- مواد گیاهی در سال اول..... ۳٤

۳-۲-۱ جمعیت ۱ و ۲..... ۳٤

۳-۲-۲ جمعیت ۳ و ٤..... ۳۵

۳-۳-دورگ‌گیری..... ۳۷

۳-۳-۱- انتخاب بوته از لاین‌های CMS به عنوان پایه مادری..... ۳۷

۳-۳-۲- آزمون عقیمی و باروری دانه گرده لاین‌های CMS..... ۳۷

۳-۳-۳- انواع دانه گرده عقیم..... ۳۷

۳-۳-۳-۱- دانه گرده عقیم معمولی..... ۳۸

۳-۳-۳-۲- دانه‌های گرده عقیم کروی..... ۳۸

۳-۳-۳-۳- دانه‌های گرده عقیم رنگ‌پذیر..... ۳۸

۳-۳-٤- آماده کردن لاین‌های CMS جهت تلاقی..... ۳۹

۳-۳-۵- انتخاب خوشه از لاین‌های پدری جهت تلاقی..... ٤۰

۳-۳-٦- تلاقی‌های بین ارقام یا لاین‌های پدری با لاین‌های CMS..... ٤۰

۳-٤- مواد گیاهی در سال دوم..... ٤۱

۳-۵- آزمون های باروری در سال دوم آزمایش..... ٤۱

۳-۵-۱- آزمون باروری دانه گرده نتاج هیبرید F_1..... ٤۱

۳-۵-۲- آزمون باروری خوشه نتاج هیبرید در مزرعه..... ٤۱

۳-٦- جوامع مورد بررسی در سال دوم..... ٤۲

۳-۷- انجام دورگ‌گیری در سال دوم..... ٤۲

۳-۸- صفات مورد بررسی در این تحقیق..... ٤٢

۳-۹- استفاده از نشانگرهای مولکولی به منظور شناسائی لاین‌های اعاده‌کننده باروری..... ٤٣

۳-۹-۱- تهیه نمونه‌های برگی..... ٤٣

۳-۹-۲- استخراج DNA از گیاهان عالی..... ٤٣

۳-۹-۳- استخراج DNA به روش تغییریافته دلاپورتا..... ٤٤

۳-۹-٤- بررسی کمیت و کیفیتDNA استخراج شده..... ٤٧

۳-۹-٤-۱- تعیین غلظت DNA با استفاده از اسپکتروسکوپی ماورای بنفش..... ٤٧

۳-۹-٤-۲- روش الکتروفورز ژل آگارز..... ٤٨

۳-۹-۵- یکسان نمودن غلظت DNA استخراج شده..... ٥٠

۳-۹-٦- انجام واکنش PCR..... ٥١

۳-۹-۷- شرایط الکتروفورز ژل آگارز..... ٥٣

۳-۹-۸- بارگذاری نمونه‌ها و اجرای الکتروفورز..... ٥٣

۳-۹-۹- نشانگرهای SSR..... ٥٤

فصل چهارم: نتایج و بحث

٤-۱- نتایج و بحث..... ٥٦

٤-۱-۱- مطالعه روابط صفات در جمعیت‌های ۱ و ۲..... ٥٦

٤-۱-۲- مطالعه روابط صفات در جمعیت‌های ۳ و ٤..... ٥٩

٤-۲- بررسی ژنوم هسته‌ای لاین‌های انتخابی در سال اول..... ٦٣

٤-۲-۱- شناسایی لاین‌های اعاده‌کننده باروری (R لاین)..... ٦٥

٤-۳-ارزیابی ژنوتیپی..... ٦٦

٤-۳-۱- ارزیابی مولکولی لاین‌های انتخابی با استفاده از نشانگر RM171..... ٦٦

٤-٣-٢- ارزیابی مولکولی لاین‌های انتخابی با استفاده از نشانگر RM3148 ٦٧

٤-٣-٣- ارزیابی مولکولی لاین‌های انتخابی با استفاده از نشانگر RM1 ٦٨

٤-٣-٤- ارزیابی مولکولی لاین‌های مورد مطالعه با استفاده از نشانگر RM258 ٧٠

٤-٤- نتیجه گیری کلی ٧١

٥-٤- پیشنهادات ٧٢

فصل پنجم: منابع و ضمائم

٥-١ منابع ٧٤

٥-٢ ضمائم ٨٠

٥-٢-١ طرز تهیه محلول ١٪ یدید یدور پتاسیم(I2-KI) ٨٠

٥-٢-٢ بافر استخراج ٨٠

٥-٢-٣ کلرید سدیم ٥ مولار ٨٠

٥-٢-٤ سدیم دودسیل سولفات ١٠ درصد (SDS) ٨٠

٥-٢-٥ نحوه ساخت بافر TE ٨١

٥-٢-٦ روش تهیه TBE (10x) ٨١

٥-٢-٧ تهیه ژل آگارز ١/٥ درصد ٨١

فهرست جدول‌ها

عنوان صفحه

جدول ۱-۲ خصوصیات سه نوع نرعقیم سیتوپلاسمی در برنج..... ۱۱

جدول ۱-۳ مواد مورد نیاز و مقادیر هر کدام از آن‌ها برای تهیه محلول مادری..... ۵۱

جدول ۲-۳ برنامه حرارتی نشانگرهای SSR در PCR..... ۵۲

جدول ۳-۳ آغازگرهای SSR مورد استفاده در واکنش زنجیرهای پلیمراز..... ۵٤

جدول ۱-٤ آماره‌های توصیفی صفات اندازه‌گیری شده در ٦۰ ژنوتیپ..... ۵۷

جدول ۲-٤ ضرایب همبستگی ساده اندازه‌گیری شده بین صفات در جمعیت‌های ۱ و ۲..... ۵۸

جدول ۳-٤ اثرات مستقیم (روی قطر) و غیر مستقیم برخی صفات اندازه گیری شده..... ۵۹

جدول ٤-٤ آماره‌های توصیفی ۵۳ ژنوتیپ انتخابی در جمعیت‌های ۳ و ٤..... ٦۰

جدول ۵-٤ مقادیر ویژه و واریانس تجمعی برای مولفه‌های اصلی در جمعیت‌های ۳ و ٤..... ٦۰

جدول ٦-٤ فهرست تلاقی‌های انجام شده و درصد دانه‌بندی پس از دورگ‌گیری..... ٦۳

جدول ۷-٤ بررسی هیبریدهای F_1 از نظر باروری دانه گرده و خوشه..... ٦٤

جدول ۸-٤ نتایج حاصل از کاربرد نشانگرهای مولکولی بر روی لاین‌های مورد مطالعه..... ۷۱

جدول ۹-٤ مشخصات زراعی لاین‌های اعاده کننده باروری..... ۷۲

جدول۱-۵ مقایسه حرکت رنگ نشانه و نشانگر DNA روی ژل آگارز..... ۸۲

فهرست شکل‌ها

عنوان صفحه

شکل ۱–۲ حالت‌های عقیمی دانه گرده مربوط به سه نوع مهم نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS)..... ۱۲

شکل ۱–۳ شمای اصلاحی جمعیت‌های ۱و۲ برای اصلاح وتولید لاین‌های جدید اعاده‌کننده باروری..... ۳۵

شکل ۲–۳ شمای اصلاحی جمعیت‌های ۳ و ٤ برای اصلاح وتولید لاین‌های جدید اعاده‌کننده باروری..... ۳٦

شکل ۳–۳ طبقه‌بندی دانه‌های گرده براساس شکل دانه و رنگ‌پذیری آن‌ها با یدید یدور پتاسیم..... ۳۸

شکل ٤–۳ اخته کردن گلچه‌های پایه مادری جهت فرآیند دورگ‌گیری..... ۳۹

شکل ۵–۳ اتیکت گذاری روی بوته‌های تلاقی داده شده..... ٤۰

شکل ٦–۳ اضافه کردن استات پتاسیم ۵ مولار به نمونه ها..... ٤۵

شکل ۷–۳ مراحل استخراج DNA ژنومی با روش دلاپورتا و همکاران..... ٤٦

شکل ۸–۳ تعیین کمیّت وکیفیّت DNA ژنومی به روش الکتروفورز ژل آگارز..... ٤۹

شکل ۹–۳ یکسان سازی غلظت DNA استخراج شده از نمونه ها..... ۵۰

شکل ۱–٤ دندروگرام مربوط به کلاستربندی صفات کمی در جمعیت‌های ۳ و ٤..... ٦۲

شکل ۲–٤ الگوی باندی حاصل از PCR با نشانگر RM171 روی ژل آگارز ۲ درصد..... ٦۷

شکل ۳–٤ پروفایل ژل قطعات DNA تکثیر یافته با نشانگر RM3148 روی ژل آگارز ۲ درصد..... ٦۸

شکل ٤–٤ پروفایل ژل قطعات DNA تکثیر یافته با نشانگر RM1 روی ژل آگارز ۲ درصد..... ٦۹

شکل ۵–٤ پروفایل ژل قطعات DNA تکثیر یافته با نشانگر RM258 روی ژل آگارز ۲ درصد..... ۷۰

فصل اول
مقدمه

۱-۱ مقدمه

برنج (*Oryza sativa*. L) دومین غله مهم دنیاست و از لحاظ تولید دانه بعد از گندم رتبه دوم را به خود اختصاص داده است. تقریباً تمامی برنج تولید شده به مصرف غذایی انسان می‌رسد و غذای اصلی بیش از یک سوم مردم جهان محسوب می‌شود. برخلاف گندم که محصول فصل سرد بوده و به عنوان گیاهی زمستانه، تولید آن در مناطق آب و هوای معتدل و نیمه‌گرمسیری صورت می‌گیرد، برنج محصول فصل گرم بوده و عمدتاً در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری دنیا کشت می‌شود (ارزانی، ۱۳۸۳). این غله از محصولات اصلی تأمین کننده کالری مورد نیاز مردم جهان است و از منابع غذایی اصلی مردم ایران به شمار می‌رود. با توجه به افزایش روز افزون جمعیت و همچنین تغییر در عادت‌های رژیم غذایی و میل به مصرف برنج در دنیا افزایش تولید برنج امری ضروری به نظر می‌رسد. بر اساس برآورد سازمان خواربار جهانی، مقدار تولید برنج تا سال ۲۰۲۰ باید به مرز ۸۰۰ میلیون تن برسد تا جوابگوی جمعیت جهان باشد؛ یعنی ۳۵۰ میلیون تن بیشتر از میزان تولید فعلی جهان، که این میزان تولید باید در زمین کمتر، با کارگر کمتر و مواد اگروشیمیائی کمتر (برای حفظ تعادل و پایداری تولید) به دست آید. در ٦ دهه گذشته عملکرد برنج به طور چشمگیری افزایش یافته است چرا که تولید ارقام نیمه پاکوتاه در دهه ۱۹٦۰ باعث شد که به علت سازگاری بالای آن‌ها، عملکرد برنج به صورت قابل توجهی افزایش یابد. اما، این افزایش عملکرد با جمعیت رو به رشد جهان منطبق نبود، لذا محققین به دنبال راهی جهت افزایش بیشتر عملکرد بودند و در نهایت بهره‌برداری از هتروزیس[1] را به عنوان بهترین راه برای افزایش بیشتر عملکرد و تأمین نیاز جمعیت رو به رشد جهان پیشنهاد کردند. به همین جهت تلاش‌ها برای بهره‌برداری از هتروزیس آغاز شد تا اینکه دانشمندان چینی توانستند با تولید تجاری برنج هیبرید[2] افزایش چشمگیری در عملکرد برنج ایجاد کنند. هم اکنون سیستم تولید برنج هیبرید در بسیاری از مناطق جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد.

[1] Heterosis
[2] Hybrid rice

توسعه هیبرید در محصولات زراعی با استفاده از سیستم نرعقیمی[1] تنها وقتی امکان‌پذیر است که لاین‌های مطلوب اعاده‌کننده باروری[2] تشخیص داده شوند و باروری دانه گرده یا خوشه و یا هر دوی آن‌ها نیز به عنوان شاخصی برای ثبت بوته‌های اعاده‌کننده باروری مورد استفاده قرار گیرد (Umadi, 2012). از طرفی محدودیت ارقام مناسب اعاده‌کننده باروری، تعداد کم لاین‌های موثر وسازگار و پایه محدود ژنتیکی آن‌ها، همواره یکی از مشکلات اساسی تولید برنج هیبرید بوده است با وجود این مسائل در سال‌های اخیر با پیشرفت روش‌های نوین اصلاحی اقدامات قابل توجهی در زمینه اصلاح و معرفی لاین‌های جدید اعاده‌کننده باروری انجام گرفته است. در همین زمینه می‌توان به پیشرفت فن‌آوری‌های جدیدی مانند نشانگرهای مولکولی و انتخاب به کمک آن‌ها در اصلاح‌نباتات اشاره کرد که رویکردهای نوینی را فراهم ساخته که توسط آن دانشمندان را قادر می‌سازد تا به بررسی و مطالعه واریته‌های هیبرید برنج با پتانسیل عملکرد بالا، بهبود کیفیت دانه، و مقاومت چندجانبه علیه استرس‌های بیولوژیکی و محیطی بپردازند.

هدف از اجرای این پژوهش شناسایی و گزینش بوته‌های دارای ژن‌های اعاده‌کننده باروری در جمعیت‌های درحال تفکیک و استفاده از انتخاب به کمک نشانگرهای مولکولی[3] (MAS) به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های دارای ژن‌های مذکور می‌باشد همچنین ارزیابی باروری نتاج حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های انتخابی با CMS[4] لاین‌ها از دیگر برنامه‌های پیش‌بینی شده در راستای اجرای این تحقیق می‌باشد.

[1] Male sterility
[2] Fertility restorer
[3] Marker Assisted Selection
[4] Cytoplasmic male sterility

فصل دوم
کلیات و مرور منابع

۲-۱ وضعیت ژنتیکی برنج :

در سال‌های اخیر مطالعات گسترده ژنتیکی و سیتولوژیکی[1] در گیاه برنج به انجام رسیده در حالی که مطالعه توارث صفات کمی[2]، در این گیاه، نیازمند انجام تحقیقات بیشتری می‌باشد. امروزه از این گیاه به عنوان یک سیستم مدل برای آنالیز ژنتیکی و کاربردهای بیوتکنولوژی به منظور توسعه و پیشرفت تک‌لپه‌ای‌ها[3] استفاده می‌شود. عواملی که چنین شرایطی را فراهم می‌آورند شامل کوچک بودن اندازه ژنوم برنج که تنها شامل ٤٣٠ بیلیون باز است و مقایسه ژنوم آن در مقایسه با بقیه گندمیان و راحتی تغییر شکل آن است (ارزانی، ۱۳۸۳). از همین رو به دلیل کوچکی اندازه ژنوم، مطالعات ژنتیکی بسیاری روی آن انجام گرفته است.

جنس Oryza دارای بیست گونه با تعداد کروموزوم‌های گامتی ۱۲ (n=12) است. این جنس دارای گونه‌های دیپلوئید با شش گروه ژنومی A، B، C، D، E، و F می‌باشد. گونه برنج زراعی اوریزا ساتیوا دارای ٢٤ کروموزوم (2n=24) و فرمول ژنومی آن AA می‌باشد. گونه‌های تتراپلوئید آن با ٤٨ کروموزوم نیز موجود است (ارزانی، ۱۳۸۳).

برنج معمولی از لحاظ ژنتیکی و سیتولوژیکی بیشتر شبیه گونه‌های دیپلوئید است. ولی اطلاعات ژنتیکی و سیتولوژیکی نشان می‌دهد که این گونه در اصل پلی‌پلوئید بوده و شماره کروموزومی پایه آن ۵ می‌باشد (n=5). چنین فرض شده است که گونه‌ای با n=5 کروموزوم (A، B، C، D، E) با گونه دیگری که n=5 کروموزوم داشته باشد ترکیب شده، آمفی‌پلوئید حاصل بر اثر اختلالاتی که در میوز آن انجام گرفته، گیاهی با ۱۲ کروموزوم تولید کرده است(۵ کروموزوم از هر والد + یک کروموزوم A1 و یک کروموزوم B) (یزدی صمدی و عبدمیشانی، ۱۳۷۵).

تا به حال گیاه برنج با n=5 کروموزوم دیده نشده است و ممکن است از بین رفته باشد (اهدایی، ۱۳۸۸). کروموزوم‌های گونه *O. glaberrima* به خوبی با *O. sativa* جفت نشده و لذا به آن فرمول

[1] Cytology
[2] Quantitative traits
[3] Monocotyledon

ژنومی AgAg داده‌اند. شش گونه اوریزا، یکساله می‌باشند. از طرفی دو گونه *O. nivara* و *O. rafipogon* که وحشی بوده و دارای ژنوم AA می‌باشند، به طور وسیعی در جنوب شرقی آسیا توزیع یافته و به راحتی با یکدیگر و با برنج زراعی تلاقی‌پذیر می‌باشند.

هیبریدهای حاصل از تلاقی بین ارقام ایندیکا و ژاپونیکا از حیث درجه عقیمی تفاوت دارند. بعضی کاملاً سالم و برخی قسمتی یا کاملاً عقیم هستند (یزدی صمدی و عبدمیشانی، ۱۳۷۵). علیرغم جفت شدن نرمال کروموزوم‌ها در این هیبریدها، ۱۰ تا ۷۰ درصد عقیمی وجود دارد. این عقیمی اولین بار به دلیل اختلالات کروموزومی در این دو تیپ گیاهی مطرح گردید ولی گزارش‌هایی مبنی بر وجود ژن‌های عقیمی در کروموزوم‌های ۵ و ٦ وجود دارد (Kush *et al.*, 1998).

۲-۲ روش‌های اصلاح برنج

روش‌های اصلاح برنج تقریباً مشابه روش‌هایی است که برای اصلاح گندم به کار گرفته می‌شود. وارد کردن مواد ژنتیکی به مجموعه‌های ژرم‌پلاسم[1]، گزینش[2]، دورگ‌گیری[3]، ایجاد ارقام هیبرید F_1، به‌نژادی به طریقه جهش با ژن‌های جهش یافته برای صفات خاصی نظیر پاکوتاهی[4]، زودرسی و آندوسپرم مومی در اصلاح برنج مشارکت دارند.

۲-۲-۱ وارد کردن مواد ژنتیکی

معرفی یا وارد کردن، نقش مهمی در در توزیع ژرم‌پلاسم برنج از مرکز تنوعش در آسیا به سایر مناطق دنیا ایفا می‌کند. موسسه بین المللی تحقیقات برنج (IRRI)[5] که در لوس بوناس[6] فیلیپین قرار دارد از طریق برنامه اصلاحی گسترده، ارقام و لاین‌های اصلاح شده را در کشورهای در حال توسعه جهان توزیع می‌نماید.

[1] Germplasm
[2] Selection
[3] Hybridization
[4] Dwarf
[5] International Rice Research Institute
[6] Los Banos