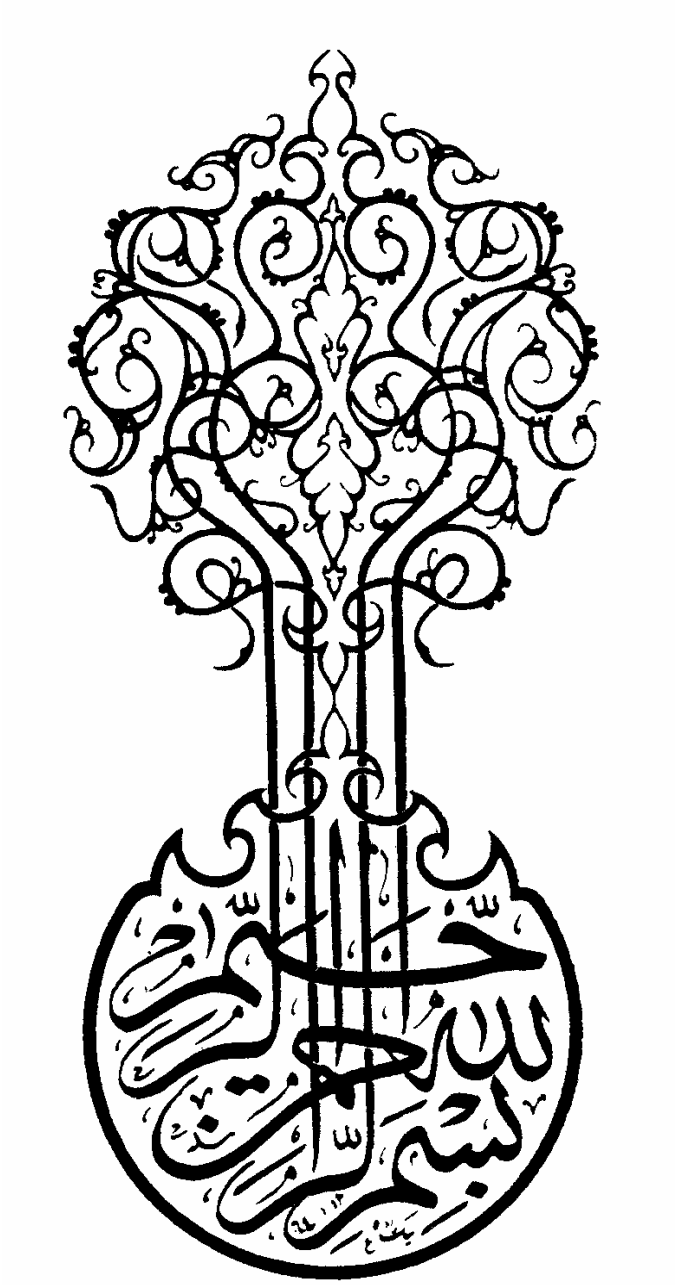

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

**دانشکده تولید گیاهی**
**گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی کشاورزی**

**پایان‌نامه جهت دریافت درجه کارشناسی‌ارشد (M.Sc)**
**در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی**

# انتقال نرعقیمی سیتوپلاسمی WA به لاین یوسن برنج با استفاده از روش تلاقی برگشتی به کمک نشانگر

**نگارش و پژوهش:**
مهدی میرعرب

**استاد راهنما:**
دکتر اسدا... احمدی‌خواه

**استاد مشاور:**
دکتر محمدهادی پهلوانی

**۱۳۹۰**

**تعهدنامه پژوهشی**

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان مبین بخشی از فعالیت‌های علمی- پژوهشی بوده و همچنین با استفاده از اعتبارات دانشگاه انجام می‌شود، بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به موارد ذیل متعهد می‌شوند:

۱) قبل از چاپ پایان‌نامه (رساله) خود، مراتب را قبلا بطور کتبی به مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه اطلاع داده و کسب اجازه نمایند.

۲) در انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) در قالب مقاله، همایش، اختراع و اکتشاف و سایر موارد ذکر نام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان الزامی است.

۳) انتشار نتایج پایان‌نامه (رساله) باید با اطلاع و کسب اجازه از استاد راهنما صورت گیرد.

اینجانب **مهدی میرعرب** دانشجوی رشته **بیوتکنولوژی کشاورزی** مقطع **کارشناسی‌ارشد** تعهدات فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده و به آن ملتزم می‌شوم.

تقدیم به...

پدر

و

مادر

و همسر عزیزم

به پاس محبت‌ها، فداکاری‌ها و صبوری‌شان

# تشکر و قدردانی

اکنون که با استعانت از پروردگار متعال نگارش این پژوهش به انجام رسید بر خود لازم می دانم مراتب امتنان، سپاس و ارادت خالصانه خود را نسبت به جناب آقای دکتر اسدا . . . احمدی خواه، که ضمن رهنمودهای ارزنده خویش با سعه صدر و تلاشی وصف ناپذیر این پایان نامه را راهنمایی نمودند و وجود پر مهرشان تداوم بخش تلاشم بوده است، ابراز دارم .

از کمک های بی شائبه جناب آقای دکتر محمد هادی پهلوانی استاد مشاور گرامی که نظرات ایشان موجبات غنای پژوهش حاضر را فراهم نمود کمال سپاس و تشکر را دارم .

و از تمامی اساتید محترمی که در محضرشان علم آموخته ام تشکر و سپاسگذاری می نمایم .

## چکیده

برنج دومین محصول استراتژیک دنیا محسوب شده و از این‌رو، با توجه به نیاز روز افزون به تولید آن، استفاده و کاربرد روش‌های بیوتکنولوژی جهت افزایش عملکرد در واحد سطح این محصول، اجتناب ناپذیر است. در راستای افزایش عملکرد برنج، تولید ارقام هیبرید در دنیا در حال افزایش بوده و برای تولید برنج هیبرید نیز روش‌های مختلفی وجود دارد که یکی از مهمترین آن سیستم سه لاین (لاین‌های A، B و R) می‌باشد. هدف از این پژوهش، ایجاد یک لاین جدید نرعقیم سیتوپلاسمی (A لاین) جهت تنوع بخشیدن به لاین‌های نرعقیم موجود و در نهایت استفاده از آن در برنامه تولید بذر هیبرید بوده است. بدین منظور ابتدا لاین نگهدارنده یوسن (به عنوان B لاین) با خصوصیات مناسب مورفولوژیکی نظیر پاکوتاهی و عملکرد بالا، با لاین نرعقیم IR68897A به عنوان والد بخشنده سیتوپلاسم نرعقیم، تلاقی داده شد. نتاج تلاقی برگشتی حاصل بر اساس ارزیابی فنوتیپی طی چهار مرحله با لاین یوسن به عنوان والد تکراری تلاقی برگشتی داده شدند. ارزیابی مولکولی نتاج نسل تلاقی برگشتی پنجم با ۳۵ نشانگر SSR چندشکل نشان داد که تنوع زیادی بین نتاج حاصل از تلاقی برگشتی از نظر شباهت به والد تکراری وجود دارد، به طوری که این میزان در نتاج مورد مطالعه بین ۷۰ الی ۸۳ درصد متغیر بود. بر اساس گزینش به وسیله نشانگرهای مولکولی، در نسل تلاقی برگشتی پنجم یک لاین نرعقیم سیتوپلاسمی (CMS) شناسایی شد که در ۲۳ لوکوس SSR دارای الگوی باندهی مشابه والد یوسن بوده و در مجموع حدود ۸۳ درصد با والد یوسن شباهت داشت. بنابراین، این بوته با والد یوسن تلاقی برگشتی داده شد تا نتاج نسل تلاقی برگشتی ششم تشکیل شود. در بین نتاج نسل تلاقی برگشتی ششم نیز یک لاین CMS شناسایی شد که تقریباً ۹۹ درصد به والد یوسن شباهت داشت. لذا این بوته با والد یوسن تلاقی برگشتی داده شد تا بدین وسیله ریخته ارثی این لاین با کارایی بالایی بازیابی و تثبیت گردد. سپس لاین CMS جدید جهت بررسی قابلیت ترکیب‌پذیری عمومی، خصوصی و برآورد هتروزیس با تعدادی از لاین‌های بازگرداننده‌ی باروری تلاقی یافت. نتایج نشان داد که لاین CMS جدید از نظر صفت تاریخ خوشه‌دهی دارای ترکیب‌پذیری عمومی منفی بوده و بنابراین موجب زودرسی هیبرید گردید. همچنین از لحاظ صفت تعداد کل دانه دارای ترکیب‌پذیری عمومی مثبت و معنی‌دار بود. لاین یوسن نرعقیم (CMS جدید) در ترکیب با لاین IR42 دارای بالاترین ترکیب‌پذیری خصوصی مثبت و معنی‌دار در صفت تعداد پنجه بود. همچنین در صفت تعداد دانه کل، لاین یوسن نرعقیم در ترکیب با لاین IR8 دارای بالاترین هتروزیس مثبت و معنی‌دار بود. با این وجود، هتروزیس برای عملکرد این لاین در ترکیب با لاین IR42 دومین رتبه را پس از ترکیب IR68897A × IR42 به خود اختصاص داد. بنابراین نیاز است که لاین یوسن نرعقیم جدید در ترکیب با لاین‌های متعدد بازگرداننده‌ی باروری (حاوی ژن‌های بازگرداننده‌ی باروری مختلف) با زمینه ژنتیکی متفاوت و در عین حال با سازگاری بیشتر در تلاقی (تقسیم میوز نرمال‌تر و کاهش درصد عقیمی خوشه) جهت دستیابی به هیبریدی با هتروزیس بالاتر مورد بررسی قرار گیرد.



***کلمات کلیدی:*** برنج، تلاقی برگشتی به کمک نشانگر، لاین CMS، هیبرید، ترکیب‌پذیری، هتروزیس

## فهرست مطالب


| عنوان | صفحه |
|---|---|
| **فصل اول: مقدمه** | ۱ |
| ۱-۱- بیان مسئله | ۲ |
| ۱-۲- ویژگی‌های گیاهشناسی و ژنتیکی برنج | ۴ |
| ۱-۳- مراحل رشد و شرایط مناسب برای کشت برنج | ۸ |
| ۱-۴- سطح زیر کشت و میزان تولید برنج در ایران و جهان | ۹ |
| ۱-۵- فرضیه‌ها و اهداف تحقیق | ۱۱ |
| **فصل دوم: بررسی منابع** | ۱۳ |
| ۲-۱- ژنوم میتوکندریایی و مکانیسم نرعقیمی | ۱۴ |
| ۲-۱-۱- وراثت خارج هسته‌ای | ۱۵ |
| ۲-۱-۲- مشخصات وراثت سیتوپلاسمی | ۱۶ |
| ۲-۱-۳- نرعقیمی | ۱۷ |
| ۲-۱-٤- عقیمی ناشی از هیبرید | ۲۳ |
| ۲-۲- ویژگی‌های بیوشیمیایی و سیتولوژیکی نرعقیمی | ۲۴ |
| ۲-۳- مکانیسم بازگشت باروری و ژن‌های مسئول | ۲۶ |
| ۲-۳-۱- تجدید کننده‌های بیوشیمیایی | ۲۸ |
| ۲-۳-۲- تجدید کننده‌های ژنتیکی | ۲۸ |
| ۲-۴- نشانگرهای مولکولی | ۳۲ |
| ۲-۴-۱- نشانگرهای تکرار توالی ساده یا SSR | ۳۳ |
| ۲-۵- گزینش به کمک نشانگرهای مولکولی | ۳۶ |
| ۲-۵-۱- پروژه‌های کاربردی گزینش به کمک نشانگرهای مولکولی | ۴۱ |
| ۲-۶- مکانیسم تولید برنج هیبرید | ۴۶ |
| ۲-۷- هتروزیس در برنج | ۴۷ |
| ۲-۷-۱- انتخاب گیاهان والد هیبرید و اثرات آن در جامعه گیاهی؛ لزوم تولید هیبریدهای متعدد | ۴۹ |
| ۲-۷-۲- عمل ژن‌ها در بروز صفات گیاه هیبرید | ۵۰ |

## فهرست مطالب

**عنوان** **صفحه**


۲-۷-۲-۱- تفکیک متجاوز ۵۲
۲-۷-۲-۲- همواستازی رشد- ژنتیکی ۵۲
۲-۷-۳- برآورد ترکیب‌پذیری عمومی، خصوصی و وراثت‌پذیری ۵۴
۲-۷-۴- نتایج تحقیقات صورت گرفته در زمینه تولید برنج هیبرید ۵۶

**فصل سوم: مواد و روش‌ها** ۶۱
۳-۱- مواد گیاهی مورد استفاده در برنامه تلاقی برگشتی ۶۲
۳-۲- استخراج DNA ۶۲
۳-۲-۱- مراحل استخراج DNA ۶۳
۳-۲-۲- ترکیبات مورد نیاز واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۶۴
۳-۳- آغازگرهای مورد استفاده ۶۵
۳-۴- الکتروفورز ۶۵
۳-۵- آزمون باروری دانه گرده و بذردهی‌خوشه ۶۶
۳-۶- اخته کردن گل پایه مادری ۶۷
۳-۷- تلاقی برگشتی ۶۷
۳-۸- تجزیه و تحلیل داده‌ها ۶۸
۳-۸-۱- ارزش‌گذاری باندها و آنالیزداده‌ها ۶۸
۳-۸-۲- میزان اطلاعات چند شکلی ۶۹
۳-۸-۳- هتروزیگوسیتی یا تنوع ژنی ۶۹
۳-۸-۴- تعادل هاردی – وانیبرگ ۷۰
۳-۸-۵- شباهت و فاصله ژنتیکی ۷۰

## فهرست مطالب

**عنوان** **صفحه**


۳-۸-۶- تعیین روابط فیلوژنتیکی ۷۱
۳-۹- محاسبه‌ی ترکیب‌پذیری عمومی، خصوصی و هتروزیس ۷۱

**فصل چهارم: نتایج** ۷۳
۴-۱- گزینش پیش‌زمینه ۷۴
۴-۲- گزینش مولکولی توسط نشانگر میکروساتلایت در نسل تلاقی برگشتی پنجم ۷۴
۴-۳- گزینش مولکولی توسط نشانگر میکروساتلایت در نسل تلاقی برگشتی ششم ۷۹
۴-۴- پاسخ به گزینش با نشانگرهای مولکولی ۸۴
۴-۵- محاسبه‌ی ترکیب‌پذیری عمومی، خصوصی، وارثت‌پذیری و هتروزیس A لاین جدید یوسن ۸۴

**فصل پنجم: بحث** ۹۷
۵-۱- گزینش پیش‌زمینه ۹۸
۵-۲- بررسی کارایی نشانگرهای میکروساتلایت و بازیابی ژنوم والد تکراری یوسن به روش تلاقی برگشتی به کمک نشانگر ۹۹
۵-۳- بررسی ترکیب‌پذیری عمومی A لاین جدید یوسن در مقایسه با سایر لاین‌ها ۱۰۸
۵-۴- بررسی ترکیب‌پذیری خصوصی و هتروزیس A لاین جدید یوسن در مقایسه با سایر لاین‌ها ۱۱۱
۵-۵- بررسی نوع اثر ژن، وارثت‌پذیری و هتروزیس A لاین جدید یوسن در ترکیب با سایر لاین‌ها ۱۱۳
۵-۶- نتیجه‌گیری کلی ۱۱۶
۵-۷- پیشنهادات ۱۱۸
فصل ششم: منابع ۱۱۹
ضمیمه ۱۳۵

## فهرست جدول‌ها

**عنوان** **صفحه**


جدول ۱-۱- رده‌بندی گونه‌های مختلف برنج بر اساس تعداد کروموزوم، ترکیب ژنومی و صفات مفید ۵
نمودار ۱-۲- توزیع میزان تولید شلتوک استان‌ها نسبت به کل کشور در سال زراعی ۸۸-۸۷ ۱۰
جدول ۲-۱- انواع مختلف CMS در برنج ۱۹
جدول ۴-۱- مقادیر مربوط به شاخص‌های مختلف ژنتیکی در نسل تلاقی برگشتی پنجم ۷۶
جدول ۴-۲- ضرایب تشابه و فاصله ژنتیکی نتاج $BC_5$ و والدین آن ۷۸
جدول ۴-۳- مقادیر مربوط به شاخص‌های مختلف ژنتیکی در نسل تلاقی برگشتی ششم ۸۰
جدول ۴-۴- ضرایب تشابه و فاصله ژنتیکی نتاج $BC_6$ و والدین آن ۸۲
جدول ۴-۵- پارامترهای موثر در ارزیابی پاسخ به گزینش با نشانگرهای مولکولی در دو نسل پیاپی ۸۴
جدول ۴-۶- نتایج تجزیه واریانس صفات فنولوژیک بر اساس تجزیه لاین× تستر ۸۵
جدول ۴-۷- نتایج تجزیه واریانس صفات اجزاء عملکرد بر اساس تجزیه لاین× تستر ۸۶
جدول ۴-۸- آنالیز اثرات ترکیب‌پذیری برای صفات فنولوژیکی ۸۷
جدول ۴-۹- آنالیز اثرات ترکیب‌پذیری برای اجزاء عملکرد ۸۷
جدول ۴-۱۰- برآورد ترکیب‌پذیری عمومی صفات فنولوژیکی لاین‌ها و تسترها ۸۸
جدول ۴-۱۱- برآورد ترکیب‌پذیری عمومی صفات اجزاء عملکرد لاین‌ها و تسترها ۸۹
جدول ۴-۱۲- برآورد ترکیب‌پذیری خصوصی صفات فنولوژیکی هیبریدها ۹۰
جدول ۴-۱۳- برآورد ترکیب‌پذیری خصوصی صفات اجزاء عملکرد هیبریدها ۹۱
جدول ۴-۱۴- برآورد اجزاء واریانس ژنتیکی و وراثت‌پذیری صفات فنولوژیک ۹۲
جدول ۴-۱۵- برآورد اجزاء واریانس ژنتیکی و وراثت‌پذیری صفات اجزاء عملکرد ۹۳
جدول ۴-۱۶- مقادیر هتروزیس صفات فنولوژیک نسبت به میانگین والدین و والد برتر ۹۴
جدول ۴-۱۷- مقادیر هتروزیس صفات اجزاء عملکرد نسبت به میانگین والدین و والد برتر ۹۶

## فهرست شکل‌ها

**عنوان** **صفحه**


شکل ۱-۱- تصویر ۱۲ جفت کروموزوم رقم Sekitori برنج ژاپونیکا در مرحله پرومتافاز ۶

شکل ۱-۲- توزیع جغرافیایی گونه‌های وحشی جنس اوریزا ژنوم AA ۷

شکل ۲-۱- تصویر تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی از اندامک میتوکندری در گیاه برنج ۱۵

شکل ۲-۲- تصویر واقعی تهیه شده از DNA حلقوی میتوکندریایی برنج و تصویر شماتیک از میتوکندری CMS مشتق شده از برنج *Oryza rufipogon* Griff ۱۷

شکل ۲-۳- بساک بالغ برنج در گیاه نرعقیم حساس به دما، نربارور و میکروسپور محصور در لایه تپتوم ۲۲

شکل ۲-۴- انواع تلاقی‌های ممکن جهت بازگشت باروری ۲۷

شکل ۲-۵- نمایی از چگونگی تولید SSR و الگوی نواربندی آنها ۳۴

شکل ۳-۱- نوارهای مربوط به DNA استخراج شده از لاین‌های مورد بررسی در نسل $BC_6$ ۶۳

شکل ۳-۲- نحوه اخته کردن خوشه پایه مادری ۶۷

شکل ۴-۱- دانه گرده یک لاین عقیم $BC_5$ و لاین بارور یوسن ۷۴

شکل ۴-۲- آشکارسازی باندهای حاصل از الکتروفورز DNA تکثیر شده افراد نسل $BC_5$ توسط برخی از نشانگرهای پلی‌مورف ۷۷

# فصل اول

# مقدمه

## ۱-۱- بیان مسئله

برنج (*Oryza sativa* L.) دومین غله دنیا و مهمترین آن در مناطق گرمسیری محسوب شده و از لحاظ تولید دانه بعد از گندم رتبه دوم را به خود اختصاص داده است (به نقل از سایت فائو، ۲۰۰۸). همچنین در بیش از ۵۰ درصد از جوامع، برنج به عنوان منبع اصلی تامین کننده مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (نانگ‌خام و همکاران، ۲۰۱۰؛ شریفی و همکاران، ۱۳۸۹). از طرف دیگر جمعیت فعلی جهان بیش از ۶ میلیارد نفر بوده و پیش‌بینی می‌شود که در سال ۲۰۳۰ به حدود ۸ میلیارد نفر خواهد رسید، ولی آنچه افزایش نمی‌یابد سطح زمین‌های زراعی است. به نظر می‌رسد که تنها راه حل موجود استفاده از علم اصلاح نباتات و قابلیت گیاهان برای تولید بیشتر در واحد سطح باشد. همچنین پیش‌بینی می‌شود که در سال ۲۰۳۰، تولید برنج ۶۰ درصد بیشتر نسبت به سال ۱۹۹۵ خواهد بود و راه این افزایش نیز تولید برنج هیبرید است، زیرا برنج‌های هیبرید نسبت به لاین‌های موجود، قادرند که میزان ۳۰- ۱۵ درصد بیشتر برنج تولید نمایند. جهت تولید برنج هیبرید روش‌های متعددی مانند استفاده از خودناسازگاری، آپومیکسی و نرعقیمی وجود دارد که در این میان، استفاده از نرعقیمی موثرترین و پایدارترین روش محسوب می‌شود (به نقل از مجیدی، ۱۳۸۸). کاربرد تکنولوژی برنج هیبرید در سه دهه‌ی اخیر سبب افزایش قابل توجه تولید جهانی برنج شده است. تقریباً ۹۰ درصد از ارقام تجاری برنج هیبرید حاصل استفاده از سیستم ۳- لاین و کاربرد لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی (CMS)[1] نوع عقیمی وحشی (WA)[2] هستند (داس و همکاران، ۲۰۱۰). همچنین برنج هیبرید تجاری تولید کشور هندوستان بر پایه سیستم ۳-لاین می‌باشد (نانگ‌خام و همکاران، ۲۰۱۰). از این رو اعتقاد بر این است که در قرن ۲۱، تکنولوژی برنج هیبرید سهم بالایی در تضمین امنیت غذایی جهان خواهد داشت (داس و همکاران، ۲۰۱۰). امروزه بیش از ۵۰ درصد از سطح زیر کشت برنج در چین به کشت ارقام هیبرید اختصاص دارد (چنگ و همکاران، ۲۰۰۷). استفاده از برنج هیبرید در چین موجب کاهش سطح مزارع زیر کشت از ۳۶/۵ میلیون هکتار در سال ۱۹۷۵ به ۳۰/۵ میلیون هکتار در سال ۲۰۰۰ و افزایش محصول از ۱۲۸ به ۱۸۹ میلیون تن شد (داس و همکاران، ۲۰۱۰). این درحالی‌است که تولید ارقام پرمحصول و با کیفیت، به واسطه‌ی شناسایی ذخایر ژنتیکی متنوع میسر شده و در نتیجه تنوع

1 - Cytoplasmic male sterility
2 - Wild abortive

ژنتیکی اساس و پایه‌ی اصلاح نباتات می‌باشد (باقری و همکاران، ۱۳۸۷). بنابراین با توجه به محدود بودن منابع نرعقیمی سیتوپلاسمی و تنوع پایین از نظر تعداد لاین‌های نرعقیمی سیتوپلاسمی (CMS) موجود که باعث آسیب‌پذیری ژنتیکی می‌گردد، لذا باید در جهت تنوع بخشیدن به مجموعه لاین‌های CMS موجود گام برداشت که یکی از راه‌های آن انتقال نرعقیمی سیتوپلاسمی به لاین‌های نگهدارنده بالقوه از طریق تلاقی برگشتی‌های مکرر می‌باشد (احمدی‌خواه، ۲۰۰۹b).

وجود ارقام محدود CMS و بازگرداننده‌ی باروری و به تبع آن اختصاص بیشترین سطح زیر کشت به یک نوع برنج هیبرید در سال‌های ۱۹۸۷ تا ۲۰۰۱ در کشور چین و توجه به آسیب‌پذیری ژنتیکی برنج هیبرید با توجه به تنوع ژنتیکی اندک موجود، پژوهشگران را بر آن داشت که در دهه اخیر بیشترین توجه خود را بر روی گسترش تنوع ژنتیکی برنج هیبرید معطوف دارند. در این راستا محققین کشور چین تصمیم به تولید انواع جدیدی از لاین‌های CMS گرفتند و تا کنون هشت نوع لاین CMS مختلف در سطح تجاری برای تولید برنج هیبرید مورد استفاده قرار گرفت (چنگ و همکاران، ۲۰۰۷).

توسعه لاین‌های CMS به جهت پیش‌گیری از آسیب‌پذیری ژنتیکی در سایر گیاهان نیز مورد نظر بوده و با توجه به اهمیت این مسئله مثالی در این زمینه ذکر می‌شود. اولین بار (سال ۱۹۷۲) در فیلیپین گزارش شد که نرعقیمی سیتوپلاسمی نوع تگزاسی در ذرت موجب حساسیت این گیاه به بیماری هلمنتوسپوریوم می‌شود ولیکن عدم توجه به یافته‌ی اخیر و جدّی نگرفتن مسئله، سبب خسارت یک میلیارد دلاری به مزارع ذرت آمریکا گردید. علت این بود که فیتوتوکسین قارچ مذکور روی فعالیت‌های تنفسی میتوکندری رقم تگزاس اختلال ایجاد می‌نماید و از آنجایی که در سطح وسیعی از مزارع ذرت آمریکا این هیبرید مورد کشت قرار گرفته بود، خسارت زیادی را به بار آورد. در نتیجه برای اولین بار ایجاد تنوع سیتوپلاسمی مورد توجه پژوهشگران اصلاح نباتات قرار گرفت و متخصصان جهت رفع این مشکل، عدم اجازه کشت یک رقم در سطح بسیار وسیع و استفاده از ۲۵ تا ۳۰ منبع دیگر نرعقیمی (با وجودی که صفات زراعی مطلوبی به خوبی نوع تگزاسی نداشتند) را به عنوان راه‌حل دنبال نمودند (میرمحمدی‌میبدی و میرلوحی، ۱۳۸۱).

## ۱-۲- ویژگی‌های گیاهشناسی و ژنتیکی برنج

برنج از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی به شمار می‌رود و حداقل ۵۰۰۰ سال است که در کشورهای چین و هند کشت می‌شود. از طرفی این گیاه مهمترین زراعت نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری محسوب گردیده و ۹۵ درصد برنج دنیا در کشورهای چین، آسیای جنوب شرقی و هندوستان تولید می‌شود. سابقه کشت برنج در ایران نیز به حدود ۲۰۰۰ سال پیش برمی‌گردد (یزدی صمدی و عبدمیشانی، ۱۳۸۰). برنج متعلق به خانواده گرامینه، رده گلامیفلورا، کلاس تک‌لپه‌ای‌ها، از آنژیواسپرما و جنس *Oryza* می‌باشد. در حال حاضر گونه‌های برنج قابل کشت شامل ساتیوا و گلابریما[1] بوده که در این بین گونه ساتیوا در سطح وسیعی کشت شده اما گلابریما تنها در آفریقا کشت می‌گردد (ویرمانی و همکاران، ۲۰۰۳ به نقل از علوی ۱۳۸۸).

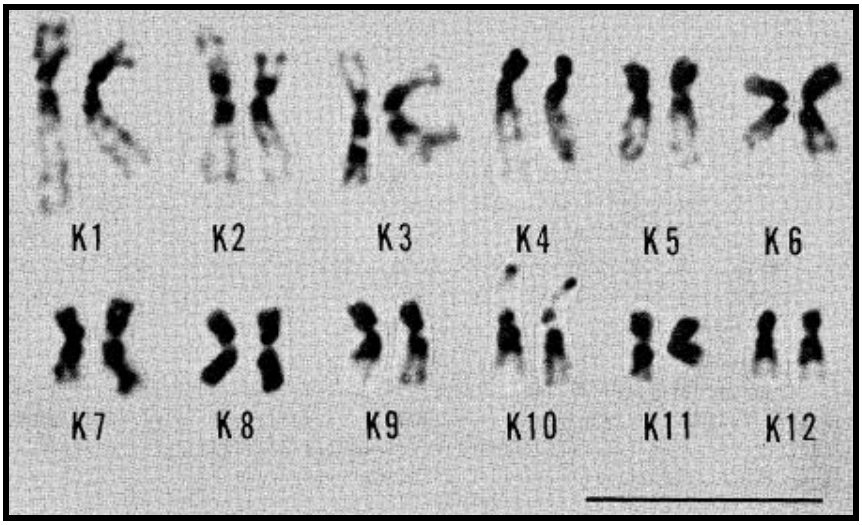
برنج گیاهی خودگشن بوده و میزان دگرگشنی آن بسته به واریته و محیط از صفر الی سه درصد متغییر می‌باشد (یزدی صمدی و عبدمیشانی، ۱۳۸۰). جنس *Oryza* دارای بیست گونه با تعداد کروموزوم پایه ۱۲ است (ارزانی، ۱۳۸۰). از میان کروموزوم‌های ژنوم برنج، پنج عدد متاسانتریک، پنج عدد ساب‌متاسانتریک و دو عدد ساب‌تلوسانتریک می‌باشند (کوراتا و اُمورا، ۱۹۷۸؛ تانگ و همکاران، ۲۰۰۷). این جنس شامل گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید با شش گروه ژنومی A، B، C، D، E و F است. گونه زراعی *O. sativa* (۲x=۲n=۲٤) دارای فرمول ژنومی AA می‌باشد (ارزانی، ۱۳۸۰). لازم به ذکر است که برنج معمولی (اوریزا ساتیوا)، به لحاظ ژنتیکی شبیه به گونه‌های دیپلوئید بوده ولی اطلاعات ژنتیکی و سیتولوژیکی نشان می‌دهند که این گونه در اصل پلی‌پلوئید و شماره کروموزومی پایه آن پنج است (X=5). بر این اساس فرمول کروموزومی این گیاه به صورت $AA_1,B,C,D,E$ $A_1,B_1B,C_1,D_1,E_1$ پیشنهاد شده است. در واقع چنین فرض شده است که گونه‌ای با X=5 کروموزوم (A,B,C,D,E) با گونه دیگری که X=5 کروموزوم داشته ($A_1,B_1,C_1,D_1,E_1$) ترکیب و آمفی‌پلوئید حاصل بر اثر اختلالاتی در میوز، گیاهی را با ۱۲ کروموزوم تولید نموده است (از هر والد پنج کروموزوم به اضافه یک کروموزوم $A_1$ و یک کروموزوم B). در جدول ۱-۱ رده‌بندی گونه‌های مختلف برنج بر اساس تعداد کروموزوم، ترکیب ژنومی و صفات مفید در هر گونه نشان داده شده است (به نقل از علی و همکاران، ۲۰۱۰).

1- *Glaberima*

**جدول ۱-۱- رده‌بندی گونه‌های مختلف برنج بر اساس تعداد کروموزوم، ترکیب ژنومی و صفات مفید**

| نوع گونه | تعداد کروموزوم‌ها (2n) | ژنوم | صفات مفید |
|---|---|---|---|
| *O. sativa* | 24 | AA | |
| *O. nivara* | 24 | AA | مقامت به: ویروس کوتولگی علفی، بلاست، پژمردگی غلاف؛ مقاومت به: اجتناب از خشکی، منبع CMS، لوکوس عقیمی گرده |
| *O. rufipogon* | ۲۴ | AA | مقاومت به: پژمردگی باکتریایی، پوسیدگی ساقه، ویروس تانگرو، بلاست؛ مقاومت به: آلومینیوم، اسیدیته خاک، منبع CMS، بهبود عملکرد، مقاومت به شوری، بازگرداننده باروری، قابلیت کشش |
| *O. glaberrima* | ۲۴ | AA | مقاومت به: ویروس زرد لکه‌ای، ویروس نکروسیس نواری، نماتد؛ مقاومت به: آلومینیوم، اسیدیته خاک، اجتناب از خشکی، منبع CMS |
| *O. barthii* | ۲۴ | AA | مقاومت به: پژمردگی باکتریایی، بیماری باکتریایی نواری برگ، لکه قهوه‌ای، پژمردگی غلاف؛ مقاومت به: اجتناب از خشکی، منبع CMS |
| *O. glumaepatula* | ۲۴ | AA | قابلیت کشش، منبع CMS |
| *O. longistaminata* | ۲۴ | AA | مقاومت به: پژمردگی باکتریایی، بلاست، نماتد؛ مقاومت به: اجتناب از خشکی، باروری گرده/خوشه، قابلیت کشش، پژمردگی غلاف |
| *O. meridionalis* | ۲۴ | AA | قابلیت کشش، اجتناب از خشکی، پژمردگی غلاف |
| *O. minuta* | ۴۸ | BBCC | مقاومت به: پژمردگی غلاف، بلاست، پژمردگی باکتریایی؛ اندازه دانه، طول ریشک، تاریخ خوشه‌دهی، تعداد خوشه، تعداد گلچه |
| *O. eichingeri* | ۲۴ | CC | مقاومت به ویروس زرد لکه‌ای |
| *O. Officinalis* | ۲۴ | CC | مقاومت به تریپس |
| *O. alta* | ۴۸ | CCDD | تولید بیوماس بالا |
| *O. grandiglumis* | ۴۸ | CCDD | تولید بیوماس بالا |
| *O. australiensis* | ۲۴ | EE | اجتناب از خشکی، مقاومت به بلاست |

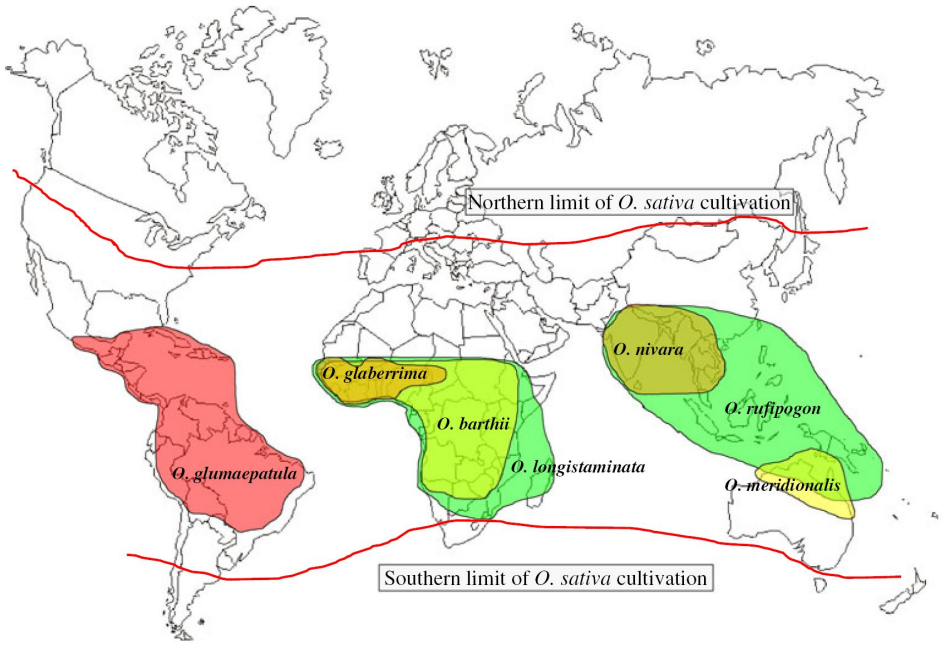
ارقام برنج آسیایی (*Oryza sativa* L.) برای اولین بار توسط کاتو (۱۹۳۰) به دو گروه بزرگ به نام *japonica* و *indica* نامگذاری شد (به نقل از کابو و همکاران، ۲۰۰۸). در نتیجه از لحاظ جغرافیایی واریته‌های اوریزا ساتیوا به دو نژاد هندی (هند، هندوچین و فیلیپین) و ژاپنی (ژاپن، کره و شمال چین) تقسیم شده و هیبریدهای بین این دو ناحیه در محدوده‌ی کاملاً سالم، کمی عقیم تا کاملاً عقیم قرار می‌گیرند (یزدی صمدی و عبدمیشانی، ۱۳۸۰). در تصویر کاریوتیپی (شکل ۱-۱) ژنوم برنج پنج جفت کروموزوم نوع متاسانتریک (K3، K6، K7، K8 و K11)، پنج جفت کروموزوم ساب‌متاسانتریک (K1، K2، K5، K9 و K12) و ۲ جفت کروموزوم از نوع ساب‌تلوسانتریک (K4 و K10) مشاهده می‌شود (کوراتا و اُمورا، ۱۹۷۸؛ تانگ و همکاران، ۲۰۰۷).




**شکل ۱-۱- تصویر ۱۲ جفت کروموزوم رقم Sekitori برنج ژاپونیکا، در مرحله پرومتافاز (مقیاس5 µm)**

ارزیابی‌های پراکندگی جغرافیایی دو زیر گونه‌ی ژاپونیکا و ایندیکا نیز مشخص نمود که ورایته‌های برنج بومی در ژاپن، شبه جزیره‌ی کره و شمال چین همگی متعلق به گروه ژاپونیکا می‌باشند. واریته‌های بومی و محلی برنج در هندوستان، جاوه، جنوب چین و تایوان نیز متعلق به گروه ایندیکا هستند (آقازاده و همکاران، ۱۳۸۶). در شکل ۱-۳ توزیع جغرافیایی گونه‌های وحشی جنس اوریزا (ژنوم AA) نشان داده شده است. بر اساس جدول ۱-۱ مشاهده می‌شود که تنها در پنج

گونه *O. nivara*، *O. rufipogon*، *O. glaberrima*، *O. barthii* و *O. glumaepatula* صفت نرعقیمی سیتوپلاسمی وجود دارد (لو و همکاران، ۲۰۱۰ به نقل از علی و همکاران، ۲۰۱۰).




**شکل ۱-۲- توزیع جغرافیایی گونه‌های وحشی جنس اوریزا (ژنوم AA)**

تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی با پراکندگی جغرافیایی آن همبستگی مثبتی دارد. در ۱۵ استان ایران با شرایط جغرافیایی متنوع، برنج کشت می‌شود (رودباری کلاری و همکاران، ۱۳۸۰). ساقه این گیاه راست و استوانه‌ای و ارتفاع آن به ٦٠ تا ۲۰۰ سانتی‌متر می‌رسد و به جز در قسمتی که گره‌ها وجود دارند تو خالی است. این گیاه علاوه بر ساقه اصلی، چهار تا پنج ساقه فرعی نیز دارا می‌باشد. برگ‌های برنج در دو ردیف به صورت متناوب و در دو طرف ساقه قرار گرفته و دارای غلاف، پهنک، زبانک و گوشوارک هستند. گل آذین این گیاه نیز مانند گندم خوشه‌ای بوده ولی برخلاف سنبلچه‌های گندم، جو و ذرت که فشرده و به هم نزدیک می‌باشند، سنبلچه‌های برنج به صورت غیر فشرده روی محورهای اصلی و فرعی گل آذین قرار گرفته‌اند. میوه برنج را به همراه غلاف آن، شلتوک می‌نامند. رنگ این

غلاف در دامنه‌ی سفید، قهوه‌ای، کهربایی، قرمز یا بنفش قرار دارد که جهت مصرف برنج توسط انسان، غلاف باید از دانه جدا شود (به نقل از علوی، ۱۳۸۸).

ساختمان گل در برنج به شکل خوشه گلی، با گل‌های منفرد (سنبلچه‌های تک گلچه‌ای) می‌باشد. تفاوت گل برنج با سایر غلات این است که در برنج شش پرچم وجود دارد (یزدی صمدی و عبدمیشانی، ۱۳۸۰). در اطراف هر گل دو پوشینه[1] به نام‌های لما[2] و پالئا[3] و در انتهای هر سنبله نیز دو پوشه[4] وجود دارد. برگک فوقانی یا لما (که واجد ریشک است) و برگک پالئا به همراه گل در برگرفته شده، یک گل را تشکیل می‌دهند. نافه آن کوتاه و بساک‌ها دوخانه‌ای و دارای یک مادگی بوده که حاوی یک تخمدان تک برچه‌ای با کلاله‌ی دو شاخه‌ای پرمانند است. گل‌آذینِ برنج به شکل خوشه مرکب[5] بوده و هر سنبله دارای دم باریک و بلندی می‌باشد. این گل آذین در ارقام مختلف برنج به اَشکال فشرده، باز و یا نیمه‌باز دیده می‌شود. شایان ذکر است که از نظر اصلاحگران تولید بذر هیبرید، ارقامی که گل آن بیشتر باز باشد (از آنجایی که مقدار دگرگشنی و در نتیجه تولید بذر آن بیشتر است) مناسب‌تر محسوب می‌شوند (به نقل از علوی، ۱۳۸۸). اغلب گل‌های برنج پیش از نیمروز (۱۰ الی ۱۲ صبح) باز می‌شوند (یزدی صمدی و عبدمیشانی، ۱۳۸۰). همچنین باز شدن گل‌ها از سنبلچه‌های انتهایی گل آذین شروع شده و به سمت پایین ادامه می‌یابد (ارزانی ۱۳۸۰). به طور کلی این گیاه به دلیل کوچکی ژنوم، مقدار کم DNA تکراری، دیپلوئید بودن و دستکاری راحت آن در شرایط کشت بافت، در برنامه‌های مهندسی ژنتیک منحصر به فرد می‌باشد (احمدی‌خواه و همکاران، ۲۰۰۷).

## ۱-۳- مراحل رشد و شرایط مناسب برای کشت برنج

برخلاف گندم که محصول فصل سرد می‌باشد، برنج محصول فصل گرم مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر دنیا به شمار می‌رود (ارزانی، ۱۳۸۰). مراحل رشد در برنج مشتمل بر سه مرحله رویشی، زایشی و رسیدگی است. دمای مورد نیاز برنج در زمان رشد بین ۲۰ الی ۳۷ درجه است (به نقل از علوی، ۱۳۸۸). دوره رویشی این گیاه پس از قرار گیری بذور در آب به مدت ۴۸ ساعت، با ورود به مرحله

1- Glumelle
2- Lemma
3- Palea
4- Glume
5- Panicle

پیش جوانه‌زنی شروع می‌شود. در این دوره مراحل پنجه‌زنی ادامه یافته و با ورود به مرحله تشکیل خوشه مرکب خاتمه می‌یابد. سپس دوره زایشی با تشکیل خوشه مرکب آغاز شده و با خروج کامل آن از غلاف پرچم تداوم می‌یابد (به نقل از سایت ایری، ۲۰۰۹). زمان باز شدن گل‌های برنج هشت صبح تا دو بعدازظهر است (ارزانی، ۱۳۸۰). یک روز پس از خروج خوشه گلدهی شروع و در حدود هفت روز کلیه سنبلچه‌های آن را فرا می‌گیرد. دوره رسیدگی نیز با پر شدن دانه‌ها از مواد شیری آغاز می‌شود. با تداوم این مرحله خوشه به دلیل افزایش وزن به حالت خمیده درآمده و با طی مراحل خمیری شدن، بلوغ و سخت شدن دانه، رنگ سبز آن به زردی متمایل می‌شود (به نقل از سایت ایری، ۲۰۰۹). برنج گیاهی آب دوست و نه آبزی به شمار می‌رود، چرا که ریشه گیاهان آبزی قادر به تولید تارهای کشنده و ریشه‌های فرعی نمی‌باشد. پایین بودن دمای آب در اوایل دوره رشد سبب تاخیر زمان رسیدن دانه‌ها و بالا بودن دما در کاهش تعداد سنبلچه‌های بارور و وزن دانه‌ها موثر است. مناسب‌ترین رطوبت برای گلدهی برنج ۷۰ الی ۸۰ درصد می‌باشد. همچنین بافت رسی با لایه غیرقابل نفوذ در عمق ۵۰ تا ۱۵۰ سانتی‌متری به همراه مواد آلی فراوان جهت کشت برنج مناسب است (به نقل از علوی، ۱۳۸۸). این گیاه در مرحله جوانه‌زنی به شوری نسبتاً متحمل بوده و در اوایل دوره‌ی گیاهچه‌ی سه برگی، به شوری حساس و مجدداً در مرحله رشد رویشی به شوری مقاومت نشان می‌دهد (فتوکیان و همکاران، ۱۳۸۵).

## ۱-۴- سطح زیر کشت و میزان تولید برنج در ایران و جهان

برنج در محدوده جغرافیایی ۵۳ درجه عرض شمالی تا ۴۰ درجه عرض جنوبی مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. هم اکنون بیش از ۹۰ درصد برنج جهان در قاره آسیا تولید شده و از این رو چین با ۳۱ درصد، هند با ۲۰ درصد و اندونزی با نه درصد به ترتیب بزرگترین تولیدکننده‌های برنج در جهان محسوب می‌شوند (به نقل از مجیدی، ۱۳۸۸). این گیاه با سطح زیر کشت ۱۵۴ میلیون هکتار و تولید ۵۹۹ میلیون تن شلتوک رتبه دوم غلات را پس از گندم دارا بوده و مصرف سرانه آن نیز در ایران حدود ۳۸ کیلوگرم در سال می‌باشد (اله‌قلی‌پور، ۱۳۸۶). بنابر گزارش منتشر شده فائو در سال ۲۰۰۹، از مساحت ۱۶۲۸۵۵۰۰۰ هکتار کشور ایران ۱۱/۴ درصد آن را زمین‌های قابل کشاورزی تشکیل داده است (آخرین آمار سال ۲۰۰۷) و از جمعیت قریب به ۷۰ میلیون نفری کشورمان نیز حدود ۱۶/۶