تولید لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی و رستورر برای ارقام برنج ایرانی

نادعلی بابائیان جلودار*[1]، نادعلی باقری[2] و اسماعیل حسن‌نتاج[3]

۱- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- کارشناس‌ارشد زراعت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*nbabaeian@yahoo.com

چکیده

در این مطالعه جهت تولید لاین های نر عقیم سیتوپلاسمی (CMS) و احیاء کننده باروری برای ارقام ایرانی، تلاقی های متعددی که بین ارقام ایرانی با لاین های CMS و احیاء کننده باروری در سال های ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شده بود در سال ۱۳۸۲ کشت گردید. بعلاوه جهت تولید لاین احیاء کننده باروری ۴ لاین نرعقیم سیتوپلاسمی پس از تلاقی با ارقام ایرانی F_1 حاصل با رقم ایرانی تلاقی برگشتی داده شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که تلاقی های رقم ندا با CMS لاین های IR-25A ،IR-84A AIR-97 و خزر A دارای درصد عقیمی دانه های گرده و خوشه بسیار بالا بود. رقم ندا بعنوان نگهدارنده‌ی لاین‌های نرعقیم فوق تلقی می‌شود. اما ارقام سفیدرود و طارم بعنوان نگهدارنده‌ی IR-25A و احیاء کننده‌ی نسبی IR-84A و خزرA دسته بندی شده اند.

کلمات کلیدی: لاین نر عقیم سیتوپلاسمی، رستورر و ارقام برنج ایرانی

مقدمه

ارقام هیبرید تجاری اولین بار پس از کشف گیاه نرعقیم در جمعیت برنج وحشی در جزیره هینان چین در سال ۱۹۷۰ بدست آمد. اولین بذر هیبرید در سال ۱۹۷۳ تولید شد و در سال ۱۹۷۴ در مزرعه کشت گردید. بعد از این دستاورد، ارقام هیبرید در سراسر چین بسرعت انتشار یافت. پروژه‌ی برنج هیبرید، تا کنون این سیستم را که به سیستم ۳ لاینی معروف است پذیرفته است. والد بذری (لاین عقیم) دارای سیتوپلاسمی است که در جلوگیری از تشکیل گرده در گیاه مؤثر است. والد پدری (والد گرده دهنده) یا لاین احیاء کننده باید دارای ژن خاص هسته ای باشد که سیتوپلاسم والد بذری آن را بپذیرد. بطوریکه F_1 بتواند تولید گرده بارور نماید. برای نگهداری لاین های نرعقیم سیتوپلاسمی (CMS) به یک رقمی که نگهدارنده است نیاز می باشد. فرق لاین نگهدارنده با لاین نر عقیم در این است که سیتوپلاسم لاین نگهدارنده طبیعی است. شین جیو (*1972* a و b) در تحقیقات خود ۱۵۰ رقم

از کشور ژاپن و ۱۵۳ رقم خارجی را غربال نمود. نتایج بدست آمده نشان داد که هیچ نرعقیم سیتوپلاسمی در بین آنها وجود ندارد، این صفت فقط در بین برنج بورو[1] از هندوستان وجود دارد که ژن های احیاء کننده باروری در مناطق گرم هندوستان توزیع شده اند. همهٔ این نوع نرعقیم سیتوپلاسمی از روش هیبریداسیون داخل و بین گونه ای معین شد، اما بعضی از طریق موتاسیون بدست آمد. مینوچا و گوپتا (۱۹۸۸) رقم PR106 از هندوستان را تحت تأثیر EMS قرار داده و نرعقیم سیتوپلاسمی بدست آوردند. هدف از این تحقیق، بررسی انتقال صفت نر عقیمی سیتوپلاسمی و اعاده کنندهٔ باروری از طریق تلاقی برگشتی به ارقام ایرانی و در نتیجه ایجاد تنوع در منابع ژنتیکی ارقام و لاین های ایرانی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری واقع در کیلومتر ۹ جاده دریا ساری در ۳۶ درجه و ۴۲ دقیقه شمالی و ۵۳ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی، در سال ۱۳۸۲ به اجرا در آمد. بذور ۱۰ تلاقی برگشتی اول و ۵ هیبرید F_1 که در سالهای قبل جهت تولید لاین نرعقیم سیتوپلاسمی و احیاء کننده ایجاد شده بود، در خزانه کاشته شد. سپس زمین اصلی بر اساس عرف محل آماده گردید. نشاءهای نسلها در زمین اصلی نشاء کاری شدند. مواظبت ها و عملیات زراعی لازم، نظیر آبیاری، کود پاشی و وجین تا زمان گلدهی و انتخاب بوته های مورد نیاز در مزرعه انجام شد. در زمان گلدهی تعداد سه خوشه از هر هیبرید، با پاکت سلوفان پوشانده شد تا از گرده افشانی احتمالی آنها با دانه های گرده سرگردان جلوگیری شود. چهار هفته پس از اتمام گرده افشانی، تعداد کل دانه و تعداد دانه پر در هر خوشه شمارش گردید و از تقسیم تعداد دانه پر بر تعداد کل دانه درصد باروری هر خوشه و سپس با میانگین‌گیری از ۳ نمونه، متوسط درصد باروری محاسبه گردید. همچنین از طریق آزمون باروری دانه گرده در زیر میکروسکوپ با استفاده از یدید پتاسیم ۱٪ میزان باروری دانه های گرده مورد مطالعه قرار گرفت. حداقل برای هر نسل، ۳ نمونه مورد مطالعه و میانگین ۳ نمونه بعنوان متوسط باروری مورد محاسبه قرار گرفت. نسل هایی که دارای بیش از ۶۰٪ دانه گرده بارور بودند، به عنوان لاین اعاده کننده نر باروری، بین ۶۰ –۳۰٪ دانه گرده بارور، به عنوان لاین اعاده کننده نسبی، بین ۳۰-۱٪ دانه گرده بارور، به عنوان لاین نگهدارنده نسبی و ۱٪ > دانه گرده بارور بودند، به عنوان لاین نگهدارنده نر عقیمی سیتوپلاسمی شناسایی شدند. نتاجی که دارای ۸۰٪< گلچه بارور در خوشه بودند، به عنوان لاین اعاده کننده نر باروری، بین ۸۰ – ۳۰٪ گلچه بارور، به عنوان لاین اعاده‌کننده نسبی، بین ۳۰-۱٪ گلچه بارور، به عنوان لاین نگهدارنده نسبی و صفر درصد گلچه بارور بودند، به‌عنوان لاین نگهدارنده شناخته شدند (گویداراج و ویرمانی، ۲۰۰۰).

1 - Boro

نتایج و بحث

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است در تلاقی‌های بین رقم ندا با لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی IR-25A، IR-97A، IR-84A و خزر A درصد عقیمی دانه‌های گرده و خوشه بسیار بالا بود لذا رقم ندا را می‌توان به‌عنوان لاین نگهدارنده نسبی این لاین‌های نرعقیم سیتوپلاسمی در نظر گرفت. در تلاقی رقم سفیدرود با IR-25A عقیمی دانه‌های گرده ۹۶/۳ درصد بود که می توان سفیدرود را بعنوان لاین نگهدارنده نسبی رقم IR-25A بحساب آورد. اما در تلاقی های سفیدرود با لاین های نرعقیم سیتوپلاسمی IR-84A، IR-97A و خزرA عقیمی دانه گرده به ترتیب ۱۹/۳، ۱۴ و ۲۵ درصد بود که با توجه به این نتیجه رقم سفیدرود را می توان بعنوان لاین احیاء کنندهٔ ارقام فوق دانست.

در تلاقی بین IR-25A و طارم عقیمی دانه گرده ۹۰٪ بود این نتیجه نشان داد که طارم لاین نگهدارنده لاین IR-25A می باشد. در تلاقی بین طارم با IR-84A و خزرA عقیمی دانه گرده به ترتیب۴۰ و ۵۰ درصد بوده است که می توان طارم را به عنوان لاین احیا کننده‌ی نسبی ارقام IR-84A و خزرA در نظر گرفت. با توجه به مطالعاتی که انجام شد، مشکل اساسی برای لاین های ایرانی، تولید لاین های احیاء کننده می باشد که جهت غلبه بر این معضل و برای بدست آوردن لاین های رستورر بطور موازی از طریق یک کراس تلاش شده است. همانطوریکه در جدول ۱ مشاهده می شود، تلاقی [ندا × (IR-97A × R2)] دارای باروری خوشه ۶۴/۳۳ درصد بود. همچنین تلاقی بین [سفیدرود × (IR-25A × ۱۹A)] دارای باروری دانه گرده ۹۳/۳۴ درصد و در تلاقی بین [طارم × (IR-25A × R2)] باروری دانه گرده ۹۴/۶۶ درصد بود (جدول ۱) که برای تولید لاین احیاء کنندهٔ ارقام ایرانی این تلاقی برگشتی ادامه خواهد یافت. از تلاقی ارقام ایرانی با CMS لاین‌ها نتایج دارای دو حالت بودند. حالت اول F_1 ها کاملا عقیم بودند یا باروری قابل اغماض داشتند که این F_1 ها بعنوان منبعی برای توسعه و اصلاح CMS لاین ایرانی با ارقام ایرانی بک کراس داده شدند و این بک کراسها هر سال ادامه خواهد داشت. حالت دوم F_1 ها کاملا بارور بودند یا عقیمی آنها قابل اغماض بود که این رقم ایرانی (والد پدری) بعنوان لاین احیاء کنندهٔ احتمالی ایرانی (R) مد نظر قرار داده شدند و تلاقی ها جهت انتقال ژن احیا کنندگی ادامه دارد. گوئی مارائز و همکاران (۱۹۹۸) فراوانی لاین‌های تجدید کننده باروری را در میان ۱۰۴۶ لاین مورد آزمایش، معادل ۳۶٪ گزارش کردند. همچنین گزارش شده که فراوانی لاین‌های تجدید کننده باروری در بین لاین‌های اصلاحی الیت ایندیکای گرمسیری، بالا (۳۰-۲۰٪) می‌باشد. احتمالاً دلیل بالا بودن فراوانی این لاین‌ها، وجود تعداد بالای ژن‌های تجدید کنندهٔ باروری متفاوت می‌باشد (گیمارش و همکاران، ۱۹۹۸). در این آزمایش در حال حاضر از طریق تلاقی لاین احیاکننده با لاین نرعقیم، سپس تلا قی F_1 حاصل با ارقام ایرانی ندا، سفیدرود و طارم لاین احیاکننده‌ی ارقام ایرانی در حال تثبیت می باشد. در مصر نیز مجموعاً ۱۳۲ تست کراس با واریته های مصری در تلاقی با ۱۵ لاین CMS تولید گردید و برای هر لاین CMS، یک لاین نگهدارنده شناسایی

گردید. برای برخی از این لاین های CMS (۹ لاین)، هیچ لاین اعاده کنندهٔ باروری پیدا نشد ولی در کل، برای ۶ لاین دیگر، ۱۲ لاین اعاده کننده‌ی باروری شناسایی گردید (ماکسیمو و ایدی، ۱۹۹۴). این نتایج به روشنی نشان می دهد که یافتن لاین های نگهدارنده مشکل می باشد. در این مطالعه با توجه به نتایج، انتقال ژن نرعقیم سیتوپلاسمی به ارقام ایرانی درحال اجراست تا بتوان از این طریق ارقام نرعقیم سیتوپلاسمی و نگهدارندهٔ نرعقیم سیتوپلاسمی برای برنج ایرانی تولید گردد.

منابع

1) Govidaraj, K., Virmani, S. S. 2000. Allelism test for restorer genes of 6 promising IR lines. IRRI, Po Box 933, Manla, Phlippines.
2) Guimaraes, E.P., Cutrim, V.d., Mendonca, J.A. 1998. Developing hybrid rice in Brazil methedology, highlights, and prospects. In: Advances in hybrid rice technology. Edited by Virmani, S. S., Siddiq, E. A., Maralidhamn, K. p 378-387.
3) Maximos, M. A., Aidy, I. R. 1994. Hybrid rice research in Egypt . In: Virmani S. S., editor. Hybrid rice technology: new developments and future prospects. Manila (Philippines): International Rice Research Institute. p 227-233.
4) Minocha, J. L. and R.K. Gupta 1988. Induction of male sterility in rice using chemical mutagens. *Mutation Breeding Newsletter*. 32: 5-6.
5) Shinjyo, C. 1972a. Disribution of male sterility-inducing cytoplasms and fertility restoring genes in rice, 1. Commercial lowland rice in Japan. *Journal of Genetic*. 47:237-243.
6) Shinjyo, C. 1972b. Disribution of male sterility-inducing cytoplasms and fertility restoring genes in rice, 2. Varieties introduced from sixteen countries. Japan. *Journal of Breeding*. 22: 329-333.

جدول ۱- تلاقی‌های بین ارقام ایرانی و لاین های نر عقیم سیتوپلاسمی و رستورر

ژنوتیپ	درصد عقیمی دانه گرده ($\bar{X}$ ± Se)	درصد عقیمی خوشه ($\bar{X}$ ± Se)
ندا/ (ندا × IR-25A)	۹۸/۳۳ ± ۱/۶۶	۹۸/۷۷ ± ۰/۹۸
سفیدرود/ (سفیدرود × IR-25A)	۹۶/۳۳ ± ۱/۸۵	۹۶/۵۳ ± ۱/۹۳
طارم/ (طارم × IR-25A)	۹۰/۰۰ ± ۱/۲۰	۹۵/۵۹ ± ۰/۷۵
ندا/ (ندا × IR-84A)	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۹۹/۴۹ ± ۰/۲۹
سفیدرود × IR-84A	۱۹/۳۳ ± ۰/۶۷	۴۱/۰۶ ± ۴/۴۵
طارم × IR-84A	۴۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۴۰/۶۶ ± ۳/۳۴
ندا/ (ندا × IR-97A)	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۹۹/۱۲ ± ۰/۶۲
سفیدرود/ (سفیدرود × IR-97A)	۱۴/۰۰ ± ۳/۰۵	۹۶/۶۴ ± ۲/۰۶
ندا × Aخزر	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰/۰۰ ± ۰/۰۰
سفیدرود × Aخزر	۲۵/۰۰ ± ۲/۸۸	۲۶/۸۷ ± ۵/۱۸
طارم × Aخزر	۵۰/۰۰ ± ۲/۸۸	۵۸/۶۵ ± ۰/۸۳
طارم/ (IR-25A × R2)	۵/۳۳ ± ۰/۳۳	۲۷/۰۸ ± ۴/۶۵
سفیدرود/ (IR-25A × R3)	۳۵/۰۰ ± ۲/۸۸	۱۹/۰۴ ± ۴/۲۰
سفیدرود/ (IR-25A × IR-19R)	۶/۶۶ ± ۱/۶۶	۹/۴۵ ± ۲/۰۷
ندا/ (IR-97A × R2)	۳۵/۶۷ ± ۲/۳۳	۳۰/۰۳ ± ۱۴/۳۹