

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات برنج کشور

آموزش گام به گام تولید بذر دورگ (F₁) در گیاه برنج

نگارندگان:

دکتر مصطفی مدرسی، دکتر مهرزاد اله‌قلی‌پور
اعضای هیات علمی موسسه تحقیقات برنج کشور

دکتر سیده فاطمه دانیالی

دکتری اصلاح نباتات

پاییز ۱۴۰۱

نشریه‌ی شماره‌ی ۷۴

حق چاپ برای موسسه‌ی تحقیقات برنج کشور محفوظ است.

انتشارات موسسه تحقیقات برنج کشور

عنوان نشریه: آموزش گام به گام تولید بذر دورگ (F1) در گیاه برنج

نگارندگان: مصطفی مدرس، مهرزاد اله‌قلی‌پور، سیده‌فاطمه دانیالی

ناشر: انتشارات موسسه تحقیقات برنج کشور

ویراستاران علمی: علی‌اکبر عبادی، علیرضا نبی‌پور، علی مومنی

ویراستار ادبی: مهدی جلائیان

صفحه آرای: شهربانو حمیدزاده و فاطمه فرح‌دهر

طراحی جلد: مهدی جلائیان

چاپ اول: ۱۴۰۱

تیراژ: ۱۰۰۰ نسخه

قیمت: ۱۰۰۰۰ تومان

شماره‌ی ثبت: ثبت در مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع‌رسانی کشاورزی به شماره‌ی ۶۲۳۲۲ و تاریخ ۱۴۰۱/۷/۲۴ می‌باشد.

نشانی: رشت، کیلومتر ۵ جاده تهران، موسسه تحقیقات برنج کشور، صندوق پستی: ۱۶۵۸، کد پستی: ۴۱۹۹۶-۱۳۴۷۵

تلفن: ۰۱۳۳۳۶۹۰۰۵۲، دورنگار: ۰۱۳۳۳۶۹۰۰۵۱، وبسایت: <http://berenj.areeo.ac.ir>

مسئولیت صحت مطالب با نویسندگان است.

فهرست مندرجات

صفحه

عنوان

۳	۱- مقدمه.....
۵	۲- روش اجراء.....
۵	۱-۲- انتخاب گیاهان والدینی.....
۷	۲-۲- وسایل لازم برای انجام تلاقی.....
۷	۳-۲- کاشت و نگهداری از گیاهان والدینی.....
۱۰	۴-۲- تمهیدات لازم برای انجام تلاقی.....
۱۱	۱-۴-۲- روش اخته کردن با آب گرم.....
۱۲	۲-۴-۲- روش اخته کردن خوشه‌چه با پمپ مکش (خلأ).....
۱۴	۵-۲- گرده افشانی.....
۱۷	۶-۲- برداشت بذرهاى F1 حاصل از انجام تلاقی مصنوعی.....
۱۸	۳- قدردانی.....
۱۹	منابع.....

۱- مقدمه

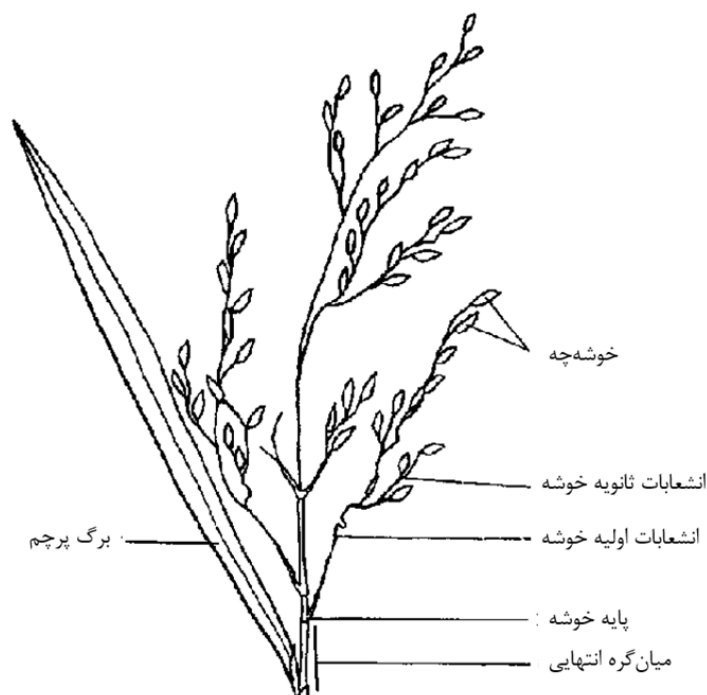
انتخاب لاین خالص یکی از روش‌های اولیه اصلاح برنج است که معمولاً بر انتخاب تک‌بوته‌ی مطلوب از میان توده‌ی یک ژنوتیپ بومی استوار می‌باشد. تاکنون با استفاده از این روش ارقام جدید زیادی به جوامع کشاورزی دنیا معرفی شده است، اما تنوع موجود در ژنوتیپ‌های محلی برای پاسخ به نیازهای به‌نژادگران کافی نیست. استفاده از دورگ‌گیری‌های مصنوعی می‌تواند به جبران این کمبود، افزایش تنوع و امکان انتخاب گیاهان مطلوب یاری رساند. تلاقی مصنوعی گیاهان در گذشته متداول بوده است، با این حال علم ژنتیک و اصلاح نباتات پس از تلاقی‌های هدفمند گرگور مندل روی لاین‌های خالص نخودفرنگی و مشاهدات دقیق و تجزیه و تحلیل نتاج حاصل، متولد شد.

درحال حاضر دورگ‌گیری مصنوعی و انتخاب در نسل‌های درحال تفکیک بر اساس روش شجره‌ای، متداول‌ترین شیوه‌ی اصلاحی در گیاه برنج است. بدین‌وسیله از طریق نوترکیبی ژنی، تنوع جدید ژنتیکی و بازآرایی ژن‌های لاین‌های والدینی حاصل می‌شود. روش تلاقی مصنوعی شامل انتخاب گیاهان پدری و مادری، انتخاب خوشه مناسب از والد مادری، اخته کردن آن و گرده‌افشانی با مقدار مناسبی از گرده والد پدری می‌باشد. با وجود این‌که روش‌های مختلفی برای اخته کردن گیاه برنج وجود دارد، دو روش استفاده از آب داغ و حذف مکانیکی بساک‌ها از طریق مکش با استفاده از پمپ خلأ، کاراترین و شایع‌ترین راه‌های انجام این فرایند هستند. علاوه براین؛ شناخت ژرم‌پلاسماهای والدینی، زیست‌شناسی رشد و تولیدمثل گیاه برنج، شرایط لازم برای بهبود گلدهی و رشد دانه‌ها و در نهایت تکنیک‌های هم‌زمان‌رسی والدین با دوره‌ی گلدهی متفاوت، دارای اهمیت می‌باشد.

جنس *Oryza L.* متعلق به قبیله‌ی *Oryzae*، زیرخانواده *Oryzoideae* و خانواده‌ی علفی *Poaceae* می‌باشد. این جنس دارای دو گونه‌ی زراعی برنج آسیایی (*Oryza sativa*) و برنج آفریقایی (*Oryza glaberrima*) و همین‌طور ۲۱ گونه وحشی است (شا، ۲۰۱۳). در میان دو گونه زراعی، برنج آسیایی دارای پراکنش کشت جهانی است، در حالی که گونه آفریقایی تنها در ناحیه محدودی از غرب آفریقا کشت می‌شود. گونه زراعی برنج آسیایی نیز دارای دو زیرگونه هندی (*O. sativa indica*) و ژاپنی (*O. sativa japonica*) است. تلاقی میان این گونه‌های مختلف برنج معمولاً منجر به عقیمی شده و نمی‌تواند طیف کاملی از گیاهان نوترکیب را تولید نماید (سینگ و همکاران، ۲۰۰۰).

در برنج دانه‌ها روی یک پانیکول آزاد (خوشه) که در امتداد بالاترین گره ساقه قرار دارد تولید می‌شوند. پانیکول برنج از انشعابات اولیه و ثانویه تشکیل شده است (شکل ۱). واحدهای گل خوشه‌ی برنج، خوشه‌چه نامیده می‌شود که شامل دو پوشینه دربرگیرنده یک گل می‌باشد. در منابع از هر دو

اصطلاح خوشه‌چه^۱ و گلچه^۲ برای نام‌گذاری یک گل منفرد برنج استفاده می‌شود. گل‌های برنج دوجنسی بوده و دارای مادگی، پرچم‌ها و لودیکول‌ها می‌باشند (شکل ۲). بخشی از دو پوشینه گلچه (لما و پالئا)، طی فرایند دورگ‌گیری مصنوعی حذف می‌شود. اجزای مادگی گل برنج شامل کلاله، خامه و تخمدان است. کلاله حالتی پرماند و دوشاخه دارد که دانه‌ی گرده روی آن ریخته می‌شود. همچنین هر گلچه دارای ۶ پرچم می‌باشد که هر کدام از دو بساک و یک پایه تشکیل شده‌اند (ایکدا و همکاران، ۲۰۰۴)



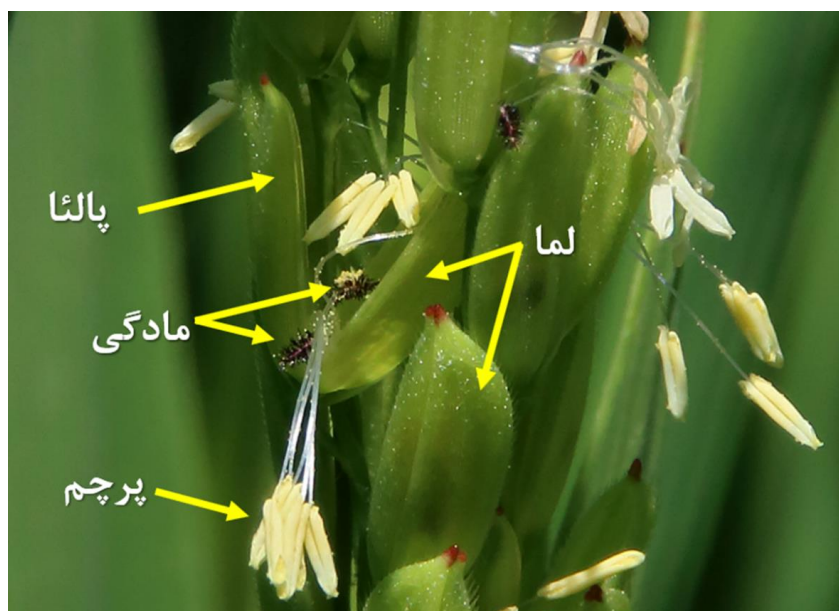
شکل ۱- ساختار مورفولوژیکی خوشه برنج (کتابخانه دیجیتال نیوزیلند، دانشگاه وایکاتو).

به مرحله‌ای که نوک خوشه‌ی برنج شروع به خروج از غلاف برگ پرچم می‌نماید، خوشه‌دهی گفته می‌شود. معمولاً بلافاصله پس از این مرحله، گلدهی یا گرده‌افشانی شروع می‌شود. گلدهی به فاصله بین باز شدن و بسته شدن گلچه اطلاق می‌شود که معمولاً ۲-۱/۵ ساعت طول می‌کشد. در طی این فرایند، قسمت نوک لما و پالئا باز شده، پایه‌ی بساک طویل می‌شود و بساک‌ها شروع به خروج از گلچه می‌نمایند و در عین حال شکوفا می‌شوند. در نهایت پوشینه‌ها بسته می‌شوند. شکوفایی بساک‌ها معمولاً در بین ساعت‌های ۱۱-۱۳ رخ می‌دهد که در این زمان گرده‌ها روی کلاله می‌افتند. دانه‌ی گرده پس از خروج از بساک تنها ۵ دقیقه زنده می‌ماند، در حالی که کلاله برای ۷-۳ روز توان

¹ Spikelet

² Floret

پذیرش دانه‌ی گرده را دارد (ایکدا و همکاران، ۲۰۰۴). البته طبق تجربه نگارندگان، بیشترین توان پذیرش دانه‌ی گرده توسط کلالة، در ۲۴ ساعت اول پس از اخته کردن مشاهده می‌شود.



شکل ۲- ساختار مورفولوژیکی خوشه‌چه (گلچه) برنج (اینترنت).

مهم‌ترین عوامل محیطی موثر بر رشد و نمو گل‌ها و تولید بذر شامل نور، حرارت و حاصلخیزی خاک هستند. برای هماهنگ‌سازی تاریخ گلدهی دو والد پدری و مادری باید از روش‌های مختلفی چون تاریخ‌های کاشت چندگانه، تیمار روزهای کوتاه، هرس و یا قرار دادن والدین در شرایط متفاوتی از دما و کودها استفاده نمود (فهر، ۱۹۹۱).

۲- روش اجرا

۲-۱- انتخاب گیاهان والدینی

اولین ضرورت در هر برنامه اصلاحی تولید یا تهیه تنوع ژنتیکی کافی، ارزیابی و انتخاب والدین و انجام تلاقی‌های هدفمند با هدف تشکیل جمعیت اصلاحی می‌باشد (سایچوک، ۲۰۱۴).
الف) انتخاب والدین در یک برنامه‌ی دورگ‌گیری مصنوعی بسته به هدف برنامه‌ی اصلاحی متفاوت است. به‌عنوان مثال چنانچه هدف از انجام پروژه ایجاد لاین مقاوم به بیماری بلاست با خصوصیات شبیه ارقام محلی باشد، یکی از ارقام بومی ایرانی یا رقم اصلاحی رایج با یک رقم مقاوم به بلاست تلاقی داده می‌شود. مانند رقم طلوع که حاصل تلاقی ارقام نعمت × علی‌کاظمی بوده و با حفظ خصوصیات کیفی رقم محلی، به بیماری بلاست هم مقاوم است (مومنی و همکاران، ۱۳۹۸).

ب) پیش از شروع دورگ‌گیری باید از خلوص بوته‌های مورد استفاده مطمئن بود. ابزارهای مختلفی چون زمان رسیدن، رنگ بخش‌های مختلف گیاه، ارتفاع گیاه، وجود و یا عدم وجود ریشک و موارد مشابه برای بررسی ظاهری خلوص گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. در صورت در اختیار بودن آزمایشگاه‌های مجهز می‌توان از انواع نشانگرهای مولکولی هم استفاده کرد.

ج) معمولاً برای راحتی کار از لاین‌های زودرس دارای بساک‌های بزرگ و یا خوشه کوچک به‌عنوان والد پدری و از لاین‌های دیررس به‌عنوان والد مادری استفاده می‌شود. هرچند به‌طور کلی انتخاب والدین بستگی به هدف و همچنین اثر مادری در رابطه با صفات هدف اصلاحی دارد.

د) لاین‌هایی که دارای صفات مغلوب قابل مشاهده (مانند رنگ کلاله و یا رنگ گوشوارک خاص) هستند معمولاً به‌عنوان والد مادری در نظر گرفته می‌شوند، زیرا به‌دلیل مغلوب بودن صفت، رنگ آن در گیاهان F_1 با گیاه مادری متفاوت بوده و در صورت خودگشنی ناخواسته به‌راحتی قابل تشخیص می‌باشد.

ح) استفاده از والدینی که از نظر تنوع ژنتیکی با یکدیگر قرابت ندارند (غیرخویشاوند)، در دورگ‌گیری و برنامه هیبریداسیون باعث استفاده از پدیده‌ی هتروزیس شده و همچنین طیف وسیعی از تنوع در نسل‌های در حال تفکیک ایجاد می‌شود که شانس انتخاب لاین‌های مناسب را بالا می‌برد. به‌عنوان مثال در شکل ۳، تفاوت ارتفاع یک توده بومی با کیفیت بالای برنج و در عین حال حساس به خوابیدگی بوته و کم‌محصول با یک رقم وارداتی پرمحصول، مقاوم به بلاست، مقاوم به خوابیدگی بوته و کیفیت پایین‌تر پخت مشاهده می‌شود.



شکل ۳- تفاوت مورفولوژی ارقام برنج والدینی مورد استفاده در یک فقره تلاقی. تفاوت در تیپ بوته و ارتفاع دو رقم گوهر (سمت راست) و بینام (سمت چپ) به وضوح قابل مشاهده است.

۲-۲- وسایل لازم برای انجام تلاقی

- ۱- پمپ خلأ (مکش) (در صورت عدم وجود این وسیله هم می توان گلچه های برنج را اخته نمود. در این صورت خارج کردن بساک ها باید به صورت دستی انجام شود).
 - ۲- لوله های شفاف (وینیل) با قطر داخلی ۶/۳۵ میلی متر
 - ۳- پیپت پاستور یک بار مصرف با طول ۱۴۶ میلی متر
 - ۴- دماسنج ۰-۱۰۰ درجه سلسیوس
 - ۵- قیچی کوچک به طول ۱۲ سانتی متر، تیز و باریک
 - ۶- کیسه های کاغذی (پرگامنت) با طول حدود ۵×۲۲ سانتی متر (شکل ۴).
- (در صورت قابل خرید نبودن این کیسه ها، کاغذ پرگامنت به صورت دستی برش داده شده و کیسه ها استفاده از چسب ساخته شوند).



شکل ۴- کیسه کاغذی پرگامنت

- ۷- نشان گذار (می توان از آبسلانگ و یا حتی چوب بستنی هم استفاده کرد).
- ۸- گیره کاغذ
- ۹- ظرف پلاستیکی بزرگ
- ۱۰- گلدان های پلاستیکی با قطر ۱۷-۱۵ سانتی متر و ۱۹-۱۷ سانتی متر عمق

۲-۳- کاشت و نگهداری از گیاهان والدینی

- کشت گیاهان پدری و مادری باید به گونه ای باشد که هر دو در یک زمان به گل بروند. بنابراین چنانچه یکی از والدین دیررس تر از دیگری است باید بسته به میزان دیررس بودن، زودتر کشت شود

تا هم‌زمانی گلدهی اتفاق بیافتد. همچنین می‌توان گیاهان زودرس را حدود ۱۵ سانتی‌متر بالاتر از سطح خاک قطع کرد و با دادن کود ازته مجبور به رشد مجدد و تولید راتون نمود تا در صورت لزوم با گیاهان دیررس تلاقی داده شود.

- چنانچه گیاهان والدینی در فایتوترون کشت می‌شوند، باید دمای روز در محدوده ۲۹-۳۵ درجه سلسیوس و دمای شب در محدوده ۲۲-۲۵ درجه سلسیوس تنظیم شود. همچنین باید میزان نور فایتوترون از طریق خورشید و یا منبع مصنوعی به گونه‌ای تنظیم شود که در محدوده ۱۰۰۰-۶۰۰ میلی‌مول بر مترمربع و طول دوره روشنایی ۱۴-۱۲ ساعت بوده و تنظیم رطوبت روی ۷۰-۶۰ درصد انجام شود.

- اگر گیاهان والدینی در گلدان کشت می‌شوند، بهترین بستر ترکیبی از رس (که تحت عملیات گل‌خرابی قرار گرفته است)، ماسه رودخانه و مواد آلی تخریب شده (مانند پیت‌ماس) به نسبت ۱:۲:۱ می‌باشد.

- از کودها به نسبت ۲/۲ گرم N، ۷/۶ گرم P_2O_5 و ۷/۶ گرم K_2O بر مترمربع پیش از بذریابی به خاک گلدان‌ها اضافه شود. در هر گلدان ۵ بذر خشک و یا جوانه‌دار شده قرار داده و گلدان‌ها در محیط مرطوب قرار داده شوند.

- پس از ۱۵-۲۰ روز، سه تا چهار گیاه را در هر گلدان نگه‌داشته و کود نیتروژن به میزان ۲۰-۱۵ گرم بر مترمربع اضافه شده و آبیاری به گونه‌ای انجام شود که سطح آب در گلدان‌ها ۴-۲ سانتی‌متر بالاتر از سطح خاک باشد (شکل ۵).



© 2020 Mostafa Modarresi

شکل ۵- کشت گیاهان والدینی در گلدان

- چنانچه کشت گیاهان والدینی در مزرعه مدنظر باشد، باید ابتدا کرت‌های خزانه به قطعات مجزا از هم تقسیم شوند تا فاصله کافی برای اطمینان از عدم اختلاط بذرها ایجاد شده و آنگاه بذرپاشی لاین‌های مختلف به دقت انجام شود. برای شماره‌گذاری والدین از اتیکت‌های چوبی استفاده می‌شود (شکل ۶).
- قبل از انتقال نشاها به زمین اصلی اتیکت‌هایی برای نوشتن شماره لاین تهیه شود تا پس از جمع‌آوری نشاها، اتیکت‌ها به وسیله بندهای پلاستیکی به دور نشاها بسته شده و احتمال اختلاط بین لاین‌ها وجود نداشته باشد (شکل ۶).
- پس از قرار دادن اتیکت هر تیمار، گیاهچه‌های مربوطه در مرحله ۳-۴ برگی به زمین اصلی منتقل و به‌صورت تک‌نشا و با فاصله 25×25 سانتی‌متر از یکدیگر، نشاکاری می‌شوند.



شکل ۶- بذرپاشی گیاهان والدینی در خزانه (چپ)، انتقال نشاء به زمین اصلی (راست)

- بوته‌های کشت شده به‌هنگام گلدهی بررسی شده و تعدادی از آن‌ها که دارای ۵-۶ خوشه مناسب می‌باشند (یک سوم تا دو سوم خوشه‌ها از غلاف خارج شده باشند) انتخاب می‌شوند. گیاهان با کمک بیل و به‌صورتی که آسیبی به ریشه آن‌ها وارد نشود از زمین اصلی خارج شده و به گلدان منتقل می‌شوند. نام والد مادری با استفاده از اتیکت به گلدان‌ها نصب می‌شود (شکل ۷).



شکل ۷- انتقال گیاهان والدی از زمین اصلی به گلدان پلاستیکی

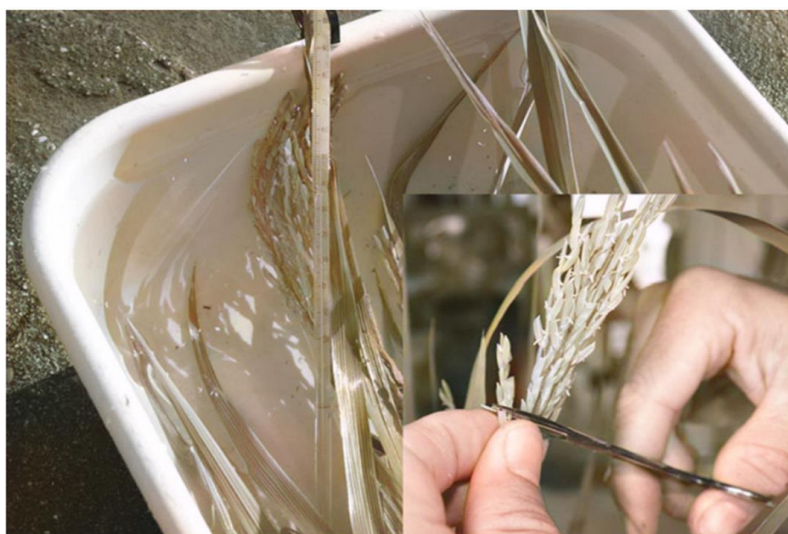
۲-۴- تمهیدات لازم برای انجام تلاقی

از میان روش‌های مختلف اخته کردن، استفاده از آب داغ و حذف مکانیکی با استفاده از پمپ خلاء رایج‌ترین و قابل اطمینان‌ترین روش‌ها هستند. همچنین در صورت کم بودن تعداد تلاقی‌ها و یا فقدان امکانات، می‌توان از ابزارهایی چون سوزن و یا پنس برای عقیم‌سازی گیاهان مادری استفاده نمود.

عقیم‌سازی با استفاده از آب داغ نخستین بار در یولاف توسعه یافت و سپس در برنج مورد استفاده قرار گرفت. اساس این روش بر این اصل استوار است که اندام نر (دانه‌های گرده) نسبت به اندام ماده (تخم‌دان و کلالة)، حساسیت بسیار بالاتری نسبت به دمای بالا دارد. چنانچه گلچه‌های برنج به مدت ۵ دقیقه در معرض آب با دمای ۴۵ درجه سلسیوس قرار بگیرند، دانه‌های گرده زنده‌مانی خود را از دست می‌دهند، اما کلالة هنوز فعالیت خود را حفظ می‌کند. روش استفاده از آب گرم برای اخته کردن انواع ژنوتیپ‌های برنج ایندیکا و انواع گرمسیری جاپونیکا و نیز در هوای صاف و آفتابی بسیار مناسب و کارآمد است. برای انواع برنج‌های مناطق معتدله جاپونیکا و نیز در شرایط بارانی و یا ابری، استفاده از پمپ خلاء و بیرون کشیدن بساک‌ها از گلچه، روش قابل اطمینان‌تری محسوب می‌شود (شا، ۲۰۱۳). البته ممکن است میان ارقام مختلف تفاوت جزئی در تعیین دما و زمان بهینه برای تیمار با آب گرم وجود داشته باشد، مثلاً در برزیل تیمار با دمای ۴۶ درجه سلسیوس و به مدت ۲/۵ دقیقه به‌عنوان بهترین تیمار گزارش شد (آگوئیار و همکاران، ۲۰۱۷)، با این وجود در این نوشتار از دستورالعمل رایج استفاده خواهد شد.

۲-۴-۱- روش اخته کردن با آب گرم

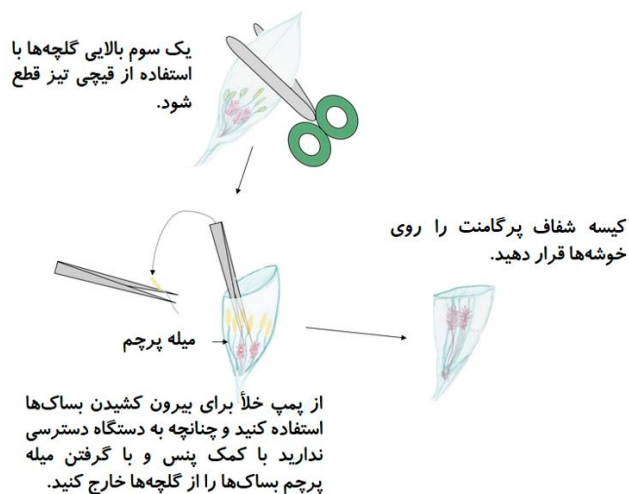
- این روش شامل غوطه‌ور نمودن گلچه‌ها در آب گرم است به‌صورتی که بدون آسیب‌زدن به مادگی، گرده‌ها را از بین ببرد.
- گیاهان مادری با چند خوشه سالم انتخاب کنید، خوشه‌ها به گونه‌ای باشند که ۱۵-۳۰ درصد گلچه‌های بالایی آن‌ها درحال گرده‌افشانی باشند.
 - گلدان‌های این گیاهان را از گلخانه خارج کرده و اجازه بدهید تا آب آن‌ها تخلیه شود.
 - با ترکیب آب گرم و سرد، آبی با دمای ۴۵ درجه سلسیوس آماده کنید.
 - برگ پرچم خوشه‌های انتخاب شده گیاه مادری را قطع کرده و خوشه‌ها را در آب گرم غوطه‌ور کنید و ۵ دقیقه به همان حال نگهدارید (شکل ۸). برای اجتناب از شکستن ساقه باید گلدان به‌وسیله یک میله فلزی بالاتر از ظرف آب گرم ثابت نگه داشته شود. هر دو دقیقه با افزودن مقداری آب گرم، دما را در محدوده ۴۵ درجه سلسیوس ثابت نگه دارید.
 - پس از ۵ دقیقه، خوشه‌ها را از آب گرم خارج نموده و با استفاده از ضربات ملایم، آب چسبیده به آن‌ها را بتکانید. کمی پس از آن، گلچه‌های آماده گرده‌افشانی در آن روز باز می‌شوند.
 - یک سوم بالایی خوشه‌ها را حذف نموده و تمام گلچه‌هایی را که تا ۲۰ دقیقه بعد از خارج شدن از آب گرم هنوز بسته هستند، حذف کنید. معمولاً ۲۰-۳۰ گلچه در هر خوشه آماده گرده‌افشانی خواهند بود.
 - پس از پایان اخته کردن، کیسه شفاف پرگامنت را روی خوشه‌ها قرار داده و با ثبت نام رقم و تاریخ اخته کردن، آن‌ها را به گلخانه بازگردانید.



شکل ۸- عقیم‌سازی با آب گرم (شا، ۲۰۱۳)

۲-۴-۲- روش اخته کردن خوشه چه با پمپ مکش (خلأ)

- فشار مکش پمپ خلأ روی ۶۰۰-۵۰۰ میلی متر جیوه تنظیم شود تا صرفاً بساک‌ها کشیده شوند و مادگی آسیب نبیند.
- روز قبل از اخته کردن، خوشه‌هایی که به تازگی از غلاف برگ پرچم خارج شده‌اند و هنوز گرده‌افشانی را شروع نکرده‌اند و یا در مراحل ابتدایی گرده‌افشانی می‌باشند، انتخاب شده و با پایین کشیدن برگ پرچم نشانه‌گذاری می‌شوند.
- گلچه‌هایی که گرده‌افشانی آن‌ها به پایان رسیده است با قیچی حذف شوند. گلچه‌های نارس پایین خوشه حذف شده و صرفاً گلچه‌هایی که طی روزهای بعد باز خواهند شد، باقی گذاشته شوند (حدود ۳۰-۲۵ گلچه) (شکل ۹).
- یک سوم بالایی گلچه‌ها با استفاده از قیچی تیز قطع شود (گلچه میان انگشت شصت و اشاره گرفته شده و در دست دیگر قیچی قرار گیرد).
- برای سهولت در حذف بساک‌ها برش با زاویه باز زده شود و یا چنانچه میسر است به صورت L برش داده شود (در این حالت مراقب آسیب ندیدن مادگی باشید).

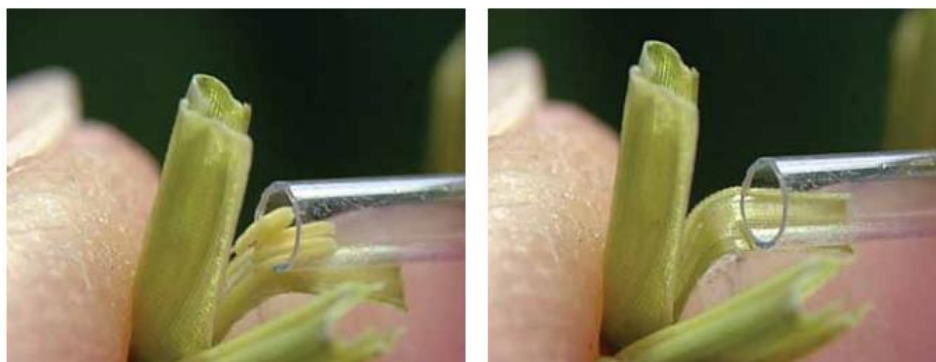


شکل ۹- شکل شماتیک اخته کردن گلچه‌های برنج (سوزان مک کوچ، دانشگاه کورنل، ایالات متحده امریکا).

- برای خارج کردن بساک‌ها نوک پیپت پاستور را به داخل گلچه برده و به آرامی بچرخانید. تا زمانی که صدای گرفتگی نوک پیپت توسط بساک‌ها قطع شد و جریان هوا برقرار گردید این حرکت را ادامه دهید (شکل‌های ۱۰ و ۱۱).



شکل ۱۰- اخته کردن با استفاده از پمپ خلأ (شا، ۲۰۱۳)



شکل ۱۱- حذف بساک‌ها با استفاده از مکش پمپ خلأ (کتابچه تولید بذر، دانشگاه لوئیزیانا ایالات متحده امریکا)

- چنانچه به دستگاه مکش دسترسی وجود ندارد، می‌توان از پنس برای بیرون کشیدن پرچم‌ها استفاده نمود (شکل ۱۲) و یا در صورت لزوم با استفاده از سوزن، بساک‌ها را از گلچه خارج نمود (شکل ۱۳).
- گلچه‌ها در پس‌زمینه نورانی بررسی شوند تا بساکی باقی نمانده باشد. چنانچه در یک گلچه بساک پاره شده دیده شد، گلچه برای اجتناب از خودگشنی حذف شود.
- پس از پایان اخته کردن، کیسه شفاف پرگامنت را روی خوشه‌ها قرار داده و با ثبت نام رقم و تاریخ اخته کردن، آن‌ها را به گلخانه بازگردانید.



شکل ۱۲- حذف بساک‌ها با استفاده از پنس (اینترنت).



شکل ۱۳- حذف بساک‌ها با استفاده از سوزن و در شرایط مزرعه. قرار دادن سوزن زیر بساک و روی میله پرچم (راست) و کشیدن به سمت بیرون برای خارج نمودن پرچم (چپ) (اینترنت).

۲-۵- گرده‌افشانی

به انتقال دانه‌ی گرده از والد پدری به والد مادری گرده‌افشانی گفته می‌شود، که می‌تواند به صورت طبیعی و یا مصنوعی انجام شود. والد مادری از زمان اخته شدن تا ۴ روز پس از آن توان پذیرش دانه‌ی گرده را دارد.

موفقیت یک برنامه تلاقی مصنوعی تا حد زیادی به فراوانی کافی دانه گرده والد پدری برای تلقیح گلچه‌های اخته‌شده بستگی دارد. همچنین باید مراقبت‌های زراعی برای محافظت از گیاهان گرده‌افشانی شده برای مقابله با حملات بیماری‌ها و آفات تشدید شود.

بهترین زمان برای اخته کردن با آب داغ ساعت ۸ تا ۹:۳۰ صبح می‌باشد و بهترین زمان برای اخته کردن با استفاده از مکش پمپ خلأ پیش از ۹ صبح و یا پس از ۳:۳۰ عصر است. گیاهان مادری اخته شده تا ۴-۳ روز توانایی پذیرش دانه گرده را دارند.

در یک روز معمولی آفتابی، بساک‌ها بین ساعت ۱۰:۳۰ صبح تا ۱ عصر شکوفا شده و گرده‌های خود را می‌پراکنند. از همین بازه زمانی برای گرده‌افشانی والد ماده استفاده می‌شود. اطلاعات مربوط به تلاقی با استفاده از کیسه‌های شفاف کاغذی روی گیاه ماده یادداشت می‌شود. این اطلاعات شامل نام گیاه مادری، تاریخ اخته کردن، اطلاعات گیاه پدری و تاریخ گرده‌افشانی می‌باشد. کیسه‌های شفاف باید بلافاصله پس از اخته کردن و یا گرده‌افشانی روی خوشه‌های گیاه مادری قرار بگیرند.

صبح روز تلاقی، به مزرعه (و یا گلخانه) رفته و از میان گیاهان نر، تعدادی خوشه که یک سوم تا دو سوم آن‌ها از غلاف خارج شده و احتمالاً در آن‌روز گرده‌افشانی خواهند نمود، از قسمت ساقه بریده می‌شوند (حدوداً ۱۰-۵ سانتی‌متر زیر گره انتهایی). برگ پرچم و گلچه‌های انتهایی خوشه که گرده‌افشانی آن‌ها به پایان رسیده است، حذف شده و خوشه‌ها در لیوان آب قرار گرفته و به اتاقک گرده‌افشانی منتقل خواهند شد (شکل ۱۴).



شکل ۱۴- انتخاب خوشه‌های مناسب به‌عنوان پایه پدری برای انجام تلاقی مصنوعی

اتاقک گرده‌افشانی محیطی ایزوله است که از ورود گرده سایر ارقام جلوگیری می‌کند. برای کمک به شکفته شدن گل‌ها از چند لامپ برای تولید گرما استفاده می‌شود (شکل ۱۵). در صورت لزوم از پاشش آب داغ بر بستر اتاقک گرده‌افشانی هم استفاده می‌شود تا گلچه‌های بیشتری شکوفا شوند.

با گذشت زمان، بساک‌ها از گلچه‌ها خارج شده و آماده گرده‌افشانی می‌گردند. گیاهان مادری به آرامی به اتاقک گرده‌افشانی منتقل شده و گرده‌افشانی مصنوعی انجام می‌شود. برای انجام گرده‌افشانی می‌توان از روش‌های مختلفی استفاده نمود. به‌عنوان مثال می‌توان بالای پوشش کاغذی

گل‌های اخته شده را برش زده و خوشه‌ی پدری را به آرامی درون پوشش کاغذی وارد نموده و با تکان دادن آن، گرده‌افشانی را انجام داد. و یا می‌توان پوشش کاغذی را برداشته و به آرامی خوشه پدری را در بالای خوشه‌های مادری تکان داد تا گرده‌ها به گل‌های ماده منتقل گردند (شکل ۱۶). معمولاً بهترین ساعت برای گرده‌افشانی بین ۱۱ تا ۱۳ می‌باشد.



شکل ۱۵- اتاقک گرده‌افشانی و خوشه‌های والد نر در حال آماده شدن برای خروج بساک‌ها و گرده‌افشانی



شکل ۱۶- گرده‌افشانی والد مادری

پس از پایان کار، مجدداً پوشش کاغذی روی خوشه‌ها قرار گرفته و نام والد پدري و مادري و تاريخ انجام تلاقي و شخص تلاقي دهنده روی پوشش کاغذی و همين طور اتيکت جداگانه‌ای متصل به گلدان گیاه مادري يادداشت می‌شود. حدود یک هفته بعد از گرده‌افشانی، از خوشه‌ها بازديد شده (شکل ۱۷) و در صورت عدم تشکیل دانه، عمل تلاقي مجدداً تکرار می‌شود.



شکل ۱۷- بررسی تشکیل بذر دورگ یک هفته پس از تلاقي

۲-۶- برداشت بذرهاي F_1 حاصل از انجام تلاقي مصنوعي

پس از انجام تلاقي، گلدان‌ها در محلی با نور و تهويه کافی قرار داده می‌شوند. گیاهان مرتباً آبیاری شده و برای مقابله با صدمه ساقه‌خوار برنج از آفت‌کش مناسب در چند نوبت استفاده می‌شود. حدوداً ۲۵-۳۰ روز پس از گرده‌افشانی، پاکت‌های محتوی خوشه‌ها برداشت خواهند شد (شکل ۱۸). پس از برداشت و جداکردن دانه‌ها (شکل ۱۹)، مشخصات بذرها ثبت خواهد شد. همچنین برای جلوگیری از آفت‌زدگی می‌توان از حشره‌کش‌های در دسترس استفاده نمود. سپس بذرها خشک شده تا رطوبت نمونه‌ها به حدود ۱۲ تا ۱۴ درصد کاهش یابد. در نهایت نمونه‌ها به سردخانه منتقل خواهند شد.



شکل ۱۸- برداشت خوشه‌های حامل بذر دورگ از گیاهان مادری



شکل ۱۹- برداشت بذر دورگ از گیاهان مادری

۳- قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات آقایان آرمان باباخانی، محمد محمدی، محمود صیادی فتمه‌سری، محمود لقمانی خرطومی، حسن ایران‌پرست چوبری و حمیدرضا مسیب‌زاده بازقلعه، کارشناسان بخش تحقیقات اصلاح و تهیه بذر ستاد موسسه تحقیقات برنج کشور بابت همکاری در پروژه‌های تلاقی مصنوعی برنج تشکر نمایند.

منابع

- مومنی، علی، خزائی، لیلا، عمواقلی طبری، مهرداد، بهادری، مجید، حاج امیری، مرضیه و کاظمی، افروز. ۱۳۹۸. مطالعه ترویجی وضعیت لاین امیدبخش اصلاحی AN74 با زمینه ژنتیکی ارقام برنج ایرانی در مزرعه کشاورزان در تعدادی از شهرستان‌های مختلف استان‌های مازندران و گیلان، موسسه تحقیقات برنج کشور، ۲۸ صفحه.
- Aguiar, G.A., Streck, E.A., Facchinello, P.H.K., Goulart, C., de Magalhães Junior, A.M. and da Maia, L.C., 2017. Hyperthermotherapy in the Rice Emasculation Process. *Journal of Experimental Agriculture International*, 18(4):1-10.
 - Fehr, W., 1991. Principles of cultivar development: theory and technique. Macmillian Publishing Company.
 - Ikeda, K., Sunohara, H. and Nagato, Y., 2004. Developmental course of inflorescence and spikelet in rice. *Breeding Science* 54, 147-156.
 - Saichuk, J. (Ed.). 2014. Louisiana rice production handbook. Louisiana State University Agricultural Center.
 - Sha, X., 2013. Rice artificial hybridization for genetic analysis. *Rice Protocols*. Springer, pp. 1-12.
 - Singh, R., Khush, G., Singh, U., Singh, A. and Singh, S., 2000. Breeding aromatic rice for high yield, improved aroma and grain quality. Singh, Singh and Khush (eds), *Aromatic Rices*, Oxford & IBH Publ, 71-106.

لیست نشریه‌های موسسه تحقیقات برنج کشور

شماره نشریه	عنوان	نویسنده (گان)	سال
۱	روش‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری ویژگی‌های کیفی دانه‌ی برنج	فاطمه حبیبی	۱۳۹۲
۲	کرم ساقه‌خوار نواری برنج (شناسایی، زیست‌شناسی، خسارت و کنترل)	فرزاد مجیدی	۱۳۹۲
۳	بیماری سوختگی باکتریایی برگ برنج	مریم خشکدامن	۱۳۹۲
۴	مراحل فنولوژی برنج	مجید نحوی و همکاران	۱۳۹۳
۵	خصوصیات برخی از ارقام محلی برنج در شرایط استان گیلان	مهرزاد اله‌قلی‌پور و همکاران	۱۳۹۳
۶	اصلاح روش اندازه‌گیری میزان آمیلوز در دانه‌ی برنج بر اساس روش ایزو ۶۶۴۷	فاطمه حبیبی و همکاران	۱۳۹۳
۷	بیماری سیاهک دروغی برنج	فریدون پاداشت و همکاران	۱۳۹۳
۸	معرفی‌نامه‌ی موسسه تحقیقات برنج کشور	فرامرز علی‌نیا و همکاران	۱۳۹۳
۹	پروانه‌ی تک‌نقطه‌ای برنج و روش‌های کنترل آن	فرزاد مجیدی	۱۳۹۳
۱۰	راهنمای استفاده از تراکتور دو چرخ و خاک همزن	علیرضا علامه	۱۳۹۳
۱۱	راهنمای ارزیابی مزارع برنج خسارت دیده	ناصر دوات‌گر و همکاران	۱۳۹۴
۱۲	زهرا به‌های قارچی در برنج	فریدون پاداشت و همکاران	۱۳۹۴
۱۳	اهمیت تغذیه برگی عناصر کم مصرف در کشت برنج	حسن شکرخواه	۱۳۹۴
۱۴	بومی‌سازی توسعه سریع نسل (RGA) در گیاه برنج	محسن قدسی و همکاران	۱۳۹۵
۱۵	تبدیل کاه و کلش برنج به کمپوست و موارد استفاده از آن	تیمور رضوی‌پور و همکاران	۱۳۹۵
۱۶	کلکسیون قارچ‌های برنج ایران	فریدون پاداشت و همکاران	۱۳۹۵
۱۷	پتاسیم در خاک و روش‌های عصاره‌گیری آن در خاک‌های شالیزاری	مسعود کاوسی	۱۳۹۵
۱۸	ضرورت مصرف کود سیلیکاته در اراضی شالیزاری	الهیار فلاح و همکاران	۱۳۹۵
۱۹	گیلان، رقم جدید برنج	مهرزاد اله‌قلی‌پور	۱۳۹۵
۲۰	دستورالعمل زراعی رقم جدید برنج، گیلان	مهرزاد اله‌قلی‌پور و همکاران	۱۳۹۶
۲۱	توده‌های محلی و ارقام برنج لنجان	احمد رضانی	۱۳۹۶
۲۲	کمبود روی، علل، علائم و راه‌کارهای مقابله با آن	شهرام محمودسلطانی	۱۳۹۶
۲۳	کوتولگی برنج و مدیریت آن	بیژن یعقوبی	۱۳۹۶
۲۴	دستورالعمل ملی کدگذاری لاین‌های اصلاحی برنج	مجید ستاری و همکاران	۱۳۹۶
۲۵	معرفی شب‌پره برگ‌خوار قهوه‌ای برنج (اولین گزارش خسارت در مزارع برنج شمال ایران)	مهرداد طبری و همکاران	۱۳۹۶
۲۶	سابقه کشت برنج در اصفهان	احمد رضانی	۱۳۹۶
۲۷	حلزون گیاهچه‌خوار برنج <i>Succinea putris</i> (زیست‌شناسی و کنترل)	مهرداد طبری و همکاران	۱۳۹۶
۲۸	اکولوژی برنج	الهیار فلاح و همکاران	۱۳۹۷
۲۹	استفاده از روش میلگارد در ارزیابی خواص حسی برنج	فاطمه حبیبی و همکاران	۱۳۹۷

لیست نشریه‌های موسسه‌ی تحقیقات برنج کشور (ادامه)

شماره نشریه	عنوان	نویسنده (گان)	سال
۳۰	کرم سبز برگ‌خوار برنج و کنترل آن	فرزاد مجیدی‌شیل‌سر	۱۳۹۷
۳۱	تغذیه روی در سیستم‌های کشت برنج	شهرام محمودسلطانی	۱۳۹۷
۳۲	کاربرد جهش‌القایی در اصلاح برنج	علیرضا نبی‌پور و همکاران	۱۳۹۷
۳۳	کشت برنج در اراضی شالیزاری بدون انجام عملیات گل‌خرابی	رضا اسدی	۱۳۹۷
۳۴	تاثیر پارابویل بر خصوصیات تبدیل و کیفیت برنج	عاصفه لطیفی	۱۳۹۷
۳۵	تنش خشکی و تاثیر آن بر رشد و عملکرد برنج	علی‌اکبر عبادی و همکاران	۱۳۹۷
۳۶	دستورالعمل پخت برخی ارقام محلی و اصلاح شده برنج مازندران	ناهید فتحی و همکاران	۱۳۹۸
۳۷	مروری بر کشت مستقیم برنج با تأکید بر مدیریت علف‌های هرز	بیژن یعقوبی و همکاران	۱۳۹۸
۳۸	استفاده از تله نوری و درجه حرارت موثر روزانه برای تعیین زمان مناسب ساقه‌خوار نواری برنج	فرزاد مجیدی‌شیل‌سر	۱۳۹۸
۳۹	تاثیر تنش شوری بر مراحل مختلف رشدی گیاه برنج و راهکارهای مقابله با آن	الهیار فلاح	۱۳۹۸
۴۰	آنام، رقم جدید برنج	مهرزاد اله‌قلی‌پور و همکاران	۱۳۹۸
۴۱	مدیریت تولید برنج در روش خشکه‌کاری	عبدالعلی گیلانی	۱۳۹۸
۴۲	دستورالعمل زراعی رقم جدید برنج، آنام	مهرزاد اله‌قلی‌پور و همکاران	۱۳۹۸
۴۳	زیست‌شناسی و مدیریت علف‌هرز مهاجم سل‌واش در شالیزار	بیژن یعقوبی و همکاران	۱۳۹۸
۴۴	دستورالعمل پخت سه رقم جدید برنج (گیلان، رش و آنام)	مهرزاد اله‌قلی‌پور و همکاران	۱۳۹۹
۴۵	پرورش نشای مناسب کشت مکانیزه برنج بدون نیاز به جعبه نشاء در شرایط شیوع ویروس کرونا	بهمن امیری لاریجانی و همکاران	۱۳۹۹
۴۶	اصول و مبانی ایمنی کار در آزمایشگاه زیست فناوری	علی‌اکبر عبادی و همکاران	۱۳۹۹
۴۷	دستورالعمل تولید برنج به‌روش کشت مستقیم در بستر خشک (استان گلستان)	علیرضا کیانی و همکاران	۱۳۹۹
۴۸	راهکارهای مدیریت کنترل و ایجاد مقاومت به بیماری بلاست در برنج (با تأکید بر تکنیک‌های مولکولی)	مریم حسینی چالشتی و همکاران	۱۳۹۹
۴۹	دستورالعمل فنی تولید تربیتیکاله به‌عنوان کشت دوم در اراضی شالیزاری (اقلیم گرم و مرطوب)	روح‌اله یوسفی و همکاران	۱۳۹۹
۵۰	روش‌های تشخیص خلوص و کیفیت ارقام برنج	ناهید فتحی و همکاران	۱۳۹۹
۵۱	طلوع، رقم جدید پرمحصول، مقاوم به بلاست و کیفی برنج	علی مومنی و همکاران	۱۳۹۹
۵۲	دستورالعمل زراعی رقم جدید برنج، «تیساً»	رحمان عرفانی و همکاران	۱۳۹۹
۵۳	دستورالعمل زراعی رقم جدید برنج، «طلوع»	علی مومنی و همکاران	۱۳۹۹
۵۴	خلأ عملکرد برنج و عوامل زراعی موثر بر آن	فاطمه فرح‌دهر و همکاران	۱۴۰۰
۵۵	گوگرد، عنصری تاثیرگذار بر گیاه برنج	شهرام محمودسلطانی	۱۴۰۰
۵۶	حذف بوتاکلر، پرمصرف‌ترین علف‌کش شالیزار و معرفی علف‌کش‌های جایگزین	بیژن یعقوبی	۱۴۰۰

لیست نشریه‌های موسسه‌ی تحقیقات برنج کشور (ادامه)

شماره نشریه	عنوان	نویسنده (گان)	سال
۵۷	دستورالعمل زراعی رقم جدید برنج "رش"	علیرضا ترنگ	۱۴۰۰
۵۸	پیش‌تیمار بذر با عناصر کم‌مصرف (بهبود رشد محصولات و غنی‌سازی دانه)	شهرام محمودسلطانی و همکاران	۱۴۰۰
۵۹	دستورالعمل فنی تولید برنج سالم و ارگانیک	عباس شهدی کومله	۱۴۰۰
۶۰	مدیریت فنی تولید محصول برنج	مرتضی نصیری	۱۴۰۰
۶۱	عوامل مؤثر بر بیماری سوختگی غلاف برگ برنج و راه‌های مبارزه با بیماری	مریم خشکدامن و همکاران	۱۴۰۰
۶۲	ویژگی‌های خاک خزانه و تغذیه گیاهچه برنج در خزانه	شهرام محمودسلطانی و همکاران	۱۴۰۰
۶۳	گیلار رقم جدید برنج	مهرزاد اله‌قلی‌پور و همکاران	۱۴۰۰
۶۴	توصیه‌های فنی برداشت برنج	روح‌اله یوسفی	۱۴۰۰
۶۵	دستورالعمل زراعی کشت مجدد برنج در حوضه آبریز هراز استان مازندران	الهیار فلاح	۱۴۰۰
۶۶	کیان رقم جدید برنج متحمل به تنش خشکی	علی‌اکبر عبادی و همکاران	۱۴۰۰
۶۷	دستنامه مدیریت زراعی شالیزار	گروه مولفان	۱۴۰۰
۶۸	شناسایی و مدیریت گونه مهاجم سوروف (<i>Echinochloa oryzoides</i>) در شالیزار	فرزین پورامیر و همکاران	۱۴۰۰
۶۹	دستنامه فنی-اجرایی ارتقاء بهره‌وری آب زراعت برنج	محمد رضا یزدانی و همکاران	۱۴۰۰
۷۰	دستورالعمل زراعی رقم جدید برنج «کیان»	علی‌اکبر عبادی و همکاران	۱۴۰۱
۷۱	مباحث کاربردی در زمینه مصرف نیتروژن، فسفر و پتاسیم در شالیزار	حسن شکری واحد	۱۴۰۱
۷۲	توصیه‌های فنی عملیات پس از برداشت برنج	کبری تجددی طلب	۱۴۰۱
۷۳	مدیریت علف‌هرز روغن‌واش در شالیزار	بیژن یعقوبی و همکاران	۱۴۰۱
۷۴	آموزش گام به گام تولید بذر دورگ (F1) در گیاه برنج	مصطفی مدرسی و همکاران	۱۴۰۱

علاقه‌مندان به خرید نشریه می‌توانند به آدرس موسسه‌ی تحقیقات برنج کشور مکاتبه نموده یا با مسئول کتابخانه‌ی

موسسه تماس حاصل فرمایند. شماره‌ی تماس: تلفن: ۰۱۳-۳۳۶۹۰۰۵۲ داخلی ۲۲۳؛ دورنگار: ۰۱۳-۳۳۶۹۰۰۵۱