مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۵ ، شماره ۲، سال ۱۳۸۸

تجزیه ژنتیکی صفات درجه حرارت ژلاتینه شدن و میزان آمیلوز در برنج (*Oryza sativa* L.)

Genetic Analysis of Gelatinization Temperature and Amylose Contents in Rice (*Oryza sativa* L.)

شعله کیانی[۱]، سید کمال کاظمی تبار[۲]، غلامعلی رنجبر[۲]، نادعلی بابائیان جلودار[۳] و محمد نوروزی[٤]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه مازندران، ساری
۲ و ۳ به ترتیب استادیار و استاد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه مازندران، ساری
٤- کارشناس، معاونت مؤسسه تحقیقات برنج، آمل

تاریخ دریافت: ۱۳۸٦/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۷/۲۷

چکیده

کیانی، ش.، کاظمی تبار، س. ک.، رنجبر، غ.، بابائیان جلودار، ن.، و نوروزی، م. ۱۳۸۸. تجزیه ژنتیکی صفات درجه حرارت ژلاتینه شدن و میزان آمیلوز در برنج (*Oryza sativa* L.). **مجله به نژادی نهال و بذر ۱-۲۵: ۲۴۳-۲۳۱.**

درجه حرارت ژلاتینه شدن و میزان آمیلوز از صفات مهم تعیین کیفیت برنج هستند. در این بررسی از چهار رقم برنج والدینی سنگ طارم، گرده ،IR_{229} و $IRRI_2$ در دورگ گیری استفاده شد. برای شناخت خصوصیات ژنتیکی و نحوه توارث صفات مورد نظر، دو رگ گیری مستقیم ومتقابل بین والدین سنگ طارم و گرده و نیز IR_{229} و $IRRI_2$ انجام شد . نحوهٔ توارث صفات مورد نظر در تلاقی های مستقیم و معکوس برای میزان آمیلوز با دامنه های بالا و متوسط و پایین و درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین و متوسط مطالعه شد. از بین تلاقی های ممکن، از نسل های P_1، P_2، F_1، F_2، Bc_1 و Bc_2 و تلاقی های معکوس آن ها برای ارزیابی استفاده شدند. نتایج حاصل غالبیت درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط بر پایین و آمیلوز بالا بر متوسط و پایین را نشان داده است. در تلاقی های مستقیم و معکوس گرده سنگ طارم و $IRRI_2 / IR_{229}$ مشخص شد که درجه حرارت ژلاتینه شدن و میزان آمیلوز به وسیله یک ژن اصلی به همراه چندین ژن تغییر دهنده کنترل می شوند. اثر دُز ژن در ایجاد تفرق بین صفات نقش مهم و موثری داشت. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که برای صفت میزان آمیلوزانتخاب می تواند در نسل های تفکیک بالا و برای صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن در نسل های اولیه به طور موثر انجام شود.

واژه های کلیدی: برنج، نحوه توارث، کیفیت پخت، میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینه شدن، اثر دُز ژن.

نویسنده مسئول: shlhkiani@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

درجه حرارت ژلاتینه شدن و میزان آمیلوز از صفات کیفی برنج هستند که درارزیابی کیفیت پخت از اهمیت ویژه ای برخوردارند. درجه حرارت ژلاتینه شدن مدت زمان لازم جهت پخت دانه های برنج است (Heda and Reddy, 1986). این صفت از خصوصیات فیزیکی نشاسته است که در آن مولکول های نشاسته به طور غیر قابل برگشتی در آب گرم شروع به انبساط می کنند. میزان درجه حرارت ژلاتینه شدن از ۵۵ تا ۷۹ درجه سانتی گراد متغیر است. ارقامی با درجه حرارت ژلاتینه شدن ۵۵ الی ۶۹ درجه سانتی گراد به عنوان درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین با نمره ۶ و ۷، ارقام با درجه حرارت ژلاتینه شدن ۷۰ الی ۷۴ درجه سانتی گراد به عنوان درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط با نمره ۴ و ۵ و ارقام با درجه حرارت ژلاتینه شدن ۷۵ الی ۷۹ درجه سانتی گراد به عنوان ارقام با درجه حرارت ژلاتینه شدن بالا با نمره ۲ و ۳ طبقه بندی می شوند (Khush *et al*., 1979). در ارقام با درجه حرارت ژلاتینه شدن بالا، برنج پخته شده سفت و خشک می شود، در صورتی که در ارقام با درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین، برنج پخته شده حالت چسبنده دارد. از روی این خاصیت به طور مستقیم می توان به چگونگی پخت ارقام پی برد.

میزان آمیلوز در آندوسپرم دانه برنج متغیر است که این تغییرات بعد از پختن برنج با اشکال مختلف نمایان می شود. میزان آمیلوز نقش بسیار تعیین کننده ای در کیفیت پخت و مصرف برنج دارد. میزان آمیلوز برای ارقام مختلف به سه دسته طبقه بندی می شوند، میزان درصد کم آمیلوز مقادیر کمتر از ۲۰ درصد، میزان متوسط بین ۲۰ تا ۲۵ درصد و میزان بالای آن مقادیر بالای ۲۵ در صد است (Kumar and Khush, 1987). مقدار کم آن در برنج سبب می شود که برنج پس از پخت چسبنده و لعاب دار شده و انبساط حجمی پیدا نکند، در حالی که مقدار زیاد آمیلوز (آمیلوز بالا) موجب می شود که برنج بعد از پخت سفت و خشک شود، بنابراین مهم ترین میزان آن حد متوسطی از میزان آمیلوز است که در این حالت برنج بعد از پخت نرم و مرطوب مانده و پس از سرد شدن سخت نمی شود.

هدا و ردی (Heda and Reddy, 1986) میزان آمیلوز و درجه حرارت ژلاتینه شدن را دو صفت مهم در کیفیت پخت برنج دانستند که میزان آمیلوز بافت برنج پخته شده و درجه حرارت زلاتینه شدن مدت زمان پخت برنج را تعیین می کند. هایدلبرگ و لی (Heidelberg and Li, 1999) ضمن مطالعه ای روی برنج هیبرید indica/japonica مشاهده کردند که یک ژن بزرگ اثر و یک ژن کوچک اثر درجه حرارت ژلاتینه شدن را کنترل می کنند و هر دو آن ها روی کروموزوم ۶ مکان یابی شدند، هم چنین از طریق ایجاد دابلد هاپلوئید در کشت بساک

Archive of SID

www.SID.ir

هیبرید مذکور مشاهده کردند که برای مقدار آمیلوز نیز یک ژن کوچک اثر و یک ژن بزرگ اثر به ترتیب روی کروموزوم های ۲ و ۷ قرار دارند. تان و همکاران (Tan *et al*., 1999) ارتباط بین سه صفت میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینه شدن و قوام ژل را بسیار نزدیک بیان کردند به طوری که در رابطه با تجزیه ژنتیکی بر مبنای مارکرهای مولکولی فقط دو نوع رابطه والدینی از این صفات را به صورت GTبالا/GC نرم/AC پایین یا GT پایین /GC سخت/ AC بالا عنوان کردند. جنینگز و همکاران (Jennigs *et al*., 1979) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که نحوهٔ توارث درجه حرارت ژلاتینه شدن چندان روشن نیست ولی به نظر می رسد که دارای نحوهٔ توارث ساده همراه با یک یا دو ژن اصلی باشد. تان و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعات خود مربوط به تجزیه ژنتیکی بر مبنای مارکرهای مولکولی در سه صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن، قوام ژل و میزان آمیلوز با استفاده از سه جمعیت F_2، $F_{2:3}$ و F_9 که حاصل از ترکیب والدین اینبرد لاین Shanyou 63 بود دریافتند که هر سه صفت توسط یک مکان ژنی کنترل می شوند و این مکان ژنی در منطقه W_x در روی بازوی کوتاه کروموزوم ۶ قرار دارد و نشان دهنده این است که هر سه صفت توسط مکان ژنی W_x کنترل می شوند. غلام فاروق و همکاران (Golam Farug *et al*., 2004) نحوه توارث صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن را در سه رقم بومی مالزی در نسل F_2 بررسی کردند، تجزیه بذرهای نسل F_2 حاصل از تلاقی Mahsuri mutant × Mahsuri با درجه حرارت ژلاتینه شدن (بالا × متوسط) دارای دو کلاس با نسبت ۳ متوسط: ۱ بالابود که نشان می داد این صفت توسط یک ژن اصلی یا حداقل دو مکان ژنی کنترل می شود. در تلاقی بین ارقام Mahsuri × 9192 با درجه حرارت ژلاتینه شدن (متوسط × متوسط) فقط یک منحنی با دمای ژلاتینه متوسط را نشان داد که از الگوی مندلی نیز پیروی نمی کرد. این نتایج نشان دهنده پیچیدگی این صفت است.

به دلیل تریپلوییید بودن آندوسپرم و نقش متفاوتی که هر یک از والدین (پدری و مادری) در آندوسپرم نسل اول (F_1) دارند، انتظار می رود که بیان متفاوتی از صفت در آندوسپرم نتاج مشاهده شود. هدف از انجام این آزمایش بررسی نحوه توارث دو ویژگی درجه حرارت ژلاتینه شدن و قوام ژل و مطالعه تعیین اثر دُز ژن والدین بر سطوح متفاوت این صفات بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه از چهار رقم برنج سنگ طارم، گرده، IR_{229} و $IRRI_2$ به عنوان والدین برای دو رگ گیری استفاده شد. والدین انتخابی دارای سطوح متفاوتی از صفات مورد مطالعه بودند. (جدول ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

به منظور شناخت نحوه توارث صفات، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۴ انجام شد. در این آزمایش بین دو والد سنگ طارم و گرده و نیز IR_{229} و $IRRI_2$ تلاقی دوطرفه به صورت $P_1 \times P_2$ و $P_2 \times P_1$ انجام شد. بذرهای F_1 حاصل در سال دوم کاشته شدند و در زمان گلدهی نیمی از بوته ها با هر دو والد تلاقی داده شد و نیم دیگر بوته های F1 خودگشن شدند تا بذرهای F_2 حاصل شود. بدین ترتیب ده نسل مختلف شامل بذرهای هیبرید نسل اول و دوم (F_2 و F_1)، تلاقی برگشتی با والد اول (BC_1)، تلاقی برگشتی با والد دوم (BC_2) و تلاقی های معکوس (Reciprocal) کلیه نسل ها، به همراه بذرهای والدینی یعنی: P_1، P_2، F_1، RF_1، BC_1، BC_2، RBC_1، RBC_2، F_2 و RF_2 مورد بررسی قرار گرفتند. دو ماه پس از برداشت، کلیه بذرهای جهت اندازه گیری صفات مورد بررسی به آزمایشگاه تعیین کیفیت موسسه تحقیقات برنج کشور منتقل و مورد تجزیه قرار گرفتند. تعداد بذر مورد نیاز برای هر تجزیه برای والدها و F_1 بین ۲۰-۳۰ عدد (هر ده عدد بذر یک تکرار)، برای F_2 بین ۳۵۰-۴۰۰ بذر و برای هر تلاقی برگشتی ۴۰-۸۰ بذر بود (Kumar and Khush, 1988; Mckenzie and Rutger,1983). برای اندازه گیری صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن روش لیتل و همکاران (Little *et al*., 1958) و برای تعیین میزان آمیلوز از روش جولیانو (Juliano, 1971) با استفاده از اسپکتروفتومتری استفاده شده است.

آندوسپرم بذرهای والدین و تلاقی ها برای تعیین میزان هر یک از صفات در دو تکرار مورد تجزیه قرار گرفتند و داده های به دست آمده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، تجزیه واریانس شدند و از تلاقی معکوس به منظور تعیین اثر دُز ژن استفاده شد. تجزیه واریانس برای هر صفت به طور جداگانه انجام و اشتباه استاندارد مربوطه محاسبه شد. برای محاسبه تغییرات ناشی از هر دُز ژن در یک صفت، مقدار آن صفت، در یکی از دو والدی که در هر تلاقی از سطح بالاتری از میزان آن صفت برخوردار بود به عنوان صد (دارای سه دُز ژن) و میزان صفت دارای مقدار پایین، به عنوان دُز صفر در نظر گرفته شد و به همراه دو تلاقی مستقیم و معکوس بین دو والد، به صورت درصدی از والد برتر تعیین شد. درصد تغییرات برای هر دُز ژن با کم کردن میزان دُز بالاتر از میزان دُز پایین تر به دست آمد و از آزمون دانکن در سطح احتمال یک در صد برای مقایسه اختلافات اثر دُز ژن استفاده شد.

نتایج و بحث

مشخصات ارقام برنج استفاده شده در این آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- مشخصات ارقام برنج استفاده شده در آزمایش

Table 1. Characteristics of rice cultivars used in the experiment

Cultivars	Origin	Height (cm)	GT	GC (mm)	AC (%)
Sang-e-Tarrom	Landrace (Iran)	Tall	3.3	33.8	22.89
Gerdeh	Landrace (Iran)	Tall	6.1	45.5	19.91
IR_{229}	IRRI	Tall	6.3	19.3	27.16
$IRRI_2$	IRRI	Short	7.0	33.2	24.85

GT : درجه حرارت ژلاتینه شدن GC : قوام ژل AC : میزان آمیلوز IRRI : مؤسسه بین المللی تحقیقات برنج

GT: Gelatinization Temperature; GC: Gel Consistency; AC: Amylose Content;
IRRI: International Rice Research Institute

مقایسه نسل های مختلف در تلاقی گرده/ سنگ طارم از نظر درجه حرارت ژلاتینه شدن

والد مادری یعنی سنگ طارم دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط به بالا (۳/۳) و والد پدری یعنی گرده دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین (۶/۱) بود. میانگین درجه حرارت ژلاتینه شدن F_1 در تلاقی گرده/سنگ طارم حدود ۳/۷ و میانگین درجه حرارت ژلاتینه شدن F_1 در تلاقی معکوس سنگ طارم/گرده حدود۴/۸ بود و بین تلاقی مستقیم و معکوس اختلاف معنی داری وجود داشت که نشان دهنده اثر دُز ژن است. هر دو F_1 در گروه درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط قرار گرفتند.

نتایج حاصل از درجه حرارت ژلاتینه شدن ۳۰۶ بذر نسل F_2 در تلاقی گرده/سنگ طارم دارای دو کلاس بود که۲۳۴ بذر دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط و ۷۲ بذر دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین بودند و نسبت ۳:۱ (χ^2 = ۰/۳۵) را نشان دادند. از تجزیه ۴۸ بذر BC_1، ۴۶ بذر دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط و تنها ۲ بذر دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین بودند، اگر چه اختلاف معنی داری بین صفر دُز و دو دُز ژن وجود داشت ولی با توجه به وجود درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط در هر دو حالت، هر دو دسته در یک کلاس قرار گرفتند.

منحنی حاصل از تجزیه۵۰ بذر BC_2 دارای دوکلاس بود که با توجه به اختلاف معنی دار بین یک و سه دُز ژن، ۳۰ بذر در یک کلاس با درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط و ۲۰ بذر با درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین در کلاس دیگر قرار گرفتند که این نتایج حاکی از نسبت متناسب با ۳:۱ (P= ۰/۵-۰/۷۵ ، ۲ =χ^2) بود.

در این آزمایش تفکیک متجاوز در نسل های F_2، BC_1 و BC_2 برای هر دو والد مشاهده شد.

جدول ۲ نشان می دهد که از تجزیه جمعیت های F_1، BC_1 و BC_2 در تلاقی معکوس (سنگ طارم/ گرده) نیز نتایجی مشابه فوق حاصل شد. از تجزیه۲۸۸ بذر در نسل F_2

Archive of SID

www.SID.ir

حاصل از تلاقی سنگ طارم/گرده، ۲۲۵ بذر دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط و ۶۳ بذر دارای درجه حرارت ژلاتینه پایین بودند که نشان دهنده دو کلاس با نسبت ۳:۱ بود.

در تجزیه ۴۶ بذر BC_1 در تلاقی سنگ طارم× (سنگ طارم/گرده) ۴۴ بذر در یک کلاس با درجه حرارت ژلاتینه متوسط و تنها ۲ بذر در کلاس دیگر با درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین قرار گرفتند که حداکثر فراوانی در محدوده درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط مشاهده شد. منحنی حاصل از تجزیه ۵۰ بذر دو کلاس بود که ۲۴ بذر در یک کلاس و۲۶ بذر در کلاس دیگر قرار گرفتند که متناسب با نسبت ۱:۱ (P = ۰/۵-۰/۷۵، χ^2 = ۰/۰۸) بود.

نتایج حاصل نشان دهنده این است که صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن تحت کنترل یک ژن اصلی است. در این ارتباط مکنزی و روتگر (۱۹۸۳) از تلاقی درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط با درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین، آن را تحت کنترل یک یا چند ژن افزایشی با اثر اصلی گزارش کردند.

مقایسه نسل های مختلف در تلاقی $IR_{229}/IRRI_2$ از نظر درجه حرارت ژلاتینه شدن

از آن جائی که در این تلاقی هر دو والد در تقسیم بندی این صفت جزء درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین به حساب می آیند، میانگین F_1 های آن ها در تلاقی های مستقیم و معکوس تقریباً بین دو والد قرار گرفت و کلیه نسل ها دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین بودند. در تجزیه ۲۰۴ بذراز نسل F_2 حاصل از تلاقی $IR_{229}/IRRI_2$ و تلاقی های معکوس آن یک کلاس مشاهده شد که تنها ۱۲بذر دارای درجه حرارت ژلاتینه شدن با نمره متوسط بودند. بنابراین، به دلیل تشابه بسیار نزدیک بین والدین و F_1 هیچ کلاس دیگری در F_2 یا بک کراس ها در تلاقی مستقیم و معکوس مشاهده نشد (جدول ۲).

مقایسه نسل های مختلف در تلاقی سنگ طارم/ گرده از نظر میزان آمیلوز

والد مادری (گرده) دارای میزان آمیلوز پایین (۰/۲±۱۹/۹۱) و والد پدری (سنگ طارم) دارای میزان آمیلوزمتوسط (۰/۰۸±۲۲/۸۹) و تفاوت دو والد حدود ۳٪ بود. میانگین میزان آمیلوز در F_1 حاصل از تلاقی این دو والد (سنگ طارم×گرده) با یک دُز ژن برای میزان آمیلوز متوسط، حدود ۰/۲۲±۲۵/۲۱ درصد بود که نشان دهنده ایجاد هتروزیس است. میانگین میزان آمیلوز در F_1 حاصل از تلاقی معکوس (گرده× سنگ طارم) با دو دُز ژن برای میزان آمیلوز متوسط ، حدود ۰/۴۷±۲۲/۴۷ بود که این اختلافات حاکی از حضور اثر دُز ژن و نیز غالبیت میزان آمیلوز متوسط بر پایین بود.

میزان آمیلوز حاصل از تجزیه بذرهای نسل F_2 حاصل از تلاقی سنگ طارم /گرده در یک کلاس قرار گرفت که ناشی از اختلاف اندک بین والدین و F_1 بود. در تجزیه ۴۱۵بذر

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- نحوه تفکیک درجه حرارت ژلاتینه شدن در دو تلاقی ارقام برنج برای ده نسل

Table 2. Segregation for gelatinization temperature in two crosses of rice cultivars for ten generations

والدین/تلاقی Parent/cross	نسل Generation	تعداد گیاهان مشاهده شده Number of plants observed: بالا high	متوسط Intermediate	پایین Low	کل Total	نسبت value	χ^2	احتمال Probability
Sang-e-Tarrom		_	30	_	30	_	_	_
Gerdeh		_	_	30	30	_	_	_
IR_{229}		_	_	30	30	_	_	_
$IRRI_2$		_	_	30	30	_	_	_
ST/G	F_1	_	30	_	30	_	_	_
G/ST	RF_1	_	30	_	30	_	_	_
	F_2	_	234	72	306	3:1	0.35	
	RF_2	_	255	63	288	3:1	1.35	
	BC_1	_	46	2	48	_	_	_
	RBC_1	_	44	2	46	_	_	_
	BC_2	_	30	20	50	1:1	2.00	0.5-0.75
	RBC_2	_	26	24	50	1:1	0.08	0.5-0.75
$IRRI_2/IR_{229}$	F_1	_	_	30	30	_	_	_
$IR_{229}/IRRI_2$	RF_1	_	_	30	30	_	_	_
	F_2	_	_	204	204	_	_	_
	RF_2	_	12	238	250	_	_	_
	BC_1	_	_	50	50	_	_	_
	RBC_1	_	10	40	50	_	_	_
	BC_2	_	_	50	50	_	_	_

ST: Sang-e-Tarrom G: Gerdeh

نسل F_2 ۱۰۳ بذر دارای میزان آمیلوز کمتر از ۲۰٪ و ۳۱۲ بذر دارای میزان آمیلوزی بین ۲۰ تا ۳۰٪ بودند که حاکی از نسبت مناسب ۱:۱ (χ^2 = ۰/۰۰۷ ،P = ۰/۹ - ۰/۷۵) بود. در تجزیه ۹۵ بذر Bc_1 [گرده × (سنگ طارم /گرده)] ۴۵ بذر دارای میزان آمیلوز ۱۷-۱۹٪ در یک طبقه و ۵۰ بذر دارای میزان آمیلوز ۲۰-۲۳٪ در طبقه دیگر قرار گرفت که حاکی از نسبت مناسب ۱:۱ بود. در Bc_2 به دلیل اختلاف کم بین یک و سه دُز ژن برای میزان آمیلوز متوسط، کلاس های مشخصی دیده نشد و کلیه بذرها در یک کلاس دارای میزان آمیلوز متوسط بین ۱۹-۲۴٪ قرار گرفتند.

در تجزیه جمعیت های F_2، BC_1 و BC_2 از تلاقی معکوس (گرده× سنگ طارم) نیز وضعیتی مشا به با حالت فوق مشاهده شد. در تجزیه میزان آمیلوز حاصل از ۳۹۶ بذر جمعیت F_2 در تلاقی گرده/ سنگ طارم، ۱۰۲ بذر

Archive of SID

www.SID.ir

درطبقه اول (۱۷-۱۹٪) و ۲۹۴ بذر در طبقه دیگر (۲۰-۲۷٪) قرار گرفتند که نشان دهنده نسبت ۳:۱ (χ^2= ۰/۱۲ ، P = ۰/۵-۰/۷۵) بود. منحنی حاصل از تجزیه بذرهای BC_1 دارای دو کلاس بوده که با میزان آمیلوز ۲۰٪ از هم جدا شده بودند. بدین ترتیب ۴۷بذر دارای میزان آمیلوز کمتر از ۲۰٪ و ۵۳ بذر میزان آمیلوز بین ۲۱-۲۳٪ داشتند. در تجزیه بذرهای BC_2 هیچ کلاس مشخصی دیده نشد (جدول ۳).

مقایسه نسل های مختلف در تلاقی $IRRI_2/IR_{229}$ از نظر میزان آمیلوز

در تلاقی بین والد دارای میزان آمیلوز متوسط ($IRRI_2$) با والد دارای میزان آمیلوز بالا (IR_{229}) بذرهای F_1 بایک دُز ژن برای

جدول ۳- نحوه تفکیک میزان آمیلوز در دو تلاقی ارقام برنج برای ده نسل

Table 3. Segregation for amylose content in two crosses of rice cultivars for ten generations

والدین/تلاقی Parent/cross	نسل Generation	تعداد گیاهان مشاهده شده Number of plants observed: پایین Low	متوسط Intermediate	بالا High	کل Total	نسبت Value	χ^2	احتمال Probability
Sang-e-Tarrom		_	30	_	30	_	_	_
Gerdeh		30	_	_	30	_	_	_
IR_{229}		_	_	30	30	_	_	_
$IRRI_2$		_	30	_	30	_	_	_
ST/G	F_1	_	30	_	30	_	_	_
G/ST	RF_1	_	30	_	30	_	_	_
	F_2	103	312	_	415	3:1	0.007	0.75-0.90
	RF_2	102	294	_	396	3:1	0.12	0.5-0.75
	BC_1	45	50	_	95	1:1	0.26	0.5-0.75
	RBC_1	47	53	_	100	1:1	0.36	0.5-0.75
	BC_2	_	90	_	90		_	_
	RBC_2	_	95		95		_	_
$IRRI_2/IR_{229}$	F_1	_	_	30	30		_	_
$IR_{229}/IRRI_2$	RF_1	_	_	30	30		_	_
	F_2	_	102	294	396	3:1	0.12	0.5-0.75
	RF_2	_	113	301	414	3:1	1.16	0.25-0.50
	BC_1	_	21	23	44	1:1	0.04	0.75-0.90
	RBC_1	_	26	27	53	1:1	0.02	0.75-0.90
	BC_2	_	_	50	50	_	_	_
	RBC_2	_	_	55	55	_	_	_

ST:Sang-e-Tarrom G:Gerdeh

Archive of SID

www.SID.ir

میزان آمیلوز بالا($IRRI_2/IR_{229}$)و بذرهای RF_1 با دو دُز ژن برای آمیلوز بالا ($IR_{229}/IRRI_2$) به ترتیب میزان آمیلوزی حدود ۰/۲۸±۲۶/۳۲ و ۰/۲۹ ± ۱۱/ ۲۹ درصد نشان دادند. در نسل F_2 به دلیل اختلاف کوچک بین والدین و F_1 یک منحنی دیده شد و از ۳۹۶ بذر مورد تجزیه، ۱۰۲بذر دارای میزان آمیلوز متوسط و ۲۹۴ بذر دارای میزان آمیلوز بالا بودند که نشان دهنده نسبت ۳:۱ (۰/۷۵- P = ۰/۵، ۰/۱۲ = χ^2) بود. در تجزیه بذرهای BC_1 دو کلاس مشخص در نتیجه اختلاف زیاد بین صفر و دو دُز ژن ایجاد شد که از تجزیه ۴۴بذر، ۲۱بذر در یک کلاس و ۲۳ بذر در کلاس دیگر با نسبت مناسب ۱:۱ تفکیک شده بود. درتجزیه بذرهای BC_2 منحنی یک کلاسه ای با میزان آمیلوز بالا ایجاد شد.

درتلاقی معکوس ($IRRI_2/IR_{229}$) نیز وضعیتی مشا به با حالت فوق در نسل های مورد مطالعه مشاهده شد. در تجزیه ۴۱۴بذر F_2 کلاس مشخصی مشاهده نشد و ۱۱۳بذر دارای میزان آمیلوز متوسط (۱۶-۲۲٪) و۳۰۱ بذر نیز دارای آمیلوز بالا (۲۳-۳۰٪) بودند که مناسب بودن نسبت ۳:۱ و منوژنیک بودن صفت مورد نظر را می رساند (۰/۵-۰/۲۵ = P ، ۱/۱۶ = χ^2). در تجزیه ۵۳ بذر BC_1 دو کلاس مشخص با نسبت ۱:۱ دیده شد که ۲۶ بذر دارای میزان آمیلوز ۱۸-۲۴٪ و ۲۷ بذر دارای میزان آمیلوز ۲۵-۳۲٪ بود. در BC_2 منحنی یک کلاسه ای با میزان آمیلوز بالا ایجاد شده و کلاسی با نسبت مشخص دیده نشد (جدول ۴).

اثر دُز ژن

میانگین درجه حرارت ژلاتینه شدن نسل F_1 حاصل از تلاقی گرده/سنگ طارم برابر با درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط با نمره ۳/۷ بود که تفاوت معنی داری بین صفر دُز و یک دُز ژن ایجاد نشد ولی در تلاقی معکوس بین آن ها (سنگ طارم/گرده) میانگین درجه حرارت

جدول ۴- میانگین میزان صفات درجه حرارت ژلاتینه شدن و میزان آمیلوز در والدین به هیبریدهای (F_1 و RF_1,) برنج

Table 4. Means of gelatinization temperature and amylose content in parents and F_1 and RF_1 hybrids of rice

صفت Character	تلاقی Cross	P1	F1	RF1	P2
Gelatinization Temperature	ST/G	3.30	3.70	4.80	6.10
	$IR_{229}/IRRI_2$	6.30	6.50	6.80	7.00
Amylose content	ST/G	19.91	25.21	22.47	22.89
	$IR_{229}/IRRI_2$	24.85	26.32	29.11	27.16

ST: Sang-e-Tarrom G: Gerdeh

Archive of SID

www.SID.ir

ژلاتینه شدن نسل F_1 نمره ۴/۸ را نشان داد که در حقیقت جا به جایی والدین باعث تغییر درجه حرارت ژلاتینه شدن و معنی دار شدن دومین دُز ژن شد، یعنی دومین دُز ژن از گرده (والد مادری)، با اولین دُز از سنگ طارم (والد پدری) تفاوت معنی داری را نشان داد. همچنین سومین دُز ژن توانست تفاوت معنی داری را با دومین دُز ژن نشان دهد.

با توجه به توضیحاتی که در بالا داده شد به دلیل عدم تنوع در تلاقی مستقیم و معکوس در تلاقی دورقم با درجه حرارت پایین (IR_{229} و $IRRI_2$) در کلیه نسل ها و F1، هیچ تفاوت معنی داری بین صفر، اولین، دومین و سومین دُز ژن مشاهده نشد (جدول ۵).

تلاقی بین رقم با میزان آمیلوزمتوسط (سنگ طارم) و رقم با میزان آمیلوز پایین (گرده)، تاثیر اولین دُز ژن در F_1 توانست تفاوت معنی داری حدود۲۳/۹۷٪ با صفر دُز ژن (گرده به عنوان والد مادری) نسبت به والد دارای آمیلوز پایین داشته باشد. دومین دُز ژن کاهش معنی داری حدود ۱۲/۷۸-٪ را داشت ولی سومین دُز ژن اختلاف معنی داری نسبت به دومین دُز ژن نداشت.

در تلاقی بین رقم با میزان آمیلوزبالا ($IRRI_2$) و رقم با میزان آمیلوز بالا (IR_{229}) تاثیر اولین دُز ژن در F_1 تفاوت معنی داری حدود۵/۱۷٪ با صفر دُز ژن ($IRRI_2$ به عنوان والد مادری) نسبت به والد دارای آمیلوز متوسط داشت. دومین و سومین دُز ژن نیز افزایش معنی داری نشان دادند، بنابراین اطلاعات اثر دُز ژن در تلاقی های ذکر شده، برای فهم بیشتر از الگوی تفکیک صفات مورد نظر در نسل های مختلف مفید و موثر بود و همچنین وجود کلاس های مختلف ناشی از اثر دُز ژن برای توضیح مدل نحوهٔ توارث در صفات مهم کیفی، تأثیر به سزایی دارد.

مطالعه ژنتیکی صفات کیفی، از جمله میزان آمیلوز و درجه حرارت ژلاتینه شدن، ارزیابی آندوسپرم دانه اهمیت زیادی دارد. آندوسپرم بافت تریپلوییدی است که دارای یک دُز ژن از والد پدری و دو دُز ژن از والد مادری است. در این رابطه در این تحقیق اثر دُز ژن و خصوصیات آندوسپرم در صفات مربوطه مورد ارزیابی قرار گرفت. هدف از اصلاح برنج از نظر درجه حرارت ژلاتینه شدن، دستیابی به ارقامی است با درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط که دارای کیفیت پخت مناسبی باشند. در تلاقی مستقیم و معکوس گرده و سنگ طارم حد متوسط درجه حرارت ژلاتینه شدن که از اهداف اصلاحی محسوب می شود، حاصل شد و با انجام تلاقی بین درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط و پایین در حالت مستقیم و معکوس دسترسی به این هدف سریع تر شد، بنابراین می توان این صفت مطلوب را در نسل های اولیه انتخاب کرد. در بذرهای نسل F_2 و BC_2 در تلاقی گرده/سنگ طارم در هر دو حالت مستقیم و معکوس تفکیک متجاوز برای صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن نسبت به هر دو والد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- تغییر میزان صفات درجه حرارت ژلاتینه شدن و میزان آمیلوز دانه های برنج ناشی از هر دُز ژن

Table 5. Variations of gelatinization temperature and amylose content of rice kernels due to each gene dosage

صفت Character	تلاقی Cross	صفر دُز Zero dosage (aaa)	اولین دُز First dosage (Aaa)	دومین دُز Second dosage (AAa)	سومین دُز Third dosage (AAA)
Gelatinization temperature	ST/G	54.1	6.55(ns)	18.03(*)	21.31(**)
	IR229/IRRI2	90.0	2.86(ns)	4.28(ns)	2.86(ns)
Amylose content	ST/G	86.98	23.97(**)	-12.78(**)	1.83(ns)
	IR229/IRRI2	91.49	5.17(**)	10.52(**)	-7.18(**)

* و **: معنی دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد. ns : غیر معنی دار.

* and **: Significant at 5% and 1% levels. ns: Not significant.

مشاهده شده ولی در BC_1 تمایل بیشتر به سمت والد اول بود. کومار و کوش (Kumar and Khush, 1986) تفکیک متجاوز را در نتیجه عمل پلی ژن های کوچک یا تغییر دهنده ها روی اثر دُز ژن دانستند. برخی از محققین نحوه وراثت پذیری درجه حرارت ژلاتینه شدن را به صورت منوژنیک و برخی دیگر به صورت پلی ژنتیک اعلام کردند (Anonymous, 1976؛ Heu and Choe, 1973؛ Puri and Siddiq, 1980). جمعیت F_2 از نظر الگوی تفکیک و ایجاد تفکیک متجاوز، کاملا وابسته به ارزش والدین از لحاظ صفات مورد نظر بود. در تلاقی بین والدین با میزان آمیلوزهای مختلف اهداف اصلاحی روی میزان آمیلوز متوسط (۲۴-۲۰٪) متمرکز می شود. در تحقیق حاضر تمامی بذرهای در نسل های مختلف بر اساس تجزیه بر مبنای سیستم تک دانه و در فصل زراعی یکسان ارزیابی شدند.

میزان آمیلوز در ارقام مختلف برنج تا میزان ۶٪ تحت عوامل محیطی تغییر می یابد. (Juliano, 1972). نتایج به دست آمده از نسل F_2 در تلاقی های مستقیم ومعکوس بین والدین دارای آمیلوز متوسط و پایین و بین والدین دارای آمیلوز متوسط وبالا نشان داد که میزان آمیلوز بالا روی آمیلوز متوسط و پایین غالب است، بنابراین یک ژن بزرگ اثر اصلی مسئول اختلافات میزان آمیلوز بین والدین است. فقدان منحنی با دو کلاس مجزا احتمالاً به دلیل اختلاف ناچیز بین والدین و نسل F_1 بوده است. تفکیک متجاوز مشاهده شده دلیل حضور یک ژن اصلی همراه ژن های تغییر دهنده است. به عبارت دیگر میزان آمیلوز بالاتر یا پایین تر از والدین در نسل های F_2 و BC ها نقش ژن های تغییر دهنده را نشان می دهد (Khush *et al*., 1979). تحقیقات انجام شده نشان داده که ژن های کنترل کننده آمیلوز بالا

Archive of SID

www.SID.ir

روی ژن های مسئول میزان آمیلوز پایین غالبیت کامل دارند (Bollich and Webb, 1973؛ Seetharaman, 1959). محققین زیادی به این نتیجه رسیدند که میزان آمیلوز پایین تحت کنترل یک ژن اصلی همراه با ژن های تغییر دهنده است (Bollich and Webb, 1973؛ Ghosh and Govindswamy, 1972؛ Mckenzie and Rutger, 1983؛ Seetharaman, 1959؛ Stansel, 1965).

برخی محققین دیگر میزان آمیلوز را تحت کنترل پلی ژنیک می دانستند (Chauhan and Nanda, 1983؛ Puri and Siddiq, 1980). بدین ترتیب بر اساس نتایج به دست آمده به جز در تلاقی آمیلوز پایین و متوسط که در نسل های اولیه می توان به آمیلوز متوسط دست یافت در باقی موارد انتخاب به طور موثر می تواند در نسل های تفکیک بالاتر انجام شود.

References

Anonymous 1976. Annual Report for 1976. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

Bollich, C. N., and Webb, B. D. 1973. Inheritance of amylose in two hybrid papulations of rice. Cereal Chemistry 50: 631-636.

Chauhan, J. S., and Nanda, J. S. 1983. Inheritance of amylose content and its association with grain yield and yield contributing characters in rice. Oryza (Cuttack, India) 20: 82-85.

Ghosh, A. K., and Govindswamy, S. 1972. Inheritance of starch iodine blue value and alkali digestion value in rice and their genetic association. Riso 21:123-132.

Golam Faruq, M., Hadjim, O., and Meisner, C. A. 2004. Inheritance of gelatinization temperature in rice. International Journal of Agricultural Biology 5: 810-812.

Heda, D. G., and Reddy, G. M. 1986. Studies on the inheritance of amylase content and gelatinization temperature in rice (*Oryza sativa* L.). Genetic Agriculture 40: 1-8.

Heidelberg, V., and Li, S.G. 1999. Genetic analysis of rice grain quality. Genetics 98: 502-508.

Heu, M. H., and Choe, Z. R. 1973. Inheritance of alkali digestibility of rice grain the indica × Japonica cross. Korean Journal of Breeding 56: 32-36 .

Jennings, P.R., Coffman, W. R., and Kauffman, H. E. 1979. Grain Quality and Rice

Archive of SID

www.SID.ir

Improvement. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

Juliano, B. O. 1971. A simplified assay for milled-rice amylase.Cereal Science Today 16: 334-339.

Juliano, B. O. 1972. The rice cariopsis and its composition. pp.16-174. In: Houston, D. E. (ed.) Rice Chemistry and Technology. American Society of Cereal Chemistry, Inc., St. Paul, Minnesota, USA.

Kumar. I., and Khush, G. S. 1986. Gene dosage effects of amylase contant in rice endosperm. Japanese Journal of Genetics 61: 559-568.

Kumar, I., and Khush, G. S. 1988. Inheritance of amylase content in rice. Euphytica 38: 261-269.

Kumar, I., and Khush, G. S. 1987. Genetic analysis of different amylase levels in rice. Crop Science 27: 1167-1172.

Khush, G. S., Paulo, C. M., and Delacruz, N. M. 1979. Rice Grain Quality Evaluation and Improvement at IRRI. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

Little, R. R., Hilder, G. B., and Dawson, E. H. 1958. Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. Cereal Chemistry 35:111-126.

Mckenzie, K. S., and Rutger, J. N. 1983. Genetics of amylose content, alkali spreading scores and grain dimensions in rice. Crop Science 23: 306-313

Puri, R. P., and Siddiq, E. A. 1980. Inheritance of gelatinazation temperature rice. Indian Journal of Genetics 40: 450-455.

Seetharaman, R. 1959. The inheritance of iodine value in rice and its association with other characters. Ph.D. dissertation. Louisiana State University, Baton Rouge, USA.

Stansel, J. W. 1965. The influence of heredity and environment on endosperm characteristics of rice (*Oryza sativa* L.). Ph.D. dissertation. Purdue University, West Lafayette, USA.

Tan, Y. F., Li, J. X., Yu, S. B., Xing, Y. Z., and Xu, C. G. 1999. The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. Genetics 99: 642-648.

Archive of SID

www.SID.ir