

بررسی روابط آلی ژن کنترل کننده عطر و طعم برنج در ارقام باسماتی ۳۷۰ و دلا

با استفاده از مارکر پیوسته RAPD

زهرا خدارحم پور^۱، قربانعلی نعمت زاده^۲، نادعلی بابائیان جلودار^۳ و بتول حسین پور^۴

چکیده

وراثت عطر و طعم برنج در والدین، نسل‌های F_1 ، F_2 و F_3 حاصل از تلاقی بین ارقام معطر باسماتی ۳۷۰ و دلا مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق علاوه بر ارزیابی ژنوتیپی بر اساس مارکرهای RAPD (OPAG-08) پیوسته با ژن کنترل کننده عطر و طعم و AN-01 غیر پیوسته با ژن کنترل کننده عطر و طعم در نسل F_2 ، ارزیابی فنوتیپی بر اساس تست آلی در نسل F_3 حاصل از هر تک بوته F_2 نیز انجام شد. ارزیابی ژنوتیپی با مارکر OPAG-08 نشان داد که ارقام والدینی به همراه F_1 و جمعیت در حال تفرق F_2 همگی باند 800 bp عطر و طعم را داشتند، که دلالت بر آلیک بودن این ژن در والدین می‌باشد. همچنین ارزیابی ژنوتیپی با مارکر AN-01 نشان داد که ارقام والدینی به همراه F_1 و همگی افراد F_2 باند غیر معطر بودن را نداشتند. ارزیابی فنوتیپی نشان داد که ارقام باسماتی ۳۷۰، دلا و F_1 دارای عطر و طعم قوی بوده و از 1100 تک دانه مورد بررسی در نسل F_2 ، 78 دانه فاقد عطر و طعم، 309 دانه عطر و طعم ضعیف، 420 دانه عطر و طعم متوسط و 293 دانه عطر و طعم قوی داشتند. که با توجه به شدت عطر و طعم متفاوت در تک دانه‌ها و نتیجه ارزیابی ژنوتیپی دقیقاً در مورد تک ژن یا بیش از تک ژن بودن این صفت و چند آلی بودن این ژن نمی‌توان نظر داد.

کلید واژه‌ها: برنج، عطر و طعم، تست آلی، مارکر مولکولی RAPD.

مقدمه

کیفیت برنج ترکیبی از صفات زیادی است که در ارزش بازاریابی و استفاده آن به عنوان غذا مؤثر است. زیرا امروزه علاوه بر توجه به افزایش کمی می‌بایست به کیفیت محصولات زراعی مانند برنج نیز توجه نمود. کیفیت بهتر باعث بازارپسندی بیشتری شده و به همین جهت ارزش زیادی را در بر خواهد داشت (۱۳).

مطالعات زیادی برای درک رفتار ژنتیکی عطر و طعم برنج انجام گردیده است. تاکنون تکنیک‌های زیادی برای تشخیص و ارزیابی عطر و طعم و چگونگی توارث این صفت در

برنج بکار گرفته شده است. باسماتی ۳۷۰ و دلا به عنوان والد دهنده عطر و طعم و کیفیت عالی پخت و خوراک در سطح ملی و بین‌المللی در بسیاری از پروژه‌های تحقیقاتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این ارقام پابلند، دارای ساقه‌های باریک و برگ‌های افتاده، آمیلوز و درجه حرارت ژلاتینی شدن متوسط، غلظت ژل پایین و عطر و طعم قوی، دانه‌های کشیده استخوانی و خاصیت ری آمدن خوب می‌باشند (۱۰).

از بین همه ترکیبات معطر شناخته شده، ماده ۲- استیل-۱- پیرولین مهمتر از بقیه

۱- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر

۲- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران

۳- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران

۴- دانشجوی دوره دکتری بیوتکنولوژی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۸۳/۸/۵

تاریخ پذیرش: ۸۴/۹/۱۴

کروموزوم ۸ در فاصله ۴/۵ سانتی‌مورگان پیوستگی دارد.

پینسون^۳ (۱۲) گزارش داد که عطر و طعم برنج در رقم جاسمین ۸۵ و لاین PI467917 به وسیله یک ژن مغلوب کنترل می‌شود. در حالیکه در رقم معطر دراگون‌آی‌بال ۱۰۰ بوسیله دو ژن کنترل می‌گردد. یکی از این ژن‌ها با ژن کنترل کننده عطر و طعم در رقم جاسمین ۸۵ و لاین PI467917 آللیک (دارای لوکوس مشترک) بوده و ژن دیگر، ژن جدید می‌باشد که در رقم‌های یاد شده فوق وجود ندارد.

نعمت‌زاده (۱۱) از ۵۵۰ آغازگر RAPD برای نشانمند کردن ژن‌های کنترل کننده عطر و طعم در برنج استفاده کرد و تنها دو آغازگر OPAG-08 و AN-01 بین ارقام معطر و غیر معطر چند شکلی ایجاد کردند. اولی در ارقام معطر ایجاد یک باند ۸۰۰bp (با فاصله ۶/۹ سانتی‌مورگان از ژن کنترل کننده عطر و طعم) و دومی در ارقام غیر معطر ایجاد دو باند ۱۲۰۰bp و ۹۰۰bp (با فواصل ۸/۹ و ۱۶/۴ سانتی‌مورگان از ژن غیر کنترل کننده عطر و طعم) نمود. سپس با استفاده از نشانگر RFLP نتایج نشانگر RAPD را تأیید کرد و مشخص شد که نشانگر OPAG-08 بر روی کروموزوم شماره ۸ برنج قرار داشته و با نشانگرهای RG978 و RZ617 همبستگی قوی داشته و فاصله آنها به ترتیب ۱/۷ و ۱/۲ سانتی‌مورگان می‌باشد.

لوریوکس و همکاران^۴ (۹) ارتباط زیاد RG28 (مارکر RFLP) با ژن *fgf* (ژن کنترل کننده عطر و طعم) را تأیید کردند و آنرا در حدود ۵/۸ سانتی‌مورگان به دست آوردند. همچنین دو مکان کمی جهت کنترل صفت

ترکیبات فرار می‌باشد و وجود این ماده در تمامی قسمتهای گیاه بجز ریشه به اثبات است (۹). این ماده معطر در بیشتر ارقام معطر برنج از قبیل باسماتی، دلا، جاسمین و عنبربو استخراج و اندازه‌گیری شده است (۲، ۴، ۵، ۷ و ۱۴).

شی‌چنگ لین^۱ (۱۵) گزارش داد که در تلاقی بین دو رقم معطر زی-زیانگ و باسماتی ۳۷۰ و نیز زائو زیانگ و زی زیانگ الگوی تفرق در F₂ به صورت دو ژنی و به نسبت ۹:۷ یا ۱۳:۳ می‌باشد.

نعمت‌زاده و همکاران (۲) با انجام تست آلی بر روی بذور نسل F₃ حاصل از تلاقی باسماتی ۳۷۰ و دلا از طریق گازکروماتوگرافی برای ۲- استیل-۱- پیرولین به این نتیجه رسیدند که تعداد بسیار کمی گیاه فاقد عطر و طعم بوده که مؤید میزان بسیار کم نوترکیبی بوجود آمده در تلاقی انجام شده می‌باشد.

نعمت‌زاده و همکاران (۲) گزارش کردند که در تلاقی عنبربو و امل ۳ با محاسبه تعداد بوته‌های معطر و غیر معطر صفت عطر و طعم توسط یک ژن مغلوب کنترل می‌شود.

نعمت‌زاده و همکاران (۲) همچنین گزارش کردند که در تلاقی باسماتی ۳۷۰ در دلا فراوانی دانه‌هایی که فاقد عطر و طعم باشند و یا آنهایی که کمتر از یکی از والدین معطر دارای عطر و طعم باشند بسیار اندک می‌باشند. بیشترین فراوانی دانه‌ها در حد عطر و طعم قوی و متوسط قرار دارند.

آن و همکاران^۲ (۳) با استفاده از نشانگر RFLP ثابت کردند که ژن کنترل کننده عطر و طعم در برنج با نشانگر RG28 موجود بر روی

3- Pinson

4- Lorieux et al

1- Shih-Cheng, Lin

2- Ahn et al

میکرولیتر پرایمر با غلظت ۰/۵ میکرومولار، ۰/۴ میکرولیتر dNTPs با غلظت ۰/۲ میلی مولار، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Polymerase Taq DNA و ۱ میکرولیتر DNA (با غلظت تقریبی ۲۵ نانوگرم) اضافه گردید. تیوپ حاوی مواد فوق را در دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت اپندورف، با پروفیل حرارتی ۹۴ درجه به مدت ۴ دقیقه برای شروع عمل جدا شدن دو رشته DNA از همدیگر برای اولین بار و ۴۵ سیکل متوالی که شامل ۱ دقیقه ۹۴ درجه سانتیگراد جهت جدا شدن دو رشته DNA در هر سیکل، ۱ دقیقه ۴۱ درجه سانتیگراد (پرایمر OPAG-08) و ۱ دقیقه ۴۲ درجه سانتیگراد (پرایمر AN-01) جهت اتصال آغازگرها به توالی‌های مکمل خود در رشته‌های DNA و ۲ دقیقه ۷۲ درجه سانتیگراد جهت تکثیر رشته‌های جدید استفاده گردید. پس از انجام این تعداد سیکل، دستگاه به مدت ۷ دقیقه دمای ۷۲ درجه را فراهم کرده تا در توالی‌هایی که هنوز فرصت کافی جهت انجام عمل تکثیر نداشته‌اند، عمل تکثیر به پایان برسد.

پس از انجام عمل PCR، فرآورده‌های حاصل را در ژل آگارز ۱/۵٪ قرار داده شد و از باندها به وسیله دستگاه ژل خوان مدل Gel Document عکسبرداری شد. سپس توسط نرم افزار photcapture، اندازه باندهای بدست آمده با مقایسه با باندهای نشانگر وزنی مشخص گردید.

در زمان رسیدگی از بذور به دست آمده از هر یک از ۱۱۰ تک بوته F₂ (نسل F₃) تعداد ۱۰ بذر به طور تصادفی انتخاب شده و طبق روش سود و صدیق^(۱۶) اقدام به تشخیص وجود یا عدم وجود عطر در تک بذرها گردید.

معطر بودن، یکی بر روی کروموزوم ۴ و دیگری بر روی کروموزوم ۱۲ مشخص نمودند. جین و همکاران^(۸) تعداد ۳۰۰ آغازگر تصادفی را مورد بررسی قرار دادند و به یک نشانگر RAPD به نام آغازگر OPC-06 دست یافتند. این نشانگر در ارقام برنج غیرمعطر باندی را به طول ۱/۵Kbp ایجاد می‌نمود. لازم بذکر است که بوته‌های والد معطری که آنها مورد بررسی قرار دادند KDML105 و بوته‌های والد غیرمعطر آنها CT9993 بود.

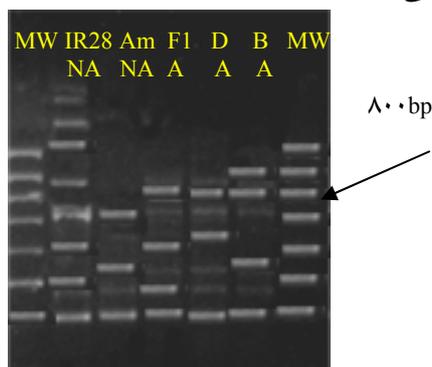
مواد و روشها

مواد آزمایشی شامل دو رقم معطر باسماتی ۳۷۰ و دلا و نتاج F₁, F₂, F₃ حاصل از تلاقی باسماتی ۳۷۰ با دلا و نیز با ارقام غیر معطر آمل-۳، IR28، IR50، IR36 و IR30 می‌باشد. والدین تلاقی در سال ۱۳۸۰ کشت و با هم تلاقی داده شدند. درسال ۱۳۸۱ گیاهان F₁ حاصل از تلاقی، کشت و با برداشت بذور آنها نسل F₂ بدست آمد. در سال ۱۳۸۲ پس از کاشت بذور والدینی، F₁ و جمعیت F₂ در گلخانه در زمان حداکثر پنجه‌دهی، تعدادی از برگ‌های آنها جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل گردید.

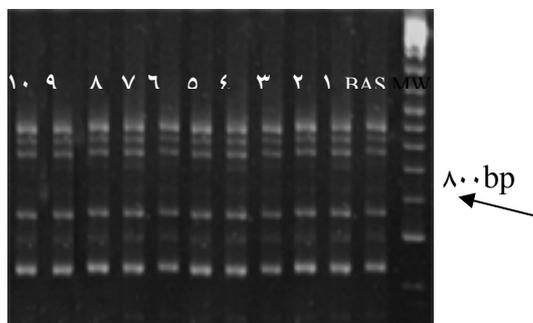
DNA ارقام والدینی و ارقام غیر معطر، F₁ و بوته‌های F₂ به روش CTAB استخراج گردید (۶). پس از کنترل کمیت و کیفیت DNA ها، با استفاده از نشانگر OPAG-08 (5'-AAGAGCCCTC-3') و نشانگر AN-01 (5'-ACTCCACGTC-3') آنالیز RAPD انجام گردید. در هر واکنش ۲۰ میکرولیتری، ۲ میکرولیتر بافر PCR (۱۰X)، ۱/۲۸ میکرولیتر کلریدمنیزیم با غلظت ۱/۶ میلی مولار، ۱/۲

و IR28 (۱ و ۸) این باند مشاهده نشد این نتیجه با پژوهش توسلی (۱) مطابقت دارد (شکل ۱). پس از آزمون والدین معطر، F₁ و ارقام غیر معطر، اقدام به تست تک تک DNAهای نسل F₂ گردید و مشاهده شد که ۱۱۰ تک بوته مورد بررسی همگی دارای باند مذکور (۸۰۰bp) بودند. این نتیجه دلالت بر معطر بودن تمامی تک بوته‌ها دارد (شکل ۲).

همانطوریکه در شکل ۱ ملاحظه می‌گردد لاین‌های باسماتی ۳۷۰، دلا و F₁ دارای باند ۸۰۰bp می‌باشند، در حالیکه ارقام غیر معطر IR28 و آمل-۳ (۱ و ۸) فاقد باند مذکور می‌باشند.



شکل ۱- والدین و F₁ در آزمون RAPD با استفاده از آغازگر OPAG-08 (=MW) مارکر وزنی، B=رقم باسماتی ۳۷۰، D=رقم دلا، F₁=نسل F₁، Am=آمل-۳، I=IR28، A=معطر و NA=غیر معطر



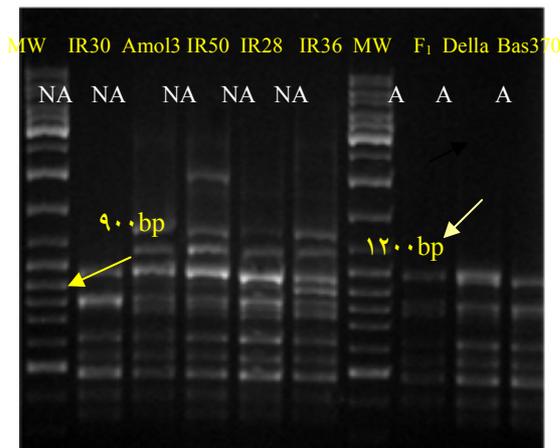
شکل ۲- باسماتی ۳۷۰ و تعدادی از افراد F₂ در آزمون RAPD با استفاده از آغازگر OPAG-08 (=BAS) باسماتی ۳۷۰

طبق این روش تک بذرها توسط هاون چینی پودر گردیدند. سپس پودر حاصل را در پتری‌دیش‌هایی ریخته و ۲۰ میکرولیتر محلول ۱/۷٪ هیدروکسید پتاسیم به آن اضافه گردید و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شد. پس از گذشت این مدت، درب پتری‌دیش‌ها باز شده و هر یک از لحاظ وجود یا عدم وجود عطر در ۴ دسته فاقد عطر و طعم، عطر و طعم ضعیف، عطر و طعم متوسط و عطر و طعم قوی قرار گرفتند. سپس به گروه‌های فوق به ترتیب امتیازهای ۱، ۲، ۳ و ۴ داده شد. جهت آنالیز داده‌های بدست آمده از نرم‌افزار آماری Excele استفاده شد. محاسبات پس از تبدیل داده‌های کیفی به داده‌های کمی انجام شد. پس از آن حاصل ضرب امتیازها را در تعداد بذرها هر بوته محاسبه کرده و این مقادیر را در هر تک بوته با هم جمع نمودیم (جدول ۱). برای مثال بوته شماره ۹۰، ۲ بذر فاقد عطر و طعم، ۴ بذر با عطر و طعم ضعیف، ۲ بذر با عطر و طعم متوسط و ۲ بذر با عطر و طعم قوی داشت که با ضرب کردن در امتیازهای هر گروه این بوته دارای امتیاز ۲۴ می‌باشد.

نتایج و بحث

در ابتدا با استفاده از آغازگر OPAG-08 نمونه‌های DNA والدین (ارقام دلا و باسماتی ۳۷۰) و F₁ حاصل از تلاقی دو والد به همراه دو رقم غیر معطر مورد آزمون RAPD قرار گرفتند. در آزمون RAPD با آغازگر OPAG-08، در هر دو رقم معطر باسماتی ۳۷۰ و دلا یک باند به طول ۸۰۰bp مشاهده گردید. این نتیجه با پژوهش نعمت زاده (۱۱) که در رقم باسماتی ۳۷۰ این باند را مشاهده کرده بود، مطابقت دارد. در نسل F₁ نیز این باند (۸۰۰bp) مشاهده گردید. اما در افراد غیر معطر آمل ۳

آمل-۳ فقط یک باند ۱۲۰۰bp را نشان داده‌اند و رقم غیر معطر IR30 هیچکدام از باندهای مذکور را نداده است. این نتیجه نیز نشان دهنده کنترل این صفت توسط چندین ژن است که بر QTL بودن صفت عطر و طعم دلالت دارد.



شکل ۳- والدین، F_1 و تعدادی رقم غیر معطر در آزمون RAPD با استفاده از آغازگر AN-01 (MW=مارکر وزنی، A=معطر و NA= غیر معطر)

پس از تست والدین معطر، F_1 و ارقام غیرمعطر اقدام به تست، تک تک DNA های نسل F_2 تلاقی باسماتی ۳۷۰ و دلا گردید و مشاهده شد که ۱۱۰ تک بوته مورد بررسی هیچکدام باندهای ۹۰۰bp و ۱۲۰۰bp را نداشتند که دلالت بر معطر بودن این تک بوته‌ها دارد.

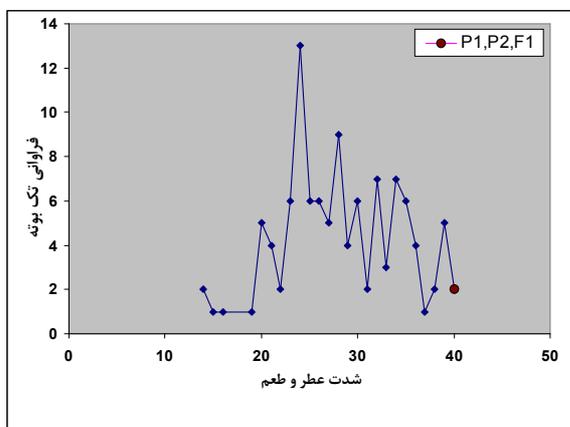
نتایج ارزیابی فنوتیپی نشان داد که باسماتی ۳۷۰، دلا و F_1 حاصل از تلاقی باسماتی ۳۷۰ و دلا همگی دارای عطر و طعم قوی بودند (امتیاز ۴۰). اما عطر متضاد شده از رقم باسماتی ۳۷۰ به مراتب قویتر از عطر متضاد شده از رقم دلا می‌باشد. یکصد و ده تک بوته جامعه F_2 مورد بررسی قرار گرفتند. از هر بوته،

این نتیجه نشان می‌دهد که حداقل یک ژن کنترل کننده عطر و طعم در رقم باسماتی ۳۷۰ و دلا مشترک بوده و دقیقاً همان باند را به نسل اول نیز منتقل کردند و یا بیانگر حداقل یک ژن مشترک در کنترل عطر و طعم برنج می‌باشد، که با نتایج پینسون (۱۲) مطابقت دارد.

با توجه به اینکه نشانگر RAPD دیگری به نام AN-01 طبق بررسی‌های نعمت‌زاده، (۱۹۹۵) در ارقام غیر معطر دو باند به طول‌های ۹۰۰bp و ۱۲۰۰bp داده است. در این پژوهش نیز مورد استفاده قرار گرفتند. این کار برای اطمینان از نتایج به دست آمده در ارقام معطر باسماتی ۳۷۰ و دلا بوده است. در بررسی‌های به عمل آمده با این آغازگر والدین باسماتی ۳۷۰، دلا و F_1 حاصل از تلاقی آنها هیچکدام از باندهای مذکور (۹۰۰bp و ۱۲۰۰bp) را نداده‌اند. این نتیجه نشان دهنده معطر بودن ارقام باسماتی ۳۷۰ و دلا می‌باشد. از ارقام غیر معطر دیگری از جمله IR36، IR50، IR28، IR30 و آمل-۳ نیز استفاده گردید. نتایج و الگوی باندها با AN-01 نشان داد که رقم غیرمعطر IR36 دارای هر دو باند ۹۰۰bp و ۱۲۰۰bp (AN1-AR1 و AN1-AR2) می‌باشد اما در ارقام غیرمعطر IR50، IR28 و آمل-۳ فقط باند ۱۲۰۰bp (AN1-AR1) مشاهده گردید. و در رقم غیر معطر IR30 هیچکدام از دو باند مورد نظر مشاهده شدند (شکل ۳ و ۴).

این نتایج تفسیر صحیح تعداد دقیق ژن(های) کنترل کننده عطر و طعم را مشکل می‌نماید. زیرا اگر داشتن باندها (۹۰۰bp و ۱۲۰۰bp) به وسیله نشانگر AN-01 دلیل بر غیر معطر بودن باشد و نبود آنها دلیل بر معطر بودن پس چرا ارقام غیر معطر IR50، IR28 و

دادند که بیشتر دانه‌ها در حد عطر و طعم متوسط قرار دارند اما، پژوهش نعمت‌زاده و همکاران (۲) به روش کلاسیک (روش پیشنهادی سود و صدیق ۱۶) برای نسل F_3 تلاقی با سماتی ۳۷۰ و دلا نشان داد که فراوانی دانه‌هایی که فاقد عطر و طعم باشند و یا آنهایی که کمتر از یکی از والدین معطر دارای عطر و طعم باشند بسیار اندک می‌باشند و بیشترین فراوانی دانه‌ها در حد عطر و طعم قوی و متوسط قرار دارند.

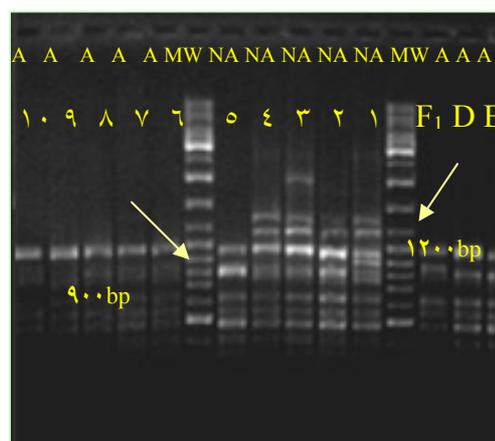


نمودار ۱- نمودار توزیع فراوانی عطر و طعم دانه برنج در جامعه F_3 بر اساس تجزیه تک دانه در تلاقی با سماتی ۳۷۰ و دلا

در واقع با توجه به نتایج ارزیابی فنوتیپی و ارزیابی ژنوتیپی می‌توان درباره نتیجه این پژوهش به صورت زیر نظر داد:

۱- در هر دو والد، ژن اصلی عطر و طعم با آغازگر OPAG-08 لینکاژ دارد. احتمال دارد که ژن یا ژن‌های دیگری که این صفت را کنترل می‌کنند نیز وجود داشته باشند. بعنوان مثال در یک والد دو ژن برای صفت عطر و طعم و در والد دیگر یک ژن برای این صفت وجود داشته باشد. همینطور در مورد آغازگر AN-01 که در برخی ارقام غیر معطر هر دو باند را نشان می‌دهد، در برخی دیگر یک باند را نشان می‌دهد و در برخی دیگر هیچکدام از دو باند

۱۰ بذر (بذور نسل F_3) تجزیه آزمایشگاهی شده و الگوی تفرق آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده نشان داد که، ۷۸ دانه فاقد عطر و طعم، ۳۰۹ دانه عطر و طعم ضعیف، ۴۲۰ دانه عطر و طعم متوسط و ۲۹۳ دانه عطر و طعم قوی داشتند. توزیع فراوانی آنها در (نمودار ۱) رسم گردید. همانطوری که مشاهده می‌شود حداکثر فراوانی دانه‌های



شکل ۴- والدین، F_1 و تعدادی از افراد F_2 در آزمون RAPD با استفاده از آغازگر AN-01 (MW=مارکر وزنی، $A=MW$ معطر، $NA=$ غیر معطر، $1=IR36$ ، $2=IR28$ ، $3=IR50$ ، $4=Amol3$ ، $5=IR30$ ، $6, 7, 8, 9, 10=$ تعدادی از افراد نسل F_1)

معطر در دامنه بین ۲۰ الی ۳۰ قرار گرفتند (۷۲۹ دانه) و تعدادی هم در منطقه غیر معطر (۷۸ دانه) و تعدادی در منطقه معطر (۲۹۳ دانه) واقع شدند. با توجه به اینکه ارقام دلا و با سماتی ۳۷۰ ارقامی معطر هستند هر دو عطری قوی از خود متصاعد ساختند (امتیاز ۴۰). تک دانه‌های نسل F_2 نیز از نظر شدت عطر و طعم با همدیگر متفاوت هستند به طوری که در ۴ دسته قرار گرفتند. نتایج نشان

ژن ولی با تعداد آلل‌های مختلفی (مولتی آلل) کنترل شود. در اینصورت اثر متقابل آللی باعث تنوع و توزیع عطر و طعم در نسل F₃ گردید.
۳- احتمالاً این صفت با توجه به نتایج تست فنوتیپی به صورت کمی کنترل می‌شود.

را نشان نمی‌دهد. می‌توان گفت که احتمالاً بیش از دو ژن در کنترل این صفت وجود داشته باشد. که یکی با AN1-AR1 لینکاژ داشته، دیگری با AN1-AR2 لینکاژ داشته و ژن و یا ژن‌های دیگر با هیچکدام لینکاژ ندارند.
۲- امکان دارد که این صفت به وسیله یک

جدول ۱ - نتایج بدست آمده از تجزیه کیفی بذور F₃ حاصل از تلاقی باسماتی ۳۷۰ با دلا

شماره بوته	فاقد عطر	عطر ضعیف	عطر متوسط	عطر قوی	جمع امتیازها	شماره بوته	فاقد عطر	عطر ضعیف	عطر متوسط	عطر قوی	جمع امتیازها
۱	-	۵	۵	۲	۲۵	۹	-	۳	۵	۲	۲۹
۲	۱	۳	۴	۵	۲۷	۱۱	-	۱	۴	۵	۳۴
۳	-	۵	۵	۱	۲۵	۱۰	-	۳	۶	۱	۲۸
۴	۲	۶	۲	-	۲۰	۱۲	۲	۶	۲	-	۲۰
۵	۱	۶	۳	۱	۲۲	۱۳	-	۵	۴	۱	۲۶
۶	-	۷	۲	۱	۲۴	۱۴	-	۵	۵	-	۲۵
۷	۱	۵	۴	۴	۲۳	۱۵	-	-	۶	۴	۳۴
۸	-	۱	۴	۲	۳۴	۱۷	-	۲	۶	۲	۳۰
۲۰	۲	۵	۳	۳	۲۱	۶۰	-	۱	۶	۳	۳۲
۲۱	-	۳	۶	۲	۳۰	۶۲	-	۶	۴	-	۲۴
۲۲	-	۶	۴	۳	۲۶	۶۱	-	۵	۲	۳	۲۸
۲۴	۷	۲	۱	۵	۲۴	۶۳	۱	۵	۴	-	۲۳
۲۵	۳	۵	۲	-	۱۹	۶۸	-	۶	۲	-	۲۰
۲۸	۲	۳	۵	-	۲۳	۶۹	-	۳	۶	-	۲۶
۲۷	۴	۶	-	-	۱۶	۷۲	-	۴	۵	۱	۲۷
۳۰	۶	۴	-	-	۱۴	۷۰	-	۲	۸	-	۲۸
۳۲	-	-	۷	۳	۳۳	۸۵	-	۵	۵	-	۲۵
۳۱	-	-	۵	۵	۳۵	۸۷	-	۱	۳	۶	۳۵

ادامه جدول ۱-

۲۳	۲	۳	۲	۲	۸۳	۲۲	-	۳	۶	۱	۳۴
۲۹	۳	۴	۲	۱	۸۲	۲۰	-	۲	۶	۲	۳۵
۲۴	۱	۲	۷	-	۸۰	۲۴	۲	۳	۲	۳	۳۶
۲۸	۳	۴	۱	۲	۸۹	۲۳	-	۴	۵	۱	۳۸
۲۴	۲	۲	۴	۲	۹۰	۲۵	۱	۴	۴	۱	۳۹
۳۶	۶	۴	-	-	۹۱	۲۷	-	۷	۳	-	۴۰
۳۲	۳	۶	۱	-	۹۲	۴۰	۱۰	-	-	-	۴۲
۲۸	۱	۶	۳	-	۹۵	۳۹	۹	۱	-	-	۴۳
۳۰	۴	۳	۲	۱	۹۶	۳۳	۳	۷	-	-	۴۴
۲۸	۵	-	۳	۲	۹۷	۳۹	۹	۱	-	-	۴۵
۲۵	-	۵	۵	-	۹۸	۲۴	-	۵	۴	۱	۴۷
۲۷	-	۷	۳	-	۹۹	۳۹	۹	۱	-	-	۴۸
۳۶	۷	۲	۱	-	۱۰۰	۲۱	-	۴	۳	۳	۵۰
۳۱	۳	۵	۲	-	۱۱۰	۳۸	۹	-	۱	-	۵۲
۳۲	۳	۶	۱	-	۹۳	۴۰	۱۰	-	-	-	۴۲

منابع

۱. توسلی، ا. ۱۳۸۱. کارایی نشانگر RAPD همبسته با ژن‌های کنترل کننده عطر و طعم در برنج در اداره نسل‌های در حال تفکیک F₂. پایان‌نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات. دانشگاه مازندران. ۴۴ صفحه.
۲. نعمت‌زاده، ق. ع.، ن. ع. بابائیان جلودار، ع. ر. علی‌اکبر، ف. فرخزاد و ع. شاهواری. ۱۳۷۹. تست آللی برای تعیین نوع و تعداد ژن‌های کنترل کننده عطر و طعم در برنج. مؤسسه تحقیقات برنج در کشور، معاونت مؤسسه در مازندران. ۱۰ صفحه.
3. Ahn, S. N., C. N. Bollinch & S. D. Tanksley. 1992. RFLP tagging of a gene for aroma in rice. Theoretical Applied Genetic. 84: 825-828.
4. Buttery, R. G., B. O. Juliano & L. C. Ling. 1985. Identification of rice aroma compound 2-acetyl-1-pyrroline in pandan leaves. Chem. Ind. (London), P. 478.

5. Buttery, R. G., J. G. Turnbergh & L. C. Ling. 1988. Contribution of volatiles to rice aroma. *Agriculture Food Chemistry*. 36: 1006-1009.
6. Clark, M. S. 1997. *Plant molecular biology*. Springer. 529Pp.
7. Emmanuel. 1993. CIRAD. Personal communication with Dr. Ning Huang. 50Pp.
8. Jin, Q. S., A. Vanavichit & S. Tragoonrung. 1996. Identification and potential use of a RAPD marker for aroma in rice. *Genetic & Breeding*. 50: 367-370.
9. Lorieux, M., M. Petrov, N. Huang, E. Guiderdoni & A. Ghesquière. 1996. Aroma in rice: genetic analysis of quantitative trait. *Theoretical Applied Genetic*. 93: 1145-1151.
10. Maga, J. A. 1984. Rice product volatile: A review. *Agriculture Food Chemistry*. 32: 924-970.
11. Nematzadeh, Gh. 1995. Mapping gene(s) for grain quality in rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and RFLP marker. Thesis Ph. D. University of Philippines. Los Banos. Philippines. 93Pp.
12. Pinson, S. R. M. 1994. Inheritance of aroma in six rice cultivars. *Crop Science*. 34: 1151-1157.
13. Poehlman, J. & D. A. Sleper. 1995. *Breeding Field Crops*. 4th. Printed of U. S. A. 287-299 Pp.
14. Poul, C. M. & Powers. 1989. Sensory and chemical examination of aromatic and nonaromatic rices. *Food Science*. 54: 343-346.
15. Shih-Cheng, Lin. 1991. Rice aroma: Methods of evaluation and its genetics. *Rice Genetics II*. P. O. Box 933. IRRI. Philipines. 42Pp.
16. Sood, B. C. & E. A. Siddiq. 1978. A rapid technique for scent determination in rice. *Genetic & Plant Breeding*. 38: 268-271.