Archive of SID

بررسی نحوهٔ توارث صفت عطر و طعم برنج از طریق ارزیابی فنوتیپی

امیرتوسلی[۱] و قربانعلی نعمت‌زاده[۲]

گزارش علمی

چکیده

برنج یکی از مهمترین گیاهان زراعی بوده و دارای نقش تعیین‌کننده‌ای در اقتصاد کشور می‌باشد. عطر و طعم نیز از صفات مهمی است که نقش اساسی در بازارپسندی و قیمت برنج دارد. در تحقیق حاضر نحوهٔ توارث صفت عطر و طعم از طریق ارزیابی فنوتیپی مورد بررسی قرار گرفته است. برای تحقق این موضوع، در سال اول رقم معطر رشتی در رقم غیر معطر IR28 تلاقی داده شد. سپس نسل F_1 را در سال زراعی بعد (سال دوم) کشت کرده و بذر تودهٔ F_2 از آن بدست آمد. در سال سوم بذر F_2 کشت گردید. نتایج بدست آمده از تجزیه و تحلیل فنوتیپی عطر و طعم برنج در نسل F_2 نشان داد که این صفت در مقایسه با نسبت‌های مختلف موجود، تنها با نسبت ۱۵:۱ (ارقام معطر:غیر معطر) با احتمال ۹۵ درصد کنترل می‌شود. این مطلب بیانگر کنترل این صفت توسط دو ژن مغلوب در نسل مورد بررسی است.

کلید واژه ها: برنج، عطر و طعم، ارزیابی فنوتیپی، تست آللی

مقدمه

کیفیت از مهمترین خصوصیات گیاه برنج بوده که تأثیر زیادی بر قیمت و ارزش آن در بازار، همچنین مشتری پسندی آن دارد. بسیاری از ارقام محلی برنج با کیفیت، معطر هستند. ارزش صادراتی ارقام معطر بیش از ارقام غیر معطر می‌باشد و همچنین دارای قیمت بیشتری هستند. ارقام برنج با کیفیت بالا نظیر صدری ایران، باسماتی هندوستان و پاکستان، کائو داوک مالی تایلند و آزوسنا و میلفور فیلیپین دارای خصوصیاتی از قبیل شکل، دانه‌های قلمی و عطر و طعم مناسب می‌باشند. این ارقام دارای آمیلوز و دمای ژلاتینی شدن متوسط، قوام و غلظت ژل نرم، عطر و طعم قوی و درجهٔ بالایی از طویل شدن دانه (ری آمدن) هستند. اصلاح ارقام پرمحصول با کیفیت مطلوب مستلزم شناخت ماهیت ژنتیکی، خصوصاً عطر و طعم آنها می‌باشد. کیفیت دانهٔ برنج از لحاظ اصلاحی، صفت مهمی بوده و در اقتصاد بسیاری از کشورها نظیر ایران، پاکستان، هندوستان و تایلند نقش مهمی دارا است (۱۴).

با وجود ارزش بالای برنج‌های معطر در جهان، ایجاد ارقام معطر با عملکرد بالا به دلیل عدم اطلاع کامل از نحوهٔ توارث این صفت با مشکل مواجه شده است (۴).

بهنژادگران برنج تاکنون تکنیک‌های زیادی را جهت تشخیص و ارزیابی عطر و طعم در مطالعهٔ توارث این صفت در برنج بکار بسته‌اند. این تکنیک‌ها شامل جویدن تعدادی از بذور هر گیاه و تعیین عطر آنها (۵) و پختن یک نمونه از بذور هر گیاه بطور مستقل و تعیین عطر آنها (۸ و ۱۱) بوده

۱- محقق ایستگاه تحقیقات کشاورزی اقلید

۲- دانشیار دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه مازندران

تاریخ دریافت: ۸۲/۷/۱۳

تاریخ پذیرش: ۸۴/۸/۱۶

www.SID.ir

Archive of SID

است. در بافت برگی گیاهان معطر نیز وجود عطر و طعم گزارش شده است (۱۳ و ۱۷). از این‌رو جوشاندن بافت برگی در آب و تعیین عطر و طعم آن (۱۳)، آزادکردن عطر از بافت برگی با استفاده از محلول قلیایی هیدروکسید پتاسیم (۱۷) جهت تشخیص هر یک از گیاهان معطر بکار گرفته شده است.

از بین روش‌های مورد استفاده جهت تجزیهٔ کیفی عطر و طعم در گیاهان موجود، روش سود و صدیق[1] (۱۷) به دلایل زیر انتخاب گردید:

۱- این تکنیک بسیار ساده بوده و هر شخصی می‌تواند برگ یا هر قسمتی از گیاه را هم در مزرعه و هم در آزمایشگاه و به سرعت از لحاظ عطر مورد بررسی قرار دهد.

۲- قدرت تفکیک خوبی از لحاظ عطر موجود در گیاه داشته و برخلاف روش‌های دیگر که اکثراً از آب گرم استفاده می‌شده است و باعث آزادشدن بوی قوی کلروفیل و عدم امکان تشخیص عطر می‌شده است، در این روش، محلول هیدروکسید پتاسیم در غیاب کامل بوی کلروفیل، به طور انتخابی عطر موجود در برنج را مشخص می‌سازد.

۳- تعداد بسیار زیادی از نمونه‌ها در مدت زمان بسیار کوتاهی می‌توانند تجزیه شوند (۱۷).

به طور کلی نسبت‌های بدست‌آمده برای ارقام برنج معطر به غیرمعطر گوناگون بوده و برخی از آنها عبارتند از ۱:۳ (۱۰ و۱۱)، ۳:۱ (۱، ۲، ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۱۴، ۱۶ و۱۷)، ۷:۹ (۱۷ و۱۸)، ۱۳:۳ (۸ و۱۹)، ۱:۱۵ (۵)، ۱۵:۱ (۷، ۱۵ و۲۰)؛ که از جمعیت در حال تفرق ایجاد شده از تلاقی بین ارقام معطر و غیر معطر گزارش شده‌اند.

مواد و روشها

در این تحقیق از رقم رشتی (والد معطر) و رقم IR28 (والد غیر معطر) و نتاج F_1 و F_2 حاصل از تلاقی آن‌ها استفاده گردید. والدین تلاقی در سال ۱۳۷۷ در مزرعهٔ آزمایشی بخش معاونت مؤسسهٔ برنج در آمل کشت و با هم تلاقی داده شدند. در سال ۱۳۷۸ بذرهای گیاهان F_1 برداشت و سپس در سال زراعی بعد نسل F_2 آنها بدست آمد. از بذور بدست آمده از هر تک بوته F_2، تعداد ۱۰ بذر به طور تصادفی انتخاب شده و طبق روش سود و صدیق (۱۷) اقدام به تشخیص وجود یا عدم وجود عطر در تک‌بذرها گردید. طبق این روش تک بذرها در کاغذ پیچیده شده و توسط هاون چینی پودر گردید.

سپس پودر حاصل را در پتری‌دیش‌هایی ریخته و ۵۰۰ میکرولیتر محلول۱/۷٪ هیدروکسید پتاسیم به آن اضافه گردید و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری شد. پس از گذشت این مدت، درب ظروف باز شده و با توجه به بوی متساعد شده هر یک از لحاظ وجود یا عدم وجود عطر در دو دستهٔ معطر یا غیرمعطر قرار گرفتند. از فنوتیپ بذور F_3 یا همان تست آللی به ژنوتیپ F_2 (خالص یا ناخالص بودن بوته‌های F_2 از لحاظ صفت عطر و طعم) پی برده شد. سپس با استفاده از تجزیهٔ کای دو نسبت‌های مختلف با نسبت بدست‌آمده در گیاهان خالص (معطر به غیرمعطر) سنجیده شد. از سوی دیگر بذور حاصل از بوته‌های F_2 را که در سه دستهٔ معطر، عطر متوسط و غیرمعطر گروه‌بندی شده بودند با دادن امتیازهای به ترتیب ۲، ۳ و ۴ به داده‌های کمّی تبدیل نموده و حاصل‌جمع امتیاز بذور هر بوتهٔ F_2 به عنوان امتیاز عطر و طعم آن بوته محاسبه گردید.

نتایج و بحث

برای ارزیابی صفت عطر و طعم از هر بوتهٔ F_2 تعداد ۱۰ بذر را آزمایش نموده و در یکی از سه گروه معطر، متوسط و غیر معطر دسته‌بندی شدند. استفاده از گروه متوسط به این دلیل بود که در

1- Sood& Siddiq

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه نهایی بتوانیم دسته‌بندی بدست‌آمده را در یکی از دسته‌های معطر یا غیرمعطر قرار داده و تجزیه کای‌دو را انجام دهیم. سپس تعداد بذور F_3 در چهار حالت مورد آزمون کای دو قرار گرفتند:

۱- تعداد بذرهای حاصل از هر تک بوتهٔ F2 که همهٔ آنها دارای عطر بودند، اندازه‌گیری شدند.

۲- حداکثر یک بذر در حالت متوسط و بقیهٔ بذور دارای عطر بودند.

۳- حداکثر دو بذر در حالت متوسط و بقیهٔ بذور دارای عطر بودند.

۴- حداکثر سه بذر در حالت متوسط و بقیهٔ بذور دارای عطر بودند (جدول ۱).

سپس با دانستن فنوتیپ F_3 (ارزیابی بذور حاصل از هر بوتهٔ F_2) به ژنوتیپ F_2 (خالص یا ناخالص بودن آن) پی‌برده شد و نتایج بدست آمده با نسبت‌های مختلف ژنتیکی آزمون گردید و میزان کای دو آنها محاسبه گردید (جدول۲). از بین نسبت‌های مختلف مورد ارزیابی، نسبت ۱۵:۱ بین رقم معطر:غیرمعطر با احتمال ۹۵ درصد با کای دو جدول اختلاف معنی‌داری نداشت.

نتایج آزمون فنوتیپی حاکی از آن است که این صفت توسط دو ژن مغلوب کنترل می‌شود. زیرا کای دو بدست آمده (χ^2=۰/۱۴) برای نسبت ژنتیکی ۱:۱۵ بین افراد غیرمعطر به معطر با کای دو جدول در سطح اشتباه α=٪۵ معنی دار نبود.

($\chi^2_{.05(1)}$=۳/۸۴). از سوی دیگر در نمودار بدست آمده از توزیع عطر و طعم در نسل F_2 (شکل ۱)، دو پیک اصلی در نقاط a وb وجود داشت. با توجه به مفاهیم ژنتیک کمی، هر پیک بدست آمده می‌تواند به عنوان یک ژن محسوب گردد. از این رو پیک a مشخص کنندهٔ ژن اول و پیک b نمایان‌گر ژن دوم می‌باشد.

یکی از مشکلات عمدهٔ تحقیق دربارهٔ عطر و طعم برنج این است که چون عطر و طعم برنج در آندوسپرم دانه بوده و هر دانهٔ برنج در تودهٔ در حال تفرق F_2، دارای یک ژنوتیپ خاص می باشد و از طرفی هر دانه برنج حداکثر ۱۰ میلی‌گرم وزن داشته، در نتیجه پس از آرد نمودن تک دانه‌ها (به طور مستقل) حجم بسیار کم نمونه امکان متصاعدشدن عطر و ارزیابی فنوتیپی آنرا از طریق استشمام کردن بسیار محدود می‌نماید.

این پژوهش با نتایج حاصل از پینسون[1] (۱۵)، گیتا[2] (۷) و ویوه‌کاناندان و گیریدهاران[3] (۲۰) مطابقت داشت. در این راستا پینسون (۱۵) معتقد به وجود یک ژن مغلوب در رقم معطر جاسمین ۸۵ و لاین PI 467917 و دو ژن مغلوب در رقم دراگون آی بال ۱۰۰ بود. او همچنین معتقد بود یکی از این دو ژن با ژن کنترل‌کنندهٔ عطر و طعم در هر دو رقم فوق دارای مکان ژنی مشترک بوده است. با استناد به نتایج بدست آمده و نسبت‌های مختلف بدست آمدهٔ دیگر می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری کرد که این صفت در برخی ارقام معطر توسط یک ژن مغلوب (با نسبت ۱:۳) و در برخی ارقام توسط دو ژن (با نسبت ۱:۱۵) کنترل می‌گردد. در نتیجه می‌توان پس از بررسی‌های بیشتر از طریق اندازه‌گیری میزان ترکیب معطر ۲- استیل ۱- پیرولین توسط دستگاه گازکروماتوگرافی و نیز ارزیابی این صفت با استفاده از نشانگرهای مولکولی به شناسایی دقیق‌تر این دو ژن و در نهایت انتقال این صفت به ارقام برنج با عملکرد بالا اقدام نمود.

1- Pinson
2- Geetha
3- Vivekanandan and Giridharan

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تعداد بوته های F_2 معطر یا غیر معطر با تعداد مختلف بذری که دارای عطر متوسط بودند

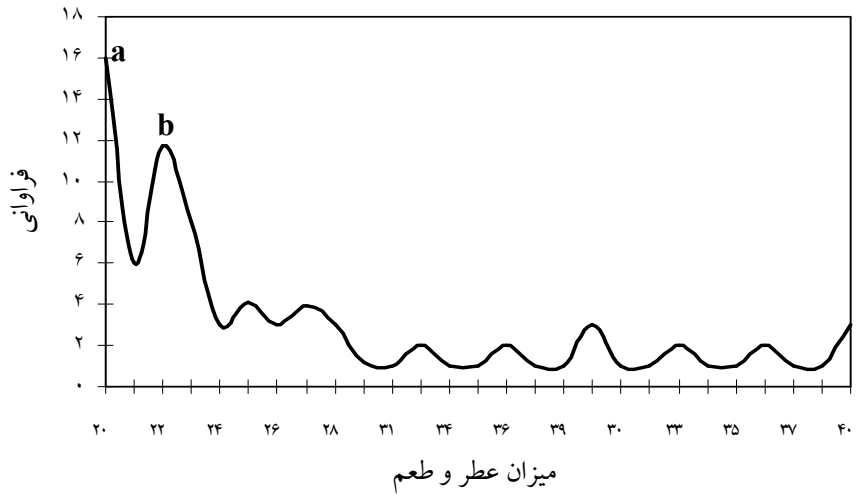
تعداد بذر با عطرمتوسط / بوتهٔ F_2	۰	۱	۲	۳
معطر	۳	٤	٥	٦
غیرمعطر	١٦	٢٢	٢٨	٣٠
ناخالص	٥٩	٥٢	٤٥	٤٢

جدول ۲- مقدار کای دو نسبت‌های بدست آمدهٔ صفت عطر و طعم در تلاقی رشتی × IR28 با نسبت‌های مختلف ژنتیکی

تعداد بذر باعطرمتوسط / غیرمعطر: معطر	۰	۱	۲	۳
۱:۳	۱۷/۵۰	۱۵/۳۸	۱۳/٤۰	۱۱/٥٦
۳:۱	۲۰٦/۸٤	۱۹۹/۳۸	۱۹۲/۰۷	۱۸٤/۸۹
۳:۱۳	۱۰/٤۲	۸/٦۳	۷/۰۱	٥/٥٦
۱:۱۵	**۰/٤۱**	**۰/۰۳**	**۰/۰۳**	**۰/۰۹**
۱۵:۱	۱۰٦۰/٦۸	۱۰۳۰/٤۳	۱۰۰۰/٦۲	۹۷۱/۲٤
۹:۷	۸٤/۹۲	۸۰/۷۷	۷٦/۷۲	۷۲/۷۷
۲۷:۳۷	٤٥/٤٥	٤۲/٤۲	۳۹/٤۸	۳٦/٦٥
۸۱:۱۷۵	۲٦/٥۹	۲٤/۱٤	۲۱/۸۰	۱۹/٥۹

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- توزیع عطر و طعم برنج در نسل F_2 حاصل از تلاقی رقم رشتی (معطر) با IR28 (غیر معطر)

منابع

۱. نعمت‌زاده، ق.، ع. علی‌اکبر.، ا. توسلی.، ف. فرخزاد و ا. احمدی‌خواه. ۱۳۸۱. تست آللی برای تعیین رفتار اصلاحی عطر و طعم برنج از طریق گازکروماتوگرافی و صفات مورفولوژیکی. چکیده مقالات هفتمین کنگرهٔ علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران، کرج. صفحات ۴۵۲ تا ۴۵۳.

2. Ahn, S. N., Bollich, C. N. and Tanksley, S. D. (1992). RFLP tagging of a gene for aroma in rice. Theoretical and Applied Genetics 84: 825-828.

3. Ali, S. S., Jafri, S. J. H. Khan, M., and Butt, M. A. (1993). Inheritance studies for aroma in two aromatic varieties of Pakistan. International Rice Research Newsletter 18(2): 6.

4. Berner, D. K., and Hoff, B. J. (1986). Inheritance of scent in American long grain rice. Crop Science 26: 876-878.

5. Dhulappanavar, C. V. (1976). Inheritance of scent in rice. Euphytica 25: 659-662.

6. Garland, S., and Henry, R. (2001). Application of molecular markers to rice breeding in Australia. Molecular markers for the *sd-1* and *fgr* genes. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. Australia. 21 Pp.

7. Geetha, S. (1994). Inheritance of aroma in two rice crosses. International Rice Research Newsletter 19 (2): 5.

8. Ghose, R. L. M., and Butany, W. T. (1952). Studies on the inheritance of some characters in rice (*Oryza sativa* L.). Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 12: 26-30.

www.SID.ir

Archive of SID

9. Jin, Q. S., Vanavichit, A., and Tragoonrung, S. (1996). Identification and potential use of a RAPD marker for aroma in rice. Journal of Genetics and Breeding 50: 367-370.

10. Jodon, N. E. (1944). The inheritance of flower fragrance and other characters in rice. Journal of the American Society of Agronomy 36: 844-848.

11. Kadam, B. S., and Patankar, V. K. (1938). Inheritance of aroma in rice. Chronica Botanica 4: 496-497.

12. Lorieux, M., Petrov, M., Huang, N., Guiderdoni, E., and Ghesquiere, A. (1996). Aroma in rice: genetic analysis of a quantitative trait. Theoretical and Applied Genetics 93: 1145-1151.

13. Nagaraju, M., Chaudhary, D., and Rao, M. J. B. (1975). A simple technique to identify scent in rice and inheritance pattern of scent. Current Science 44 (16): 599.

14. 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. 99 Pp.

15. Pinson, S. R. M. (1994). Inheritance of aroma in six rice cultivars. Crop Science 34: 1151-1157.

16. Qing Huang, H., and Ying, Z. X. (1992). Inheritance of aroma in two aromatic rice varieties. International Rice Research Newsletter 17(15): 6-7.

17. Sood, B. C., and Siddiq, E. A. (1978). A rapid technique for scent determination in rice. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 38: 268-271.

18. Tripathi, R. S., and Rao, M. J. B. K. (1979). Inheritance and linkage relationship of scent in rice. Euphytica 28: 319-323.

19. Tsuzuki, E., and Shimokawa, E. (1990). Inheritance of aroma in rice. Euphytica 46: 157-159.

20. Vivekanandan, P., and Giridharan, S. (1994). Inheritance of aroma and breadth wise grain expansion in Basmati and non-Basmati rices. International Rice Research Newsletter 19 (2): 4-5.

www.SID.ir