

بررسی‌های مقدماتی در مورد نحوه وراثت عطر و طعم در برنج (*Oryza sativa* L.)

قربانعلی نعمت‌زاده^۱ و محمد تقی کربلایی^۲
۱، دانشیار دانشکده علوم کشاورزی مازندران - ساری ۲، عضو هیات علمی بخش اصلاح بذر موسسه تحقیقات برنج کشور
تاریخ پذیرش مقاله ۸۰/۳/۳۰

خلاصه

وراثت عطر و طعم برنج در نسل‌های F_1 ، F_2 و F_3 حاصل از تلاقی بین ارقام باسماتی ۳۷۰ و IR36 مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر تعیین وراثت عطر و طعم، ژنوتیپ جمعیت گیاهی F_2 بر اساس آزمون نتاج یا تعیین الگوی تفرق در نسل F_3 حاصل از هر تک بوته F_2 نیز تعیین شد. بذور هیبرید F_1 فاقد عطر و طعم بوده و الگوی تفرق عطر و طعم در نسل F_2 به نسبت ژنتیکی ۳:۱ [۳] غیر معطر به ۱ معطر (۱۹ خالص غیر معطر، ۶۸ ناخالص و ۳۶ خالص معطر) تفکیک گردید. این نتایج نشان می‌دهد که عطر و طعم در ارقام مورد مطالعه به وسیله یک ژن مغلوب کنترل می‌شود ($x^2=1/194$). این نتیجه با استخراج DNA از توده F_2 و تکثیر آن با مارکرهای RAPD (AG8-AR) همبسته با ژن کنترل کننده عطر و طعم مورد بررسی و تایید گردید زیرا مارکر RAPD همبسته با ژن عطر و طعم برنج (AG8-AR) در F_2 نیز با نسبت ژنتیکی ۳:۱ (۳ دارای باند و ۱ بدون باند) مطابقت داشت ($x^2=0/12$) از مجموع ۴۴ نوار (باند) گیاهان خالص معطر و بدون عطر، ۳۲ نوار (باند) معطر و ۱۲ نوار (باند) غیر معطر بوده‌اند. این نتایج نسبت ژنتیکی ۳:۱ برای عطر و طعم برنج وقتی صادق است که جمعیت گیاهی F_2 به دو دسته (معطر و بدون عطر) تقسیم شوند در حالیکه اگر به دستجات بیشتری از جمله غیر معطر، کمی معطر، معطر متوسط، کاملاً معطر تقسیم شوند الگوی تفرق کاملاً عوض می‌شود زیرا تجزیه ۱۲۳۶ تک دانه از نتاج F_2 (یعنی بذور یا نسل F_3)، ۵۲۴ دانه غیر معطر (تیپ IR36)، ۳۲۰ دانه دارای کمی عطر، ۱۳۳ دانه دارای عطر متوسط و ۲۵۹ دانه دارای عطر قوی بوده‌اند (تیپ باسماتی) در این صورت الگوی وراثت عطر و طعم را نمی‌توان با نسبت ژنتیکی ۳:۱ مقایسه نمود.

واژه‌های کلیدی: عطر و طعم، برنج، تفرق ژنتیکی در جمعیت F_2 و F_3 ، مارکرهای مولکولی RAPD.

مقدمه

دارای ساقه‌های باریک و برگ‌های افتاده، آمیلوز ودرجه حرارت ژلاتینی شدن متوسط، غلظت ژل پایین^۲ و عطر و طعم قوی، دانه‌های کشیده استخوانی و خاصیت ری آمدن خوب می‌یابند. اگر چه محققین زیادی در رابطه با وراثت عطر و طعم برنج تحقیقاتی انجام داده‌اند اما توافق کلی درباره ماهیت ژنتیکی و چگونگی انتقال آن وجود ندارد. برخی از محققین باور دارند که عطر و طعم برنج به وسیله یک ژن مغلوب هسته‌ای کنترل می‌شود (۲، ۳، ۷، ۸، ۱۷، ۲۱).

ارقام برنج معطر جایگاه ویژه‌ای در بازارهای بین‌المللی، بویژه در کشورهای خاورمیانه، از جمله ایران دارند. علت چنین اهمیتی به خاطر کیفیت بسیار خوب پخت، افزایش طول دانه بعد از پخت (ری‌آمدن)^۱ و طعم بسیار خوب در موقع مصرف آن می‌باشد. باسماتی ۳۷۰ به عنوان یک والد دهنده عطر و طعم و کیفیت عالی پخت و خوراک در سطح بین‌المللی در بسیاری از پروژه‌های تحقیقاتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این رقم پابلند،

استخراج ترکیبات فرار توسط یورانیوان و توماس (۱۹۹۱) پیشنهاد شده‌اند. مشکل اساسی در استخراج ترکیبات فرار حجم نمونه می‌باشد. برای این کار حداقل سه گرم برنج سفید لازم است در حالیکه در نسل‌های درحال تفکیک در تجزیه تک دانه وزن هزار دانه کمتر از ۱۰ میلی‌گرم می‌باشد.

مواد و روشها

مواد آزمایشی شامل یک رقم معطر (باسماتی ۳۷۰) و یک رقم اصلاح شده بدون عطر و طعم (IR36) بود که از بخش بانک ژن انستیتو تحقیقات بین‌المللی برنج^۵ دریافت گردید. باسماتی ۳۷۰ به عنوان پایه مادری و IR36 به عنوان پایه پدری تلاقی انتخاب شدند. گیاهان F₁ خودگشن شده و جمعیت F₂ را به وجود آوردند. ابتدا بخشی از بذور هیبریدی (F₁) مورد بررسی قرار گرفتند تا الگوی وراثت انتقال عطر و طعم از والدین به F₁ مشخص گردد. سپس ژنوتیپ جمعیت گیاهی F₂ با تجزیه و تحلیل آزمون نتاج (۴۰ دانه F₃ از هر گیاه F₂) بر اساس روش ویل مورین تعیین گردید (سینگ ۱۹۹۴). روش آزمایشگاهی ارزیابی عطر و طعم در برنج به روش پیشنهادی سود و صدیق (۱۹۸۰) انجام پذیرفت. در این روش تک تک دانه‌های جامعه F₂ و F₃ پس از پوست کنده شدن، با پوست کن ساتاک^۶ و به وسیله ماشین (آسیاب) ویل - ال - باگ^۷ با سرعت پایین به مدت ۵ ثانیه آرد گردیدند. دانه برنج آرد شده را در ظرف پتری ریخته و به هر یک ۵۰۰ میکرولیتر هیدروکسید پتاسیم ۰/۳ میلی‌مولار اضافه گردید. درب ظروف پتری را بسته و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اطاق نگهداری شدند. سپس درب تک تک ظروف پتری را باز کرده، وجود یا عدم وجود عطر و طعم، با استشمام کردن آنها به وسیله سه نفر افراد مجرب، مشخص گردید. یک بار نمونه‌ها، بر اساس وجود عطر و طعم و یا عدم آن (بدو گروه) ارزیابی شدند. بار دیگر به چهار گروه (بدون عطر، کمی معطر، عطر متوسط، کاملاً معطر) تقسیم بندی گردیدند.

پینسون (۱۹۹۴) معتقد است که عطر و طعم برنج در رقم جاسمین ۸۵ و لاین PI467917 بوسیله یک ژن مغلوب کنترل می‌شود. در حالیکه در سایر رقم‌های معطر مثل دراگون آی بال 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 (مکانی ژنی مشترک) بوده و ژن دیگر، ژن جدید^۱ می‌باشد که در رقم‌های یاد شده فوق وجود ندارد.

علیرغم نتایج فوق گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد، عطر و طعم برنج به وسیله یک ژن مغلوب (۳ به ۱، غیر معطر به معطر) (۷)، دو ژن غالب با اثرات اپیستازی به نسبت‌های ۹:۷ و ۱:۱۵ (۱۴)، سه ژن با غالبیت ناقص و با نسبت‌ژنتیکی ۲۷:۲۷ کنترل می‌شود (۱۸). گزارش‌هایی نیز حاکی از این است که چهار ژن مغلوب با اثرات اپیستازی مکمل یکدیگر و با نسبت ژنتیکی ۸۱:۱۷۵ عطر و طعم برنج را کنترل می‌کنند (۵). دالاپاناوار و من سین کائی معتقدند که دو ژن غالب مکمل (Sk₁, Sk₂) مسئول کنترل عطر و طعم برنج هستند. هر یک از این ژنها به تنهایی ایجاد عطر و طعم متوسطی می‌نمایند و برای تولید عطر و طعمی معادل والد معطر، وجود هر دو ژن ضروری است و این دو ژن مستقل از یکدیگر می‌باشند در حالیکه گیتا (۱۹۹۴)، معتقد است که دو ژن مغلوب عطر و طعم برنج را کنترل می‌کنند. شی چنگ لین در سال ۱۹۹۱ گزارش داد که در تلاقی بین دو رقم معطر زی - زیانگ^۲ در باسماتی ۳۷۰ و زائوزیانگ^۳ در زی زیانگ الگوی تفرق در F₂ به صورت دو ژنی و به نسبت ۹:۷ یا ۳:۱۳ می‌باشد.

مشکل اساسی در تجزیه و تحلیل عطر و طعم برنج و رفتار اصلاحی آن عدم وجود یک روش مطمئن در اندازه‌گیری آن می‌باشد. چندین روش هر کدام با محاسن و معایبی برای ارزیابی عطر و طعم برنج پیشنهاد گردیدند. روش جویدن^۴ توسط برنر و هاف (۱۹۸۶)، جوشاندن قسمتی از گیاه در آب توسط ناگارجان و همکارانش (۱۹۷۵)، آزمون قلیایی توسط سود و صدیق (۱۹۸۰)، تجزیه شیمیایی توسط لینکر و نیکرسون (۱۹۶۴) و

5. International Rice Research Institute (IRRI)

6. Satake

7. Will - L - Bug

1. Novel gene

2. Xi-Xiang

3. Zao - Xiang

4. Kernel Chewing

DNA^۲ (۲ دقیقه)، ۳۴ درجه سانتی‌گراد برای اتصال^۴ و سپس ادامه چرخه ترموسایکلر از ۹۲ درجه ادامه یافت. پس از انجام PCR (۴۵ دور)، محصول حاصل را در ژل آگارز ۱/۸ درصد الکتروفورز کرده و با اتیدیوم برومید (۵ میکرولیتر در ازای ۱۰۰ میلی‌لیتر ژل) رنگ‌آمیزی کرده و در زیر نور UV به مطالعه باندها پرداخته شد و با دوربین پولاریدو عکسبرداری گردید.

نتایج

F₁ های حاصل از تلاقی رقم معطر (باسماتی ۳۷۰) با رقم اصلاح شده غیر معطر (IR36) فاقد عطر و طعم بودند. این امر نشان‌دهنده این است که عطر و طعم برنج به وسیله ژن یا ژنهای مغلوب کنترل می‌شود. ۱۲۳۶ دانه از ۱۲۳ گیاه F₂ (بذور F₃) بصورت تک دانه ارزیابی شدند. ۵۲۴ دانه غیر معطر ۳۲۰ دانه کمی معطر، ۱۳۳ دانه با عطر متوسط و ۲۵۹ دانه خیلی معطر تعیین شدند (شکل ۱). تجزیه و تحلیل نتایج F₂ (بذور F₃)، شناخت ژنوتیپ گیاه F₂ را میسر می‌سازد. لذا از این طریق (آزمون نتایج) ژنوتیپ عطر و طعم جمعیت گیاهی F₂ نیز مشخص گردید^۵. از ۱۲۳ گیاه F₂، ۳۶ گیاه خالص معطر از تیپ باسماتی ۳۷۰، ۶۸ گیاه ناخالص و ۱۹ گیاه خالص غیر معطر از تیپ IR36 تشخیص داده شدند (شکل ۲). این نتایج با نسبت ژنتیکی ۳:۱ (غیر معطر به معطر) با احتمال P=۰/۰۱ مطابقت دارد زیرا مقدار X² آن برابر ۱/۱۹۴ گردید. نکته قابل ذکر این که اگر چه نتایج فوق با نسبت ۳:۱ سازگار است ولیکن با نسبت ۱:۲:۱ غیر منطبق می‌باشد یعنی با احتمال P=۰/۰۵ مقدار X²=۶/۰۷۱ می‌باشد. زیرا تعداد گیاهان معطر خالص در جمعیت گیاهی F₂ دو برابر تعداد گیاهان خالص غیر معطر می‌باشد. در ابتداء کار تصور می‌شد که دو برابر بودن تعداد گیاهان خالص معطر نسبت به خالص غیر معطر ممکن است به دلیل نقص روش کلاسیک تجزیه عطر و طعم برنج و کم بودن حجم مواد (بودر تک دانه برنج یعنی کمتر از ۱۰ میلی‌گرم از هر نمونه) باشد و همین امر باعث می‌شود که نتایج حاصل با نسبت ژنتیکی ۱:۲:۱ سازگار نباشد. در حالیکه شبیه همین نتیجه در تکثیر DNA به وسیله پرایمر همبسته با عطر و طعم برنج

پس از ارزیابی مرفولوژیکی^۱، DNA جمعیت گیاهی F₂ به روش دلاپورتا (۱۹۸۴) استخراج گردید. پس از استاندارد نمودن دستگاه ترموسایکلر واکنش زنجیره‌ای دی آن ا پلیمرز، پرایمر RAPD)AG8-AR(که قبلاً همبستگی آن با ژن عطر و طعم مشخص شده بود (۱۲) مورد بررسی قرار گرفته و الگوی عطر و طعم جمعیت گیاهی F₂ نیز به وسیله مارکر مولکولی یاد شده مورد بررسی قرار گرفت.

استخراج DNA طبق روش پیشنهادی دلاپورتا (۱۹۸۴) و PCR کردن طبق روش ویلیامز و همکاران (۱۹۹۰) به طور خلاصه به شرح زیر صورت گرفت:

بیست میلی‌گرم برگ تازه برنج برداشت و در ازت مایع سائیده شد، سپس با استفاده از بافر استخراج DNA (EDTA) ۵۰ میلی‌مولار با pH=۸، NaCl ۵۰۰ میلی‌مولار، تریس HCl ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۸ و استات پتاسیم ۵ میلی‌مولار، ۱۶ میلی‌لیتر بافر در ازای ۱۰ میلی‌گرم برگ سائیده، آنرا در ۶۵ درجه به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده، سپس به آن استات پتاسیم (۵ میلی‌مولار) اضافه کرده و به مدت ۲۰ دقیقه (در یخ) به آرامی (بر روی شکر) هم زده شد و سپس سانتریفوژ کرده و محلول روئی آنرا با فیلتر پارچه‌ای^۲ جدا نمودیم. سپس با چند بار مخلوط نمودن با اتانول، و استات سدیم (۳ نرمال) و سانتریفوژ کردن DNA خالص به دست آمده و آنرا در بافر TE نگهداری و آزمون کمی و کیفی طبق دستورالعمل دلاپورتا انجام گردید.

برای آنالیز با مارکر RAPD از ۵۵۰ آغازگر تصادفی استفاده شد. حجم کل هر واکنش تکثیر DNA بوسیله ترموسایکلر، ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۰۰ میلی‌مولار تریس اسید کلریدریک (pH=۸/۳)، ۵۰ میلی‌مولار کلرو پتاسیم، ۱۵ میلی‌مولار کلرو منیزیم، ۰/۰۰۱ درصد ژلاتین، ۰/۴ میلی‌مولار از dNTP (۰/۱) میلی‌مولار برای هر یک از نوکلئوتیدها، ۰/۲ میلی‌مولار پرایمر RAPD (۱۰ مری)، ۲۰ الی ۵۰ نانوگرم DNA و ۱ واحد آنزیم Taq DNA پلی‌مرآز بود. برنامه حرارتی PCR نیز به صورت زیر بوده است: ۹۲ درجه سانتی‌گراد برای واسر شته سازی

3. Denaturation
4. Annealing
5. Genotyping

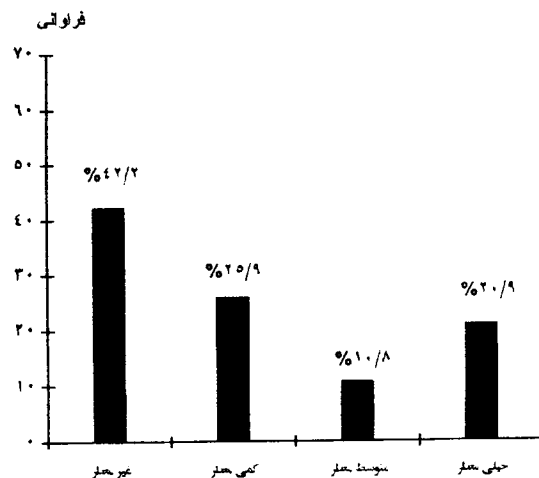
1. Phenotyping
2. Mira cloth

(AG8-AR) نیز به دست آمد یعنی از مجموع دی‌ان‌ا ۴۴ گیاه خالص F₂ (به دلیل موجود بودن دی‌ان‌ا) که مورد تجزیه و تحلیل مولکولی قرار گرفتند تعداد ۳۲ گیاه دارای نوار عطر و طعم شبیه نوار والد معطر (باسماتی ۳۷۰) و ۱۲ گیاه بدون نوار عطر و طعم، شبیه والد غیر معطر (IR36) می‌باشند. این نتیجه تقریباً با نسبت ۳ به ۱ خالص غیر معطر به خالص معطر مطابقت دارد (شکل ۳). زیرا مقدار x² آن برابر ۰/۱۲ گردید. چهار گروه فنوتیپ (بدون عطر، کمی معطر، معطر متوسط و کاملاً معطر) احتمالاً دلالت بر وجود دو ژن در کنترل مقدار عطر و طعم برنج دارد. در صورتیکه بتوان چنین گروه‌هایی را بسط داد، احتمال بیش از دو ژن و یا کمی بودن صفت مطرح می‌شود.

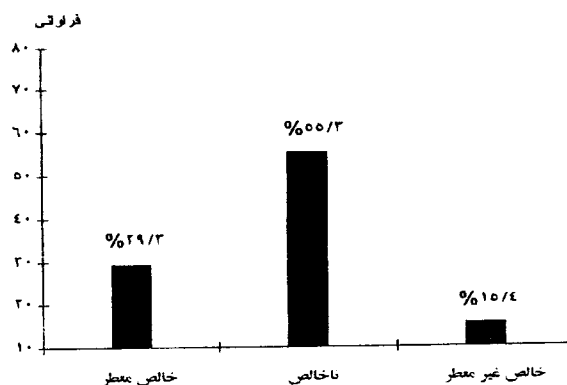
بحث

عطر و طعم برنج به همراه سایر صفات فیزیولوژیکی تعیین کننده کیفیت خوراک برنج (درصد آمیلوز، غلظت ژل، درجه حرارت ژلاتینی شدن و درجه ری آمدن) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. اصولاً اصلاح صفات کیفی از جمله عطر و طعم برنج برای به‌نژادگرهای ایرانی اهمیت به خصوصی دارد. زیرا اصلاح هر محصولی می‌بایست متناسب با سلیقه مردم آن جامعه باشد. اصلاح صفات از جمله عطر و طعم بدون شناخت ماهیت ژنتیکی آنها تقریباً غیر مطمئن است. اصلاح عطر و طعم برنج و یا هر صفتی که بر روی اندوسپرم دانه باشد با سایر صفات زراعی متفاوت است زیرا اندوسپرم دانه همواره یک نسل جلوتر از خود گیاه و یا سایر صفات زراعی است. تحقیقات اصلاح اینگونه صفات مشکل‌تر از سایر صفات می‌باشد مخصوصاً اگر چنین صفات در اندوسپرم، تحت اثرات تعداد ژن^۱ نیز باشند. گزارش‌های ضد و نقیضی در رابطه با ژن‌های کنترل کننده عطر و طعم در برنج وجود دارد (۳، ۹، ۱۴، ۱۷، ۱۸). نتیجه حاصل از این تحقیق در F₁ نشان می‌دهد که این صفت به وسیله ژن یا ژنهای مغلوبی کنترل می‌شود زیرا بدور هیبریدی F₁ فاقد عطر و طعم بودند.

تفکیک فنوتیپی ۳: ۱ در F₂ بیانگر کنترل عطر و طعم برنج به وسیله یک ژن مغلوب می‌باشد (شکل ۲) نتایج به دست آمده با گزارش‌های علی و همکاران (۱۹۹۲)، برنر و هوف (۱۹۸۶)، هو

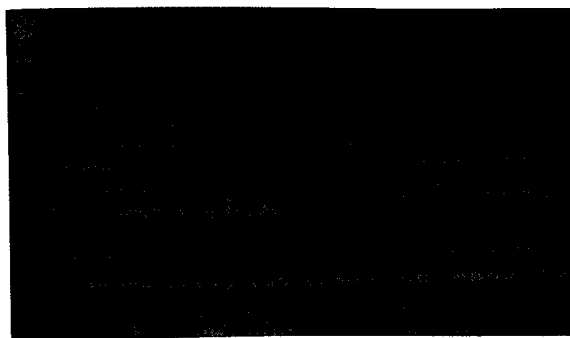


شکل ۱- نمودار توزیع فراوانی عطر و طعم دانه برنج در جامعه F₂ بر اساس تجزیه تک دانه در تلاقی بین باسماتی ۳۷۰ و IR36.



شکل ۲- نمودار توزیع فراوانی گیاه خالص معطر، و ناخالص برای عطر و طعم برنج در جمعیت گیاهی F₂ بر اساس آزمون نتاج در تلاقی بین باسماتی ۳۷۰ و IR36.

m P₁ P₂ 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



شکل ۳- تعیین الگوی تفرق عطر و طعم برنج حاصل از تلاقی باسماتی ۳۷۰ (P₁) در IR36 (P₂) در جمعیت گیاهی F₂ با استفاده از پرایمر AG8-AR از طریق تکنیک PCR. مارکر وزنی m= ستون ۱ الی ۷ گیاهان خالص معطر و ستون ۹ الی ۱۳ گیاهان خالص غیر معطر می‌باشند.

(استشمام کردن) در ارزیابی دقیق اندازه عطر و طعم آنها باشد، ثانیاً حجم بسیار کم نمونه‌ها مخصوصاً در تجزیه تک دانه در نسل‌های در حال تفکیک مزید بر علت می‌شود. ثالثاً به دلیل تاثیر شدید عوامل محیطی آزمایشات لازم باید در محیص‌ها و زمان‌های مختلف صورت گیرد. قطعاً انجام اینگونه آزمایش برای نسل‌های در حال تفکیک عملی نمی‌باشد. رابعاً مطالعه ژنتیکی عطر و طعم در اندوسپرم دانه به دلیل ماهیت 3n کروموزومی اندوسپرم نیز کار پیچیده‌ای می‌باشد و بعضاً هم ممکن است تحت تاثیر تعداد ژن^۱ قرار گیرند. بنابراین توصیه می‌گردد که به جای روش کلاسیک (استشمام کردن) از روش تجزیه شیمیایی با استخراج ترکیبات فرار و تعیین کمیت آنها استفاده گردد. از طرفی با انجام تست‌های آلی^۲ بین ارقام مختلف معطر نیز می‌توان به اطلاعات مفیدتری در خصوص رفتار اصلاحی ژن(های) کنترل کننده عطر و طعم دست یافت. آزمایش‌هایی در این زمینه طراحی شده و در دست اجرا است.

1 . Gene dosage

2 . Allelism Test

و ینک (۱۹۹۲)، سود و صدیق (۱۹۸۰) و گزارش‌های پینسون در مورد جاسمین ۸۵ (۱۹۹۴) مطابقت دارد. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که چنانچه در تجزیه و تحلیل عطر و طعم اگر آنرا به دو گروه (معطر و غیر معطر) تقسیم کنیم و یا آنرا به چهار گروه (فاقد عطر، کمی معطر، عطر متوسط و کاملاً معطر) تقسیم کنیم نتایج به دست آمده متفاوت بوده و الگوی متفاوتی از کنترل ژنتیکی عطر و طعم به دست خواهد آمد. در صورتیکه اگر بتوان چنین دسته‌بندی را بسط داد قطعاً تعداد دستجات بیشتری می‌توان بدست آورد که در این صورت احتمال بیش از دو ژن و یا احیاناً کمی بودن صفت مطرح می‌شود. چنین نتایجی با گزارش تریاتی و راثو (۱۹۷۹) و گزارش پینسون در مورد دراگون آی بال (۱۹۹۴) مطابقت دارد. بنا به تجربه شخصی مولف چنین به نظر می‌رسد که شدت و ضعف تظاهر عطر و طعم برنج تحت تاثیر عوامل محیطی مخصوصاً دما، زمان رسیدن، خواص فیزیکوشیمیایی خاک حتی عرض‌های جغرافیایی قرار دارد. در نتیجه باید اذعان داشت که ضد و نقیض بودن گزارش‌ها در رابطه با رفتار ژنتیکی عطر و طعم برنج می‌تواند اولاً به دلیل ضعف روش‌های کلاسیک

REFERENCES

1. Ahn, S. W, C. N. Bollich, and S. D. Tanksley. 1992. RFLP tagging of a gene for aroma in rice. *Theor. Appl. Genet.* 1993, 84: 825-828.
2. Ali, S. S., S. J. H. Jafari, M. J. Khan, and M. B. Butt. 1993. Inheritance studies for aroma in two aromatic varieties of Pakistan. *Int. Rice. Newsl.* 18: 2 (June 1993), 6.
3. Berner, D. K and B. J. Hoff. 1986. Inheritance of scent in American long – grain rice. *Crop Sci.* 26: 876-878.
4. Dellaporta, S. L., J. Wood, and J. B. Hicks 1984. Maiz DNA miniprep. P. 36-37. In *Molecular Biology of Plants. A Laboratory Course Manual*, Cod Spring Harbor Laboratories New York, 11724.
5. Dhulappanavar, C. V. and S. W. Mensinkai. 1969. Inheritance of scent in rice Karnataka Univ. *J.* 14: 125-129.
6. Geetha, S. 1994. Inheritance of aroma in two rice crosses – *IRRN* 19(2): 5.
7. Ghose, R. L. M. and w. T. Butany. 1952. Studies on the inheritance of some characters in rice (*O. Sativa L.*). *Indian J. Genet. Plant Breed.* 12: 26-30.
8. Hu, Q. H. and Z. X. Ying. 1992. Inheritance of aroma in two aromatic rice varieties. *Int. Rice Res. Newsl.* 17 ils (6-7).
9. Jodon, N. E. and E. A. Sonnier. 1973. Registration of Della rice. *Crop Sci* 13: 774.
10. Linkers. S. T. and G. B. Nikerson. 1964. Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *Am. Soc. Brewing Chemists Proc. Annual Meeting*, P. 5.
11. Nagarajan, M, D. Chudhary, and M. J. Balakrishna Rao. 1975. A. Simple technique to identify scent in rice and inheritance pattern of scent. *Curr. Sci.* 44(16): 599.
12. Nematzadeh, Gh. A. 1995. Mapping genes for grain quality in rice (*O. Sativa L.*) using RAPD and RFLP markers. Ph.D. Thesis UPLP.

13. Pinson, S. R. M. 1994. Inheritance of aroma in six cultivars. *Crop Science* 34: 1151-1157.
14. Reddy, P. R. and K. Sathyanarayanaiah. 1980. Inheritance of aroma in rice. *Indian J. of Genet. & Pl. Breeding* 49(2): 327-329.
15. Shih- Cheng, Lin 1991. Rice aroma; Methods of evaluation and its genetics. *Rice Genetics II*. P. O. Box 933. IRRI. Philippines.
16. Singh, B. D. 1994. *Plant Breeding*, Printed India, P-81.
17. Sood, B. C. and E. A. Siddiqe 1980. Studies on component quality attributes of Basmati rice, *O. Sativa* L. Z. *Pflanzanzuchtg.* 84: 294-301.
18. Tripathi, R. S., and M. J. B. K. Rao. 1979. Inheritance and linkage relationship of scent in rice. *Euphytica*. 28: 319-323.
19. Uraiwan, T. and C. Thomas, 1991. An improved method for quantification of 2- acetyl-1 Pyrolines a popcorn – like aroma in aromatic rice by high – resolution gas chromatography / mass spectrometry / selection ion monitoring. *J. Agric. Food Chem.* 1991, 39: 944-974.
20. Williams. J. G. K., A. R. Kubelic, K. J. Livak, J. A. Rapals K. and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are usefull as genetic markers. *Nucleic Acid Research*. Vol. 18. No. 22. 6531-6535.
21. Ya Iima, I., T. Yanai, and M. Nakamura. 1978. Volatile flavor complements of cooked rice. *Agric Biol. Chem.* 42: 1229.

Preliminary Studies of Aroma Inheritance in Rice (*O. Sativa L.*)

GH. NEMAT ZADEH¹ AND M. TAGHI KARBALAEI²

**1, 2, Assistant Professor, Agricultural College, and Staff Member,
Rice Research Institute, Sari, Mazandaran**

Accepted June. 20, 2001

SUMMARY

Aroma inheritance was studied in a cross between Basmati 370 from Pakistan and India as an aromatic rice and IR36 from IRRI, an improved non-aromatic cultivar. F₁, F₂, and the progenies were analyzed [40 seeds (F₃) from each plant] and the genotype of F₂ plants being determined accordingly. Pattern of F₂ segregation for non aroma was 3: 1 [19 homozygous non scented, 68 heterozygous and 36 homozygous scented plants ($X^2=1.195$)], indicating that aroma is controlled by a recessive gene in these cultivars. This result was confirmed by analyzing F₂ population with RAPD marker (AG8-AR) that is tightly linked to the aroma. The pattern of F₂ segregation linked to AG8-AR marker was 3: 1 [32 aromatic bands and 12 non aromatic bands ($X^2=0.12$)]. A number of 1236 single seeds analyzed in F₂ progenies, showed that 524 were non aromatic (IR 36 type), 320 as slightly aromatic, 133 seeds moderately aromatic (intermediate aromatic) and 259 as strong aromatic (Basmati 370 type). In this case of evaluation aroma is categorized into four classes (non, slight, moderate and strongly aromatic) instead of in two classes (non aromatic and aromatic). The results indicate that aroma is controlled by at least two genes.

Key words: Rice, Aroma, Segregation at F₂ and F₃, Molecular marker, RAPD.

