



انتخاب ژنوتیپ های امید بخش برنج معطر از طریق نشانگر مولکولی ریزماهواره

هاله صادقی^{۱*}، نادعلی بابائیان جلودار^۲، حمید نجفی زرینی^۳، نادعلی باقری^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ۳۰۲. به ترتیب استاد و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

*نویسنده مسئول: هاله صادقی، haleh.sadeghi2011@gmail.com

چکیده

عطر و طعم، یکی از مهم ترین صفات کیفی در برنج است که به عنوان یک مولفه اصلی در تعیین قیمت تجاری این محصول مورد توجه بوده و با هویت محلی و بین المللی آن نیز مرتبط است. استفاده از تکنیک نشانگر های مولکولی به اصلاحگران اجازه می دهد تا مراحل گزینش را با سرعت و دقت بیشتری انجام دهند. تعداد ۶۹ ژنوتیپ امیدبخش برنج به همراه سنگ طارم (شاهد با بیشترین میزان عطر) و L۹۸-۱ (لاین شاهد با کمترین میزان عطر) جهت شناسایی و ارزیابی ژنوتیپی ارقام و لاین ها استفاده شدند. تعداد ۴ نشانگر انتخابی SSR جهت ارزیابی ژنوتیپ ها از نظر میزان عطری بودن دانه بکار برده شدند. ۲ نشانگر بین والدین چندشکلی نشان داده و قادر به تشخیص و تفکیک ژنوتیپ های با عطری بودن متفاوت از یکدیگر بودند. ژنوتیپ هایی که الگوی بانندی مشابه با سنگ طارم و L۹۸-۱ داشتند به ترتیب به عنوان ژنوتیپ های با میزان عطر بالا و ژنوتیپ های با میزان عطر پایین معرفی گردیدند. از میان ژنوتیپ ها، رقم های نوک سیاه، سپیدرود، ندا و لاین های Lcms۷، Lcms۸، L۶۸، L۸۲-۲، L۹۹، L۱۱۱، L۷۳، L۱۰۱، L۵۷، L۱۲۹، L۲۷، L۳۳، L۲، L۲۵، Lcms۵، L۴۹-۴، L۹۸-۲، Lcms۶، L۶۳، L۴۳-۱، L۶۰، L۱۱۲-۲، L۴۳-۲، L۵۸ همراه با شاهد آزمایش یعنی سنگ طارم در یک گروه قرار گرفتند و نیز لاین های Lcms۱۰، Lcms۱۱، JRR12، L۱۲۳، Lcms۹، L۱۱۵، L۱۱۷، L۱۳۳، L۸۰، L۱۱۲-۱، L۲۹، L۳۱، L۹، L۱، L۱۶ و L۷۸ به همراه شاهد آزمایش یعنی L۹۸-۱ در یک گروه قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: برنج، عطر و طعم، نشانگرهای SSR، گزینش به کمک نشانگر (MAS)

مقدمه:

عطر و طعم، یکی از مهم ترین صفات کیفی در برنج است. بیش از ۱۱۴ ترکیب فرار مختلف در برنج عطری یافت شده که اساس بیوشیمیایی عطری بودن، ۲- استیل ۱- پیرولین می باشد (کوواج، ۲۰۰۹). روش های قدیمی انتخاب گیاهان براساس عطری بودن آنها ساده نیست، چون اثرات محیطی زیاد بوده و این صفت وراثت پذیری پائینی دارد. بنابراین آنالیز ژنتیکی این صفت به عنوان یکی از اهداف مهم در برنامه اصلاحی برنج توسط محققین مورد ارزیابی قرار می گیرد. همچنین بررسی اساس



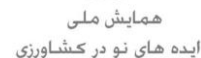
ژنتیکی عطر و طعم در برنج، منجر به شناسایی یک لوکوس روی کروموزوم شماره ۸، به نام *fgr* شد که با عطر و طعم پیوسته است (کبریا، ۲۰۰۸). کبریا و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی خصوصیات زراعی و شناسایی لاین های عطری در ۳۲ لاین F7 حاصل از تلاقی Kalizira (واریده محلی عطری) و Y-1281 (واریده موتانت دارای عملکرد بالا)، بیان داشتند که همبستگی منفی بین عطری بودن و عملکرد دانه وجود دارد. آنها در بررسی خود لاین های حاوی لوکوس عطری بودن را با استفاده از سه نشانگر SSR، RM223، RM342A و RM515 شناسایی کردند. لذا می توان این نشانگرهای SSR را برای شناسایی لوکوس عطری بودن در ژنوتیپ های برنج استفاده کرد. هدف از اجرای این تحقیق گزینش مولکولی لاین های امید بخش برنج از نظر صفت عطری بودن دانه و ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های برنج که می تواند در برنامه های اصلاحی بعدی همچون دورگ گیری به منظور انتقال صفات مطلوب به ارقام مورد نظر به کار گرفته شود.

مواد و روش ها

تعداد ۱۰ رقم زراعی برنج و ۵۹ لاین امید بخش (نسل F8) به همراه دو لاین شاهد شامل سنگ طارم (با عطر بالا) و L98-1 (میزان عطر پایین)، در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۸۸ کشت گردیدند (نمودار ۱). کشت به صورت تک بوته و به فاصله کاشت ۲۵ × ۲۵ سانتی متر انجام شد و عملیات زراعی یعنی وجین، آبیاری، کوددهی و غیره، طبق عرف محل انجام پذیرفت. تعداد ۴ نشانگر ریز ماهواره (RM80 و RM195، RM223، RM339) همبسته با صفت عطر و طعم مورد استفاده قرار گرفت. استخراج DNA از نمونه های برگي سالم به روش CTAB و با کمی تغییر صورت پذیرفت (چن، ۱۹۹۹). ارزیابی کمی و کیفی دی.ان.ای توسط ژل آگارز و روش اسپکتروفتومتری انجام گردید. واکنش زنجیره ای پلیمرز به حجم ۲۰ μl، مطابق روش لاپتین و همکاران (۲۰۰۷) انجام گرفت. تفکیک فرآورده های حاصل از تکثیر PCR روی ژل آگارز ۴ درصد صورت گرفت. رنگ آمیزی با محلول اتیدیوم بروماید با غلظت ۱۰ Mm انجام شد. آنالیز داده های نشانگری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام پذیرفت.

نتایج و بحث

از بین نشانگرهای ریز ماهواره ی مورد استفاده در این مطالعه (RM80 و RM195، RM223، RM339)، نشانگرهای RM223 و RM339 بین شاهد سنگ طارم (با بیشترین میزان عطر) و شاهد L98-1 (با کمترین میزان عطر) چند شکلی نشان دادند. الگوی باندي ژنوتیپ ها و لاین های مختلف در مقایسه با الگوی باندي دو رقم شاهد سنگ طارم و L98-1 امتیاز دهی شدند. ژنوتیپ هایی که الگوی باندي مشابه با سنگ طارم داشتند به عنوان ژنوتیپ هایی با میزان عطر بیشتر و ژنوتیپ



هایی که الگوی باندی مشابه با ۱-۹۸L نشان دادند به عنوان ژنوتیپ هایی با میزان عطر کمتر تعیین گردیدند. رقم های نوک سیاه، سپیدرود، ندا و لاین های ۷Lcms، ۸Lcms، ۲-۸۲L، ۹۹L، ۱۱۱L، ۷۳L، ۱۰۱L، ۵۷L، ۱۲۹L، ۲۷L، ۳۳L، ۲L، ۲۵L، ۵Lcms، ۴-۴۹L، ۲-۹۸L، ۶Lcms، ۱-۴۳L، ۶۰L، ۲-۱۱۲L، ۲-۴۳L، ۵۸L همراه با شاهد آزمایش یعنی سنگ طارم در یک گروه و نیز لاین های ۱۰Lcms، ۱۱Lcms، IRRI2، ۱۲۳L، ۹Lcms، ۱۱۵L، ۱۱۷L، ۱۳۳L، ۸۰L، ۱-۱۱۲L، ۲۹L، ۳۱L، ۹L، ۱L و ۱۶ و ۷۸L به همراه شاهد آزمایش یعنی ۱-۹۸L در گروه دیگری قرار گرفتند. ۳۶ درصد ژنوتیپ ها در گروه هایی قرار دارند که بین دو شاهد سنگ طارم و ۱-۹۸L می باشند. این لاین ها از لحاظ دارا بودن عطر حد واسط بین دو شاهد می باشند (نمودار ۱). آماراواتی و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی ۲۰۹ لاین ایزوژن نو ترکیب حاصل تلاقی بین واریته Basmati با کیفیت بالا (pusa1121) و یک لاین با کیفیت پایین (pusa1342)، ۳ مکان ژنی برای صفت عطری، روی کروموزوم های ۳، ۴ و ۸ یافتند و اظهار داشتند موثرترین مکان ژنی کنترل کننده این صفت روی بازوی بلند کروموزوم ۸ پیوسته با آغازگرهای RM80 و RM223 می باشد. بگوم و همکاران (۲۰۰۶) اظهار داشتند ۳ مارکر SSR (RM223)، (RM342a، RM515) روی کروموزوم ۸، همبستگی بسیار نزدیک با Aroma داشته و برای تصدیق وجود ژن fgr مورد استفاده قرار می گیرند. جین و همکاران (۲۰۰۴) اظهار داشتند مارکرهای SSR، RM342A، RM223 و RM515 پلی مورفیسم بالایی را بین انواع برنج معطر Basmati و nonBasmati نشان می دهند.

1. Amarawati, Y., R. Singh, A. K. Singh, V. P. Singh, T. Mohapatra, T. R. Sharma and N. K. Singh. 2008. Mapping of quantitative trait loci for basmati quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Breeding*. 21: 49-65.
2. Begum SN. 2006. Development of Basmati-derived rice lines for grain quality and resistance to bacterial blight. Ph.D. Thesis Bangladesh Agric. Univ., Mymensingh. pp. 215.
3. Chen DH, Ronald PC. 1999. A rapid DNA minipreparation method suitable for AFLP and other PCR applications. *Plant Mol. Biol. Rep.* 17: 53-57.
4. Kibria K, Islam M M, Begum SN. 2008. Screening of aromatic rice lines by phenotypic and molecular markers. *Bangladesh J. Bot.* 2: 141-147.
5. Kovach M J, Calingacion M N, Fitzgerald MA, McCouch R. 2009. The origin and evolution of fragrance in rice (*Oryza sativa* L.). *PNAS*. 106: 14444-14449.
6. Jain N, Jain S, Saini N, Jain R K. 2006. SSR analysis of chromosome 8 regions associated with aroma and cooked kernel elongation in Basmati rice. *Euphytica*. 152: 259-273.
7. Yang DS, Lee KS, Jeong OY, Kim KJ, Kays SJ. 2008. Characterization of volatile compounds in cooked black rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 235-240.

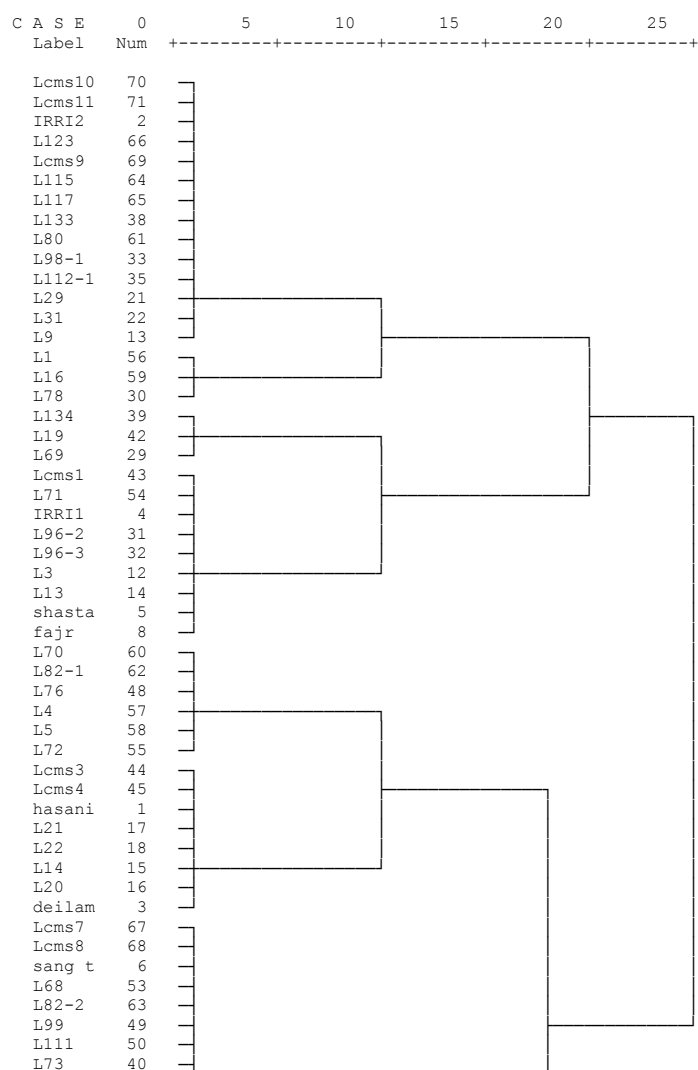


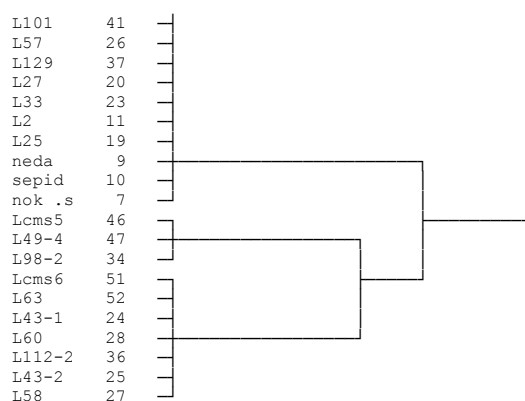
ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی





نمودار ۱- طبقه بندی ۷۱ ژنوتیپ برنج مورد مطالعه براساس داده های ژنوتیپی

Screening of aromatic rice promising genotypes by using SSR markers

Sadeghi, h^{1*}, Babaeian, J, N. A², Najafi, z, H.³, Bagheri, N. A³

1. Student of master of science 2, 3. Professor and Assistance Professor
Sari University of Agricultural Science and Natural Resources, Sari, Iran

*Corresponding E-mail address: haleh.sadeghi2011@gmail.com

Abstract

Fragrance is considered one of the most important grain quality traits in rice, as it is a key factor in determining market price and is related to both local and national identity. Molecular markers assisted breeders to do selectivity rapidly and accurately. Number of 69 promising lines along with sang tarom (control line with most aroma) and L98-1 (control line with least aroma) for identifying genotypical lines aspect of fragrance were used. Four microsatellite markers were used to evaluation of genotypes. Two markers showed polymorphism between control varieties and could segregate genotypes with different fragrance. Genotypes that had same banding pattern with controls sang tarom and L98-1 were introduced as high and low fragrance, respectively. Cluster analysis placed genotypes of nok siah, sepid rood and neda, Lcms7, Lcms8, L68, L82-2, L99, L111, L73, L101, L57, L129, L27, L33, L2, L25, Lcms5, l49-4, L98-2, Lcms6, L63, L43-1, L60, L112-2, L43-2 and L58 with control genotype (sang tarom) that had high fragrance in apart group and Lcms10, Lcms11, IRR12, L123, Lcms9, L115, L117, L133, L80, L112-1, L29, L31, L9, L1, L16 and L78 genotypes with control line (L98-1) in other group that had low fragrance.



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

Key words: rice, aroma, SSR markers, Marker assisted selection (MAS).