الگوی تفرق ژن عطر در برنج و انتخاب مولکولی برای آن

غفار کیانی[۱*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۷/۲۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۲۵)

چکیده

برنج غذای اصلی مردم ایران بوده و عطر و طعم یکی از صفات مهمی است که نقش اساسی در بازارپسندی و قیمت برنج دارد. در این تحقیق، وراثت عطر و طعم برنج در نسل F_2 حاصل از تلاقی رقم معطر سنگ طارم با هر یک از ارقام غیرمعطر ندا و نعمت مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، علاوه بر ارزیابی فنوتیپی براساس آزمون قلیایی از نمونه‌های برگی، ارزیابی ژنوتیپی نیز براساس نشانگر عطر انجام گرفت. براساس نتایج به‌دست آمده، ارزیابی فنوتیپی در جمعیت‌های در حال تفکیک F_2 نسبت تفرق ۳: ۱ (غیرمعطر: معطر) را نشان داد. در ارزیابی مولکولی نیز نسبت تفرق ۱: ۲: ۱ (معطر: هتروزیگوت: غیرمعطر) با استفاده از نشانگر عطر مشاهده گردید. این نتایج نشان‌دهنده تک‌ژنی و مغلوب بودن ژن عطر در رقم سنگ طارم می‌باشد. هم‌چنین، از انتخاب به کمک نشانگر برای شناسایی بوته‌های معطر خالص در جمعیت‌های F_2 استفاده گردید. بدین ترتیب که پس از انتخاب تک‌بوته‌های برتر از نظر فنوتیپی، در سطح مولکولی به غربالگری و انتخاب تک‌بوته‌های معطر خالص در جمعیت‌های مذکور اقدام شد و گیاهان هموزیگوت برای ژن عطر با ویژگی‌های خوب زراعی شناسایی شدند.

واژه‌های کلیدی: ژنتیک عطر و طعم، انتخاب به کمک نشانگر

۱. گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ghkiani@gmail.com

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.8.8]

مقدمه

برنج مهم‌ترین محصول غذایی و تأمین‌کننده غذای تقریباً نیمی از جمعیت جهان به ویژه در آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین است (۶). برنج معطر ارزش خاصی در صادرات داشته و از قیمتی بیشتر در تجارت جهانی نسبت به برنج غیرمعطر برخوردار می‌باشد (۱۶). اصلاح‌گران از روش‌های مختلفی برای ارزیابی و انتخاب ارقام معطر استفاده می‌کنند. این روش‌ها عبارت‌اند از جویدن بذر، روش شیمیایی و روش گاز کروماتوگرافی. عطر در بافت برگ برنج معطر نیز وجود دارد و برای تشخیص آن از محلول قلیائی هیدروکسید پتاسیم استفاده می‌شود (۱۷). اما ارزیابی عطر با روش‌های سنتی وقت‌گیر و دشوار بوده و به نتایج اطمینان کمتری نیز هست. روش دیگر برای ارزیابی عطر در برنج، استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌باشد که مزایایی از قبیل ارزانی، سرعت و قابلیت اعتماد بسیار بالایی دارد (۲).

مطالعات ژنتیکی درباره توارث عطر در برنج نشان می‌دهد که یک ژن مغلوب روی کروموزم ۸ (fgr) کنترل عطر و طعم در برنج را به عهده دارد (۵، ۸، ۱۰ و ۱۳). پینسون (۱۴) معتقد است که عطر و طعم برنج در رقم جاسمین ۸۵ و لاین PI467917 به‌وسیله یک ژن مغلوب کنترل می‌شود. در حالی‌که در سایر ارقام معطر نظیر دراگون آی. بال ۱۰۰ به‌وسیله دو ژن کنترل می‌شود. با این وجود، مطالعات دیگری نیز وجود دارد که سیستم دو ژنی را برای عطر در برنج گزارش نموده‌اند (۷، ۱۴ و ۱۸). برادبری و همکاران (۱ و ۲) گزارش کردند که ژن badh2 همان ژن عطر در برنج می‌باشد، زیرا این ژن در مقایسه با ژن Badh2 طبیعی که بتائین آلدهید دهیدروژناز ۲ (BADH2) را تولید می‌کند دارای حذف شدگی ۸ جفت بازی و سه SNP در اگزون ۷ دارد. آنان نشانگرهای مولکولی را برای تعیین ژنوتیپ عطر در برنج طراحی نمودند. شی و همکاران (۱۶) یک آلل جدید عطر (badh2-E2) در برنج را شناسایی کردند که توالی مشابه آلل Badh2 در اگزون ۷ داشت، اما یک حذف شدگی ۷ جفت بازی در اگزون ۲ داشت. آنان نیز نشانگرهای مولکولی را برای تعیین ژنوتیپ عطر در برنج طراحی نمودند. چن و همکاران (۳) تأیید کردند که پروتئین BADH2 حاصل از ژن Badh2 از طریق ممانعت از بیوسنتز ۲. استیل−۱. پیرولین (2AP، مهم‌ترین ترکیب معطر در ارقام معطر) باعث فقدان عطر در برنج می‌شود. از این رو، عطر در برنج با افزایش سطوح ۲. استیل− ۱. پیرولین (2AP) همراه است (۱۹ و ۲۱).

روش‌های اصلاحی کلاسیک برای انتخاب بهترین تیپ گیاه، بستگی کامل به شرایط محیطی و سن گیاه دارد تا امکان تظاهر صفات مختلف میسر گردد. به‌نژادگرها بسیار علاقمند هستند که مجهز به فناوری جدیدی شوند که نه تنها دقت کار آنها را افزایش داده، بلکه مدت زمان در اصلاح نباتات را نیز کاهش دهد. امروزه نشانگرهای مولکولی چنین امکانی را فراهم آورده تا به‌نژادگرها بتوانند در مدت زمان بسیار کوتاه‌تری به اهداف اصلاحی خود دست یابند. در زمینه استفاده از نشانگرهای مولکولی برای اصلاح کیفیت برنج می‌توان به گزارش‌های جین و همکاران (۹) و یی و همکاران (۲۰) اشاره کرد که با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر (MAS)، خصوصیات کیفی ارقام غیرمعطر برنج را اصلاح کردند. تحقیق حاضر با هدف بررسی توارث ژن عطر در رقم سنگ طارم و غربالگری تک‌بوته‌های معطر در جمعیت‌های درحال تفرق F_2 از طریق MAS اجرا شده است.

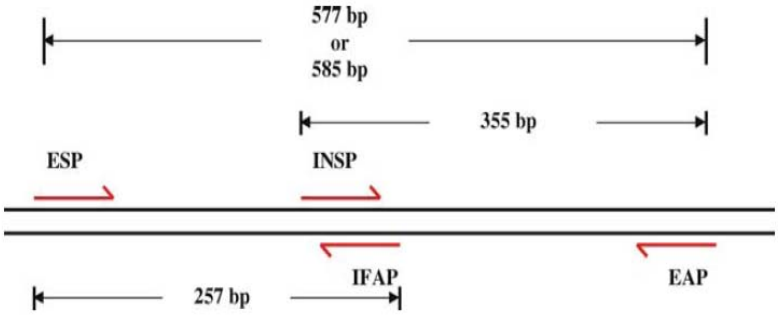
مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این مطالعه، از رقم معطر سنگ طارم و ارقام برنج پرمحصول و غیر معطر ندا و نعمت استفاده گردید. در سال اول، ابتدا تلاقی بین سنگ طارم با هر یک از دو رقم غیر معطر مذکور صورت گرفت. سپس بذرهای F_1 حاصل از این تلاقی‌ها برای به دست آوردن بذرهای F_2 در سال بعد کشت شدند. در سال سوم، دو جمعیت F_2 (جمعیت اول مشتمل بر ۱۹۱ بوته و جمعیت دوم دارای ۱۸۹ بوته) در مزرعه پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری کشت گردیدند. عملیات زراعی متداول در منطقه از قبیل کوددهی، سمپاشی و وجین در طول رشد گیاهان انجام داده شد.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.8.8]



شکل ۱. موقعیت آغازگرهای مورد استفاده در ژنوتیپینگ عطر همراه با وزن باندهای مربوط به آنها (۲)

ارزیابی فنوتیپی

برای ارزیابی فنوتیپی نحوه تفرق عطر، نمونه‌های برگی از تک‌بوته‌های جمعیت‌های F_2 مورد مطالعه جمع‌آوری و با روش هیدروکسید پتاسیم (KOH) به بررسی وجود عطر در نمونه‌های برگی تک‌بوته‌ها اقدام گردید (۱۷). بدین منظور، ۲ گرم بافت برگی از تک‌بوته‌ها در مرحله پنجه‌زنی برداشت و به قطعات کوچک‌تر تقسیم شده و به تیوب‌های آزمایشی انتقال داده شدند. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم ۱/۷٪ به هر یک از تیوپ‌ها اضافه گردید. تیوپ‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس با باز کردن درب تیوپ‌ها از طریق بویایی، وجود و یا عدم وجود عطر مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۷). بر این اساس، بوته‌ها در دو گروه معطر یا غیرمعطر دسته‌بندی شدند. برای آزمون انطباق نسبت‌های ژنتیکی از آزمون مربع کای استفاده گردید.

ارزیابی مولکولی

از نمونه‌های برگی تک‌بوته‌های برنج، DNA به روش دلاپورتا و همکاران (۴) استخراج شد. ارزیابی مولکولی عطر با استفاده از آغازگرهای IFAP، INSP و EAP (شکل ۱) انجام شد (۲). مخلوط واکنش PCR شامل ۰/۲ میکرولیتر آنزیم *Taq* پلی‌مراز (۵ واحد)، یک میکرولیتر DNA الگو (۱۰ نانوگرم در میکرولیتر)، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰x، یک میکرولیتر $MgCl_2$ (۵۰ میلی‌مولار)، یک میکرولیتر dNTPs (۵ میلی‌مولار) و ۲/۵ میکرولیتر از هر آغازگر (۲ میکرومولار)، در حجم کل ۲۵ میکرولیتر بود. شرایط دمایی به‌صورت واسرشته سازی اولیه ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۲ دقیقه، ۳۰ چرخه از ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ ثانیه، ۵۸ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ ثانیه، ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ ثانیه و گسترش نهایی ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه بود (۲). محصولات PCR پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵٪ جداسازی شدند. از مارکر وزنی ۱۰۰ جفت بازی برای برآورد اندازه قطعه PCR استفاده شد.

نتایج و بحث

الگوی تفرق ژن عطر

نتاج نسل F_1 حاصل از تلاقی سنگ طارم (معطر) × رقم ندا (غیرمعطر) و هم‌چنین سنگ طارم × نعمت فاقد عطر بودند. این امر نشان‌دهنده کنترل ژنتیکی عطر توسط ژن(های) مغلوب می‌باشد. نتایج بررسی الگوی تفرق صفت عطر در جمعیت‌های F_2 مورد مطالعه یعنی سنگ طارم × ندا و سنگ طارم × نعمت به‌ترتیب روی ۱۹۱ و ۱۸۹ تک‌بوته از طریق روش بویایی نمونه‌های برگی تک‌بوته‌ها با استفاده از محلول هیدروکسید پتاسیم در جدول ۱ آمده است. بر این اساس، تک‌بوته‌های جوامع مورد مطالعه در دو گروه غیرمعطر و معطر گروه‌بندی شدند. نسبت‌های تفرق مشاهده شده برای جمعیت‌های سنگ طارم × ندا و سنگ طارم × نعمت به‌ترتیب برابر با ۱۵۳: ۳۸ و ۱۴۸: ۴۱ به‌دست آمدند. این نتیجه با نسبت ژنتیکی ۱:۳ (غیرمعطر: معطر) در سطح احتمال P= 0.01 مطابقت دارد، زیرا

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.8.8]

جدول ۱. الگوی تفرق عطر در جمعیت‌های F_2 براساس ارزیابی فنوتیپی

جمعیت	تعداد کل بوته	تعداد بوته‌های غیرمعطر	تعداد بوته‌های معطر	X^2
سنگ طارم × ندا	۱۹۱	۱۵۳	۳۸	۲/۶۵۵ ns
سنگ طارم × نعمت	۱۸۹	۱۴۸	۴۱	۱/۱۰۳ ns

مقدار X^2 بحرانی برای نسبت تفرق ۳:۱ با یک درجه آزادی در سطوح ۵٪ و ۱٪ به‌ترتیب برابر ۳/۸۴ و ۶/۶۴ می‌باشد.

جدول ۲. الگوی تفرق عطر در جمعیت‌های F_2 براساس ارزیابی مولکولی

جمعیت	تعداد کل بوته	تعداد بوته‌های معطر خالص	تعداد بوته‌های هتروزیگوت	تعداد بوته‌های غیرمعطر	X^2
سنگ طارم × ندا	۱۹۱	۵۱	۱۰۳	۳۷	۳/۲۳۰ ns
سنگ طارم × نعمت	۱۸۹	۴۹	۱۰۲	۳۸	۲/۴۷۱ ns

مقدار X^2 بحرانی برای نسبت تفرق ۱:۲:۱ با دو درجه آزادی در سطوح ۵٪ و ۱٪ به‌ترتیب برابر ۵/۹۹ و ۹/۲۱ می‌باشد.

مقدار X^2 آنها به‌ترتیب برابر ۲/۶۵۵ و ۱/۱۰۳ گردید. نتایج ارزیابی مولکولی الگوی تفرق صفت عطر در جمعیت‌های مورد مطالعه با استفاده از نشانگر آن در جدول ۲ آمده است. با توجه به این‌که این نشانگر قابلیت تشخیص بوته‌های با ژنوتیپ خالص معطر، هتروزیگوت و غیرمعطر را داراست (۳)، نسبت تفرق مشاهده شده بر این اساس در جمعیت‌های سنگ طارم × ندا و سنگ طارم × نعمت به‌ترتیب برابر با ۵۱: ۱۰۳: ۳۷ و ۴۹: ۱۰۲: ۳۸ مشاهده گردید. این نسبت‌ها با نسبت مورد انتظار ۱:۲:۱ (معطر: هتروزیگوت: غیرمعطر) انطباق دارند، زیرا مقدار X^2 محاسبه شده آنها غیرمعنی‌دار بود که نشان‌دهنده الگوی تفرق تک‌ژن مغلوب در جمعیت‌های F_2 می‌باشد. به‌طورکلی، نتایج ارزیابی فنوتیپی و نیز مولکولی در این تحقیق نشان‌دهنده کنترل صفت عطر به‌صورت مغلوب و تک‌ژنی در رقم معطر سنگ طارم می‌باشد. این نتایج در انطباق با نتایج بسیاری از محققین دیگر است (۵، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱۳).

انتخاب به کمک نشانگر برای ژن عطر

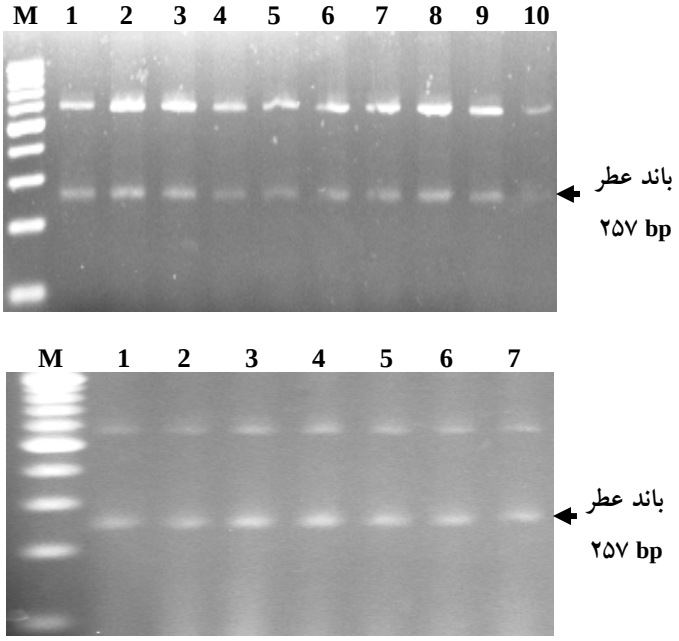
با هدف شناسایی تک‌بوته‌های معطر خالص به انتخاب مولکولی به کمک نشانگر (MAS) در جوامع در حال تفکیک F_2 مبادرت گردید. ابتدا تک‌بوته‌ها در هر دو جمعیت از نظر ویژگی‌های مهم زراعی نظیر زودرسی، ارتفاع، طول خوشه و تعداد پنجه مورد ارزیابی و انتخاب اولیه قرار گرفتند. سپس با استفاده از نشانگر عطر بوته‌های معطر خالص مورد شناسایی قرار گرفتند. این نشانگر به‌طور مؤثر بوته‌های معطر خالص را از بوته‌های غیرمعطر و هتروزیگوت متمایز نمود. به‌طوری‌که بوته‌های معطر هر دو باند مورد انتظار با وزن‌های مولکولی ۵۸۰ و ۲۵۷ جفت باز را تولید نمودند. باند اول حاصل از آغازگرهای EAP و ESP بوده و به‌عنوان کنترل داخلی عمل می‌کند. یعنی وجود این باند حاکی از کارکرد صحیح PCR است. دومین باند مربوط به عطر می‌باشد که حاصل آغازگرهای IFAP و ESP می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که در جمعیت‌های سنگ طارم × نعمت و سنگ طارم × ندا به‌ترتیب تعداد ۱۰ و ۷ بوته معطر خالص با ویژگی‌های زراعی مطلوب شناسایی شدند (شکل ۲). ضمن بذرگیری از این ژنوتیپ‌ها، ویژگی‌های مهم زراعی آنها نیز یادداشت‌برداری گردید (جدول ۳). سایر ارزیابی‌ها روی این لاین‌ها در نسل‌های متعاقب براساس روش شجره‌ای استوار خواهد بود.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.8.8]

جدول ۳. مشخصات زراعی تک‌بوته‌های انتخابی از جمعیت‌های F_2 مورد مطالعه

بوته	ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)	تعداد پنجه	طول خوشه (سانتی‌متر)	تعداد دانه در خوشه	وزن هزار دانه (گرم)
۱	۱۴۰	۳۲	۳۰/۷	۸۵	۲۲/۹
۲	۱۳۰	۲۹	۲۶	۱۱۶	۲۵/۵
۳	۱۴۶	۱۹	۳۰	۱۱۶	۲۲/۷
۴	۱۶۳	۲۰	۳۴	۱۳۸	۲۹/۰
۵	۱۷۰	۱۵	۳۴/۷	۱۵۸	۲۵/۸
۶	۱۳۱	۳۱	۳۳	۱۲۸	۳۱
۷	۱۲۹	۲۰	۲۶/۵	۸۵	۲۳/۷
۸	۱۳۸	۳۰	۳۰	۱۴۸	۳۴
۹	۱۴۵	۱۳	۳۷	۱۵۲	۲۹
۱۰	۱۶۷	۲۲	۳۵/۷	۱۱۱	۲۹/۲
۱۱	۱۶۹	۱۸	۳۵/۵	۸۰	۲۰
۱۲	۱۵۱	۲۵	۳۴	۹۴	۲۶/۲
۱۳	۱۵۰	۲۸	۳۲	۱۷۲	۲۸/۸
۱۴	۱۳۰	۱۴	۲۶	۱۳۹	۲۶/۸
۱۵	۱۵۳	۱۶	۳۰	۱۴۱	۲۱/۶
۱۶	۱۷۵	۱۸	۳۱/۷	۴۸	۱۴/۵۷
۱۷	۱۴۳	۲۸	۳۲	۱۹۸	۲۷/۲۰



شکل ۲. الگوی باندی بوته‌های معطر خالص شناسایی شده با استفاده از نشانگر عطر در جمعیت‌های سنگ‌طارم × نعمت (شکل بالا) و سنگ طارم × ندا (شکل پائین). M مارکر وزنی است.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.8.8]

نهایتاً از این لاین‌ها ارقام معطر برنج با ویژگی‌های زراعی مطلوب در آینده به‌دست خواهد آمد.

از انتخاب به کمک نشانگر (MAS) می‌توان در مراحل اولیه رشد گیاه استفاده نمود. این کار به‌خصوص برای صفاتی نظیر کیفیت دانه که در مراحل آخر رشد قابل ارزیابی هستند، بسیار مهم است. بنابراین، بوته‌های نامطلوب را می‌توان به سرعت در مراحل اولیه رشد گیاه از طریق راهکار MAS حذف نمود. هم‌چنین با استفاده از آن ژنوتیپ گیاه را در وضعیت هموزیگوت و هتروزیگوت تشخیص داد که این کار از طریق انتخاب فنوتیپی میسر نمی‌باشد. این مزایا باعث سرعت بخشیدن به برنامه‌های اصلاحی می‌شود (۱۱ و ۱۵). از MAS به‌طور موفقیت‌آمیز برای اصلاح کیفیت برنج استفاده شده است. به‌طور مثال، جین و همکاران (۹) خصوصیات کیفی رقم برنج II-32B را از طریق انتخاب به کمک نشانگر مولکولی اصلاح نمودند. آنها نهایتاً ۱۷ لاین اصلاحی را با خصوصیات کیفیتی مطلوب شناسایی نمودند. هم‌چنین یی و همکاران (۲۰) خصوصیات کیفی رقم برنج غیرمعطر Manawthukha را از طریق MAS اصلاح نمودند. آنها ۱۲ لاین اصلاحی با خصوصیات کیفیتی و زراعی مطلوب را شناسایی کردند.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، ضمن مطالعه نحوه کنترل ژنتیکی عطر در برنج که به‌صورت تک ژن مغلوب عمل می‌کرد، با استفاده از انتخاب فنوتیپی و متعاقب آن انتخاب مولکولی تک‌بوته‌های معطر خالص از جوامع در حال تفکیک F_2 به تعداد ۱۷ ژنوتیپ معطر خالص با ویژگی‌های زراعی مطلوب شناسایی شدند. این کار از نظر تلفیق اصلاح کلاسیک و اصلاح مولکولی می‌تواند حائز اهمیت باشد و روند توسعه و تولید لاین‌های جدید معطر را در اصلاح برنج تسریع نماید.

منابع مورد استفاده

1. Bradbury, L. M. T., T. L. Fitzgerald, R. J. Henry, Q. S. Jin and D. L. E. Waters. 2005a. The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnology Journal* 3: 363-370.
2. Bradbury, L. M. T., R. J. Henry, Q. S. Jin, R. F. Reinke and D. L. E. Waters. 2005b. A perfect marker for fragrance genotyping in rice. *Molecular Breeding* 16: 279-283.
3. Chen, S., Y. Yang, W. Shi, Q. Ji, F. He, Z. Zhang, Z. Cheng, X. Liu and M. Xu. 2008. Badh2, encoding betaine aldehyde dehydrogenase, inhibits the biosynthesis of 2-acetyl-1-pyroline, a major component in rice fragrance. *The Plant Cell* 20: 1850-1861.
4. Dellaporta, S. L., J. Wood and J. B. Hicks. 1983. A plant DNA mini-preparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1: 19-21.
5. Dong, J. Y., E. Tsuzuki and H. Terao. 2000. Inheritance of aroma in four rice cultivars (*Oryza sativa* L.). *International Rice Research Notes* 25: 2.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2004. The State of Food and Agriculture 2003–2004. Agricultural Biotechnology: Meeting the Needs of the Poor? Available at: www.fao.org/docrep/, last accessed on 1 June 2005.
7. Geetha, S. 1994. Inheritance of aroma in two rice crosses. *International Rice Research Notes* 19(2): 5.
8. Jin, L., Y. Lu, Y. Shao, G. Zhang, P. Xiao, S. Shen, H. Corke and J. Bao. 2010. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science* 51: 59-64.
9. Jin, Q. S., D. Waters, G. M. Cordeiro, R. J. Henry and R. F. Reinke. 2003. A single nucleotide polymorphism (SNP) marker linked to the fragrance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science* 165: 359-364.
10. Lorieux, M., M. Petrov, N. Huang, E. Guiderdoni and A. Ghesquiere. 1996. Aroma in rice: Genetic analysis of a quantitative trait. *Theoretical and Applied Genetics* 93: 1145-1151.
11. Morris, M., K. Dreher, J. M. Ribaut and M. Khairallah. 2003. Money matters (II): Costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and marker aided selection. *Molecular Breeding* 11: 235_247.
12. Nematzadeh, G. A. and M. T. Karbalaei. 2002. Preliminary studies of aroma inheritance in rice (*Oryza sativa* L.). *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 33(1): 29-35. (In Farsi).

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.8.8]

13. Nematzadeh, G. A., N. Huang and G. S. Khush. 2004. Mapping the gene for aroma in rice (*Oryza sativa* L.) by bulk segregant analysis via RAPD markers. *Journal of Agricultural Science and Technology* 6: 129-137.
14. Pinson, S. R. M. 1994. Inheritance of aroma in six rice cultivars. *Crop Science* 34: 1151-1157.
15. Ribaut, J. M. and D. Hoisington. 1998. Marker-aided selection: New tools and strategies. *Trends in Plant Science* 3: 236-239.
16. Shi, W. W., Y. Yang, S. H. Chen and M. L. Xu. 2008. Discovery of a new fragrance allele and the development of functional markers for the breeding of fragrant rice varieties. *Molecular Breeding* 22: 185-192.
17. Sood, B. C. and E. A. Seddiq. 1978. A rapid technique for scent determination in rice. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 38: 268-271.
18. Vivekanandan, P. and S. Giridharan. 1994. Inheritance of aroma and breadth wise grain expansion in Basmati and non-Basmati rices. *International Rice Research Notes* 19(2): 4-5.
19. Widjaja, R., J. D. Craske and M. Wootton. 1996. Comparative studies on volatile components of non-fragrant and fragrant rices. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70: 151-161.
20. Yi, M., K. T. New, A. Vanavichit, W. Chai-Arree and T. Toojind. 2009. Marker assisted backcross breeding to improve cooking quality traits in Myanmar rice cultivar Manawthukha. *Field Crops Research* 113: 178-186.
21. Yoshihashi, T. 2002. Quantitative analysis on 2-acetyl-1-pyrroline of aromatic rice by stable isotope dilution method and model studies on its formation during cooking. *Journal of Food Science* 67: 619-622.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2025-05-17]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1391.2.6.8.8]