

ردیابی مولکولی ژن عطر و طعم در تلاقی‌های مرکب برنج

کاملیا کتالانی^{۱*}، قربانعلی نعمت زاده^۲، غفار کیانی^۳، سید حمیدرضا هاشمی^۴

۱- دانشجوی کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- استاد و محقق ارشد پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم

کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۴- کارشناس ارشد پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان

* katalanik@yahoo.com

چکیده

عطر و طعم از جمله مهم‌ترین عوامل دخیل در کیفیت و بازارپسندی برنج می‌باشد. به منظور اصلاح صفت عطر و طعم در رقم جدید قائم از چهار رقم محلی و اصلاح‌شده شصتک، دم‌سیاه، فجر و نعمت استفاده گردید. تلاقی‌های ممکن یک‌طرفه با ثابت بودن رقم قائم به عنوان پایه مادری انجام، و در ادامه کلیه تلاقی‌های مرکب $(n(n-1)/2 = 6)$ بین هیبریدهای حاصله صورت گرفت. در ابتدا به منظور استفاده از قابلیت تکنیک انتخاب به کمک نشانگر (MAS) والدین بر اساس وجود ژن عطر و طعم مورد ارزیابی قرار گرفتند. در بین والدین، فجر و دم‌سیاه دارای ژن عطر بوده و با اطمینان از کارایی نشانگر در تشخیص بوته‌های معطر، ژن عطر در جمعیت تلاقی مرکب نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس خصوصیات ظاهری و تیپ مناسب بوته در جمعیت تلاقی مرکب ۴۳ بوته انتخاب، که از آن میان ۴ بوته هموزیگوس و ۱۸ بوته هتروزیگوس بودند. در تمامی تلاقی‌ها به جز تلاقی شصتک/قائم // نعمت/قائم (به علت نبود والد فجر و دم‌سیاه در تلاقی) باندهای مربوط به ژن عطر و طعم ردیابی شدند. در این تحقیق انتخاب به کمک نشانگر برای صفت عطر و طعم با استفاده از ردیابی ژن مغلوب *fg2* توسط نشانگرهای تخصصی برادبری (ASA) صورت گرفت، که منجر به شناسایی و انتخاب ژنوتیپ‌های معطر هموزیگوس در بوته‌های حاصل از تلاقی گردید. به علت وقت‌گیر و پرهزینه بودن تشخیص فنوتیپی این صفت استفاده از نشانگرهای مولکولی گامی مهم در جهت بهبود کیفیت عطر و طعم در رقم قائم و سایر ارقام می‌باشد. بوته‌های انتخابی برای رسیدن به لاین خالص جدید، با ویژگی‌های موثر در کیفیت پخت و خوراک می‌بایست در نسل‌های پیشرفته تر مورد بررسی قرار گیرند.

کلمات کلیدی: برنج، انتخاب به کمک نشانگر، تلاقی مرکب، کیفیت پخت و خوراک، عطر و طعم

برنج به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات غذایی جهان است و واریته‌های معطر برنج از جایگاه بهتری در بازارهای جهانی برخوردارند. بر اساس گزارشات موجود از ۱۱ کشور عمده تولیدکننده برنج، کیفیت دانه جزء مهم‌ترین اهداف اصلی برنامه‌های اصلاحی می‌باشد (Juliano & Duff, 1991). از جمله عوامل دخیل در کیفیت دانه برنج، عطر و طعم می‌باشد. عطر و طعم در برنج توسط فاکتورهای ژنتیکی و محیطی کنترل می‌شود. مهم‌ترین ترکیب شیمیایی عطر و طعم در واریته‌های معطر برنج ۲-استیل ۱-پیرولین (2AP) می‌باشد (Buttery *et al.* 1983; Lorieux *et al.*; 1996). در ابتدا روش‌های بوییدن و یا جویدن دانه‌ها (Ghose & Butany, 1952) به عنوان روش تشخیص عطر و طعم در برنج استفاده می‌شد، که به علت معایب زیاد امروزه حتی به‌عنوان روش تکمیلی نیز کاربردی ندارد. بعد از آن، روش‌های شیمیایی مثل تست KOH (Sood & sidiq, 1978) و استفاده از کروماتوگرافی گازی برای تشخیص میزان AP (Lorieux *et al.* 1996) نیز، پرهزینه و وقت‌گیر بوده و به نمونه برگری و بذری زیادی نیاز داشتند. با پیشرفت برنامه‌های اصلاحی و استفاده از نشانگرهای مولکولی، روش‌های سنتی انتخاب بوته‌های معطر نقش کم‌رنگی در پیشبرد اهداف اصلاحی دارند. نیاز به مقدار بسیار کم نمونه، تجزیه و تحلیل با دقت و صحت بیشتر، در زمان و هزینه کمتر از مزیت‌های استفاده از نشانگر می‌باشد علاوه بر این با استفاده از نشانگرهای مولکولی بوته‌های معطر در مرحله گیاهچه‌ای نیز قابل شناسایی هستند (Cordeiro *et al.* 2002).

امروزه ثابت شده است که در اغلب واریته‌های معطر یک ژن مغلوب مسئول عطر و طعم می‌باشد (Lorieux *et al.* 1996). تجمع 2AP در ژنوتیپ‌های معطر به وسیله جهش‌های که باعث از دست رفتن عملکرد محصول ژن *fgt* می‌شود، مشخص گردید (Bradbury *et al.* 2005a). این ژن با نشانگر "RG28" RFLP بر روی کروموزوم شماره ۸ به فاصله ۴/۵ سانتی مورگان پیوسته است (Ahn *et al.*, 1992). از این نشانگر به عنوان الگویی برای تولید نشانگرهای همباز مبتنی بر PCR استفاده شده است (Graland *et al.* 2000). محققان میکروستلایت‌های پیوسته با ژن عطر و طعم را بر روی کروموزوم شماره ۸ مورد بررسی قرار داده و از آن‌ها برای تعیین چند شکلی بین ارقام معطر و غیر معطر استفاده کرده‌اند (Jain *et al.*, 2004; Begum, 2006). از چند شکلی تک نوکلئوتید^۱ (SNP) پیوسته با ژن عطر و طعم نیز برای شناسایی ژنوتیپ‌های معطر استفاده شده است (Jin *et al.* 2003). علاوه بر آن برادبری و همکاران (۲۰۰۵) نوع خاصی از نشانگر را بر مبنای SNP طراحی نموده‌اند که

آلل‌های مشخص مربوط به ژن عطر را تکثیر نموده (ASA^1) و در جمعیت در حال تفکیک قادر به تمایز بین بوته‌های معطر و غیرمعطر می‌باشد. جین و همکاران (۲۰۰۶) میزان تنوع ژنتیکی را در بین ارقام باسماتی و غیر باسماتی به وسیله نشانگرهای میکروستلایت احاطه‌کننده ژن عطر و طعم و نشانگر ویژه لوکوس RG28 مورد ارزیابی قرار دادند. مطالعات بسیاری مبنی بر استفاده از نشانگرهای مولکولی برای ارزیابی وجود ژن عطر و طعم و سایر ژن‌های کیفی و به‌دنبال آن انتخاب بر مبنای داده‌های حاصل از نشانگر (MAS^2) به‌منظور بهبود کیفیت ارقام زراعی، انجام شده است. جیرین و همکاران (۲۰۰۹)، یی و همکاران (۲۰۰۹) و جین و همکاران (۲۰۱۰)، با ارزیابی به‌وسیله نشانگر مولکولی، وجود ژن عطر و طعم را در جمعیت اصلاحی مورد بررسی قرار داده و بر اساس داده‌های حاصل از نشانگرهای لینک با ژن‌های هدف، بوته‌های هموزیگوت از نظر صفات مربوط به کیفیت پخت و عطر و طعم را انتخاب کردند. هدف از این تحقیق بررسی جمعیت حاصل از تلاقی مرکب به منظور وجود ژن عطر و طعم با کمک نشانگرهای مولکولی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

-مواد گیاهی

در این طرح از چهار رقم مختلف برنج از جمله رقم دم‌سیاه، شصتک (محلی)، فجر و نعمت (ارقام اصلاح‌شده) به‌عنوان پایه‌های پدری، و رقم قائم به‌عنوان پایه ثلثت مادری استفاده گردید. کلیه تلاقی‌های ممکن یک‌طرفه در سال ۱۳۸۷ به صورت دستی انجام و بذور F_1 که شامل تلاقی‌های فجر/قائم، دم‌سیاه /قائم، شصتک / قائم و نعمت / قائم بودند در سال ۱۳۸۸ کشت شدند. در سال زراعی ۱۳۸۸ تلاقی‌های بین F_1 ها (به صورت دی آلل یک‌طرفه، $(P(P-1)/2)$ انجام گرفته (جدول ۱) و بذور این تلاقی‌های مرکب جمع‌آوری و در سال زراعی ۱۳۸۹ در مزرعه پژوهشی پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان کشت شدند. سپس در مرحله گل‌دهی بوته‌های مطلوب از نظر فنوتیپ انتخاب و برگ‌های آن‌ها برای آنالیز PCR برداشت شدند.

- آنالیز PCR

۱- استخراج DNA و نشانگرهای مورد استفاده

از مجموع ۱۹۰ بوته تلاقی‌های مرکب، نمونه‌های برگی ۴۳ بوته انتخابی (با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی و تیپ مناسب بوته) برداشت شده و استخراج DNA به روش دلاپورتا و همکاران (۱۹۸۳) انجام شد. نشانگرهای همبسته با ژن عطر و طعم مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۲).

1- Allele-specific amplification

2- Marker assisted selection

۲- شرایط PCR و الکتروفور

شرایط PCR برای نشانگر برادبری و همکاران به صورت: مخلوط واکنش ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲/۵ μl ماکرولیتر از بافر 10X و ۰/۵ μl از dNTP (۱۰ میلی‌مولار) و ۱ μl از MgCl₂ (۵۰ میلی‌مولار) و ۰/۵ μl از هر پرایمر (۱۰)، ۰/۵ واحد آنزیم تک‌پلیمرز و ۵۰-۱۰۰ نانوگرم از DNA نمونه می‌باشد. شرایط دمایی شامل ۹۴ درجه برای ۲ دقیقه و ۳۰ سیکل به صورت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه می‌باشد. شرایط PCR برای سایر نشانگرهای پیوسته با ژن عطر و طعم عبارتند از: هر واکنش ۱۰ تایی حاوی ۱/۵ ماکرولیتر از بافر 10X، ۰/۲۵ μl از dNTP (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۳ μl از MgCl₂ (۵۰ میلی‌مولار- غلظت نهایی ۱/۵mM)، ۱ μl از هر پرایمر (۱۰ μM)، ۰/۵ واحد Taq و ۲۰-۵۰ نانوگرم DNA نمونه می‌باشد. شرایط دمایی شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، ۳۵ سیکل به صورت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه و در پایان ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام گرفت. فرآورده‌های PCR به وسیله الکتروفورز ژل آگارز ۲/۵-۲ درصد جداسازی و در اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند.

نتایج

برای ارزیابی ژنتیکی عطر و طعم از دو نشانگر SSR و همچنین از نشانگر اختصاصی (ASA) برادبری و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شده است. دو نشانگر SSR قادر به ردیابی ژن عطر و طعم در بین والدین نبودند، در واقع چندشکلی در بین والدین مشاهده نشد. نشانگر اختصاصی به صورت کمپلکس بوده و از ترکیب دو به دو آن‌ها ۳ باندها به اندازه‌های ۵۸۰، ۳۵۵ و ۲۵۷ جفت باز تولید می‌شود. دو نشانگر ESP و EAP به عنوان کنترل داخلی عمل نموده و باندهای حدوداً به وزن ۵۸۰ جفت باز را تولید می‌نمایند. ترکیب نشانگرهای INSP و EAP باندهای به وزن ۳۵۵ جفت باز را در ژنوتیپ غیر معطر و ترکیب نشانگرهای IFAP و ESP باندهای به وزن ۲۵۷ جفت باز را در ژنوتیپ‌های معطر تولید می‌نمایند. نتیجه آزمایش نشان داد که ارقام والدینی فجر و دم‌سیاه دارای آلل‌های عطر و طعم بودند (شکل ۱). در تلافی نعمت/لقائم//دم‌سیاه/لقائم از تعداد ۱۰ بوته، ۲ بوته دارای ژن عطر و ۳ بوته هتروزایگوس بوده و مابقی فاقد ژن عطر بودند. همچنین آزمون این نشانگر در تلافی مرکب فجر/لقائم//شصتک/لقائم نشان داد که از تعداد ۱۱ بوته ۳ بوته هتروزایگوس بوده و ۸ بوته فاقد آلل عطر (*fgz*) می‌باشند. در تلافی شصتک/لقائم//دم‌سیاه/لقائم از مجموع ۷ بوته، ۱ بوته دارای ژن *fgz* و مابقی هتروزایگوس بودند. در تلافی فجر/لقائم//نعمت/لقائم ۱ بوته دارای ژن عطر و ۴ بوته هتروزایگوس بودند و

در تلاقی فجر/قائم // دم‌سیاه/قائم ۲ بوته هتروزیگوس و ۳ بوته فاقد آلل عطر بودند. در تلاقی نعمت/قائم // شصتک/قائم هیچ آلل عطری مشاهده نشد (شکل ۱).

بحث

اهمیت تجاری برنج معطر در بازارهای داخلی و خارجی، اصلاح‌کنندگان را تشویق به بهبود کیفیت برنج هیبرید با ورود ژن عطر به این ارقام، نموده است (Nematzadeh et al. 2000). نقشه‌یابی مولکولی ژن عطر و طعم و به دنبال آن طراحی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن *ggr* و استفاده از آن در برنامه‌های اصلاحی، بر روند بهبود کیفیت ارقام برنج تأثیرگذار بوده است. در بسیاری از مطالعات از نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با ژن *ggr* برای ارزیابی وجود ژن عطر و طعم در جمعیت‌های اصلاحی استفاده شده، و در تمامی این مطالعات انتخاب موفقیت‌آمیز بوته‌های معطر به کمک نشانگرهای مولکولی گزارش شده است (Jin et al. 2010; Yi et al. 2009; Jairin et al. 2009; Kibria et al. 2008). بر طبق گزارش کبیریا و همکاران (۲۰۰۸) تست KOH به‌عنوان روش تشخیص فنوتیپی ژن عطر و طعم در کنار وقت‌گیر و پرهزینه بودن، دقیق و مطمئن نمی‌باشد، زیرا بر اساس نتایج آن‌ها لاینی که ۳ نشانگر وجود ژن عطر را در آن ردیابی کردند، از نظر فنوتیپی معطر نبودند، که نشان‌دهنده‌ی خطا در رتبه‌بندی فنوتیپی و دقت و اطمینان در استفاده از نشانگرهای مولکولی می‌باشد. در این مطالعه چندشکلی حاصل از نشانگر تخصصی برادبری و همکاران (۲۰۰۵) مهر تأییدی بر معطر بودن ارقام دم‌سیاه و فجر بوده است. نتایج به وضوح نشان می‌دهد که استفاده از رقم کیفی دم‌سیاه و فجر نقش عمده‌ای در کارایی تلاقی‌ها داشته است (جدول ۳). در بررسی مشابه زو و همکاران (۲۰۰۳) نیز استفاده از رقم کیفی Minghui 63 را در تلاقی‌ها جهت بهبود کیفیت رقم Zhenshan 97 اثربخش گزارش کردند. در تمامی تلاقی‌ها بجز تلاقی شماره ۳ (شصتک/قائم // نعمت/قائم) باندهای مربوط به ژن عطر و طعم ردیابی شدند. این نتیجه حاکی از تأثیر مثبت ارقام معطر فجر و دم‌سیاه در اصلاح رقم قائم می‌باشد. از میان ۴۳ بوته انتخابی در جمعیت تلاقی مرکب از نظر ژن عطر ۴ بوته هموزیگوس و ۱۸ بوته هتروزیگوس بودند که نشان‌دهنده‌ی موفقیت تلاقی‌های انجام شده در بهبود وضعیت عطر و طعم رقم قائم می‌باشد (جدول شماره ۴). با توجه به قابلیت بسیار بالای نشانگر تخصصی برادبری در ردیابی ژن عطر و طعم در این جمعیت و بر اساس گزارشات لوییس و همکاران (۲۰۰۵) استفاده از این نشانگر در برنامه‌های اصلاحی انتخاب به کمک نشانگر (MAS) توصیه می‌شود. همانند مطالعه جین و همکاران (۲۰۱۰) بوته‌های هموزیگوت از نظر ژن عطر بر اساس سایر خصوصیات مرتبط به کیفیت پخت و خوراک مورد ارزیابی قرار خواهند گرفت. در این تحقیق با استفاده از تلاقی‌های مرکب موفق به ادغام ژن عطر و طعم در رقم قائم شدیم. بررسی‌های بیشتر برای

اجرای برنامه‌های اصلاحی جهت تثبیت این خصوصیات و اصلاح سایر خصوصیات کیفی در جریان است.

منابع

1. 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.
2. Begum, S.N. 2006. Development of Basmati-driven rice lines for grain quality and resistance to bacterial blight. Ph. D. Thesis. Bangladesh Agric. Univ., Mymensingh. pp: 215.
3. Bradbury, L.M.T., Fitzgerald, T.L., Henry, R.J., Jin, Q.S. and Waters, D.L.E. 2005a. The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnology Journal*. 3: 363–370.
4. Bradbury, L.M.T., Henry, R.J., Jin, Q.S., Reinke, R.F. and Waters, D.L.E. 2005b. A perfect marker for fragrance genotyping in rice. *Molecular Breeding*. 16: 279–283.
5. Buttery R.G., Ling L.C., Juliano B.O. and Turnbaugh J.G. 1983. Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 31: 823–826.
6. Cordeiro, G.M., Christopher, M.J., Henry, R.J. and Reinke, R.F. 2002. Identification of microsatellite markers for fragrance in rice by analysis of the rice genome sequence. *Molecular Breeding*. 9:245–250.
7. Dellaporta, S. L., Wood, J. and Tickes, J. 1983. A plant molecular DNA minipreparation version II. 1: 19-21.
8. Garland, S., Lewin, L., Blakeney, A. and Reinke, R. 2000. PCR-based molecular markers for the fragrance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 101: 364–371.
9. Ghose R.L.M. and Butany W.T. 1952. Studies on the inheritance of some characters in rice (*Oryza sativa* L.). *The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 12: 26–30.
10. Jain, N., Jain, S., Saini, N. and Jain, R.K. 2006. SSR analysis of chromosome 8 region associated with aroma and cooked kernel elongation in Basmati rice. *Euphytica*. 152: 259-273.
11. Jairin, J., Teangdeerith, S., Leelagud, P., Khothcharerk, J. and Tooinda, T. 2009. Development of rice introgression lines with brown planthopper resistance and KDML105 grain quality characteristics through marker assisted selection. *Field Crops Research*. 110: 263-271.
12. Jin, L., Lu, Y., Shao, Y., Zhang, G., Xiao, P., Shen, S., Corke, H. and Bao, J. 2010. Molecular marker assisted selection for improvement of the eating, cooking and sensory quality of rice (*Oryza sativa* L.). *The Journal of Cereal Science*. 51: 159-164.
13. Jin, Q.S., Waters, D., Cordeiro, G.M., Henry, R.J. and Reinke, R.F. 2003. A single nucleotide polymorphism (SNP) marker linked to the fragrance gene in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*. 165:359–364.
14. Juliano, B.O and Duff, B. 1991. Rice grain quality as an emerging priority in national rice breeding programs. In: Rice grain marketing and quality issues. Los Baons, Laguna, IRRI. pp: 55-64.

15. Kibria, K., Islam, M.M. and Begum, S.N. 2008. Screening of aromatic rice lines by phenotypic and molecular markers. *Bangladesh Journal of Botany*. 37: 141-147.
16. 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.
17. Louis, M.T.B., Robert, J.H., Qingsheng, J., Russell, F.R. and Daniel, L.E.W. 2005. A perfect marker for fragrance genotyping in rice. *Molecular Breeding*. 16: 279-283.
18. Nematzadeh, Gh. A., Karbalaie, M. T., Farrokhzad, F. and Ghareyazie, B. 2000. Aromatic Rices. Edited by Singh, R. K., Singh, U. S. and Khush, G. S. pp: 310.
19. Sood, B.C., Siddiq, E.A. 1978. A rapid technique for scent determinations in rice. *The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 38: 268-271.
20. Yi, M., Than New, K., Vanavichit, A., Chai-arree, W. and Toojinda, T. 2009. Marker assisted backcross breeding to improve cooking quality traits in Myanmar rice cultivar Manawthukha. *Field Crops Research*. 113: 178-186.
21. Zhou, P.H., Tan, Y.F., He, Y.Q., Xu, C.G. and Zhang, Q. 2003. Simultaneous improvement for four quality traits of Zhenshan 97, an elite parent of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. *Theoretical and Applied Genetics*. 106: 326-331.

جدول ۱- تلاقی دای آلل یک طرفه $(P(P-1)/2)$ و جدول جمعیت حاصل از تلاقی های مرکب

F1	//	F1
فجر قائم // شصتک قائم		
نعمت قائم // دمسیاه قائم		
نعمت قائم // شصتک قائم		
شصتک قائم // دمسیاه قائم		
فجر قائم // نعمت قائم		
فجر قائم // دمسیاه قائم		

جدول ۲- نشانگرهای مولکولی همبسته با ژن عطر و طعم که در این تحقیق استفاده شده اند

نام نشانگر	نوع نشانگر	محل کروموزومی	اصفت	منبع	توالی برگشت	توالی رفت
					ttgtttggagcttgcctgatg	ESP
					cataggagcagctgaaatataacc	IFAP
					agtgcttcaaaagcceege	EAP
					ctgttaaaaaagattatggcttea	INSP
					cgtggctgcacottttaa	BO3_127.8
				tcnaaccctggttacagcaa	gagtcgatgtagccgatatg	RM339
				Jain et al.(2009)		
				Jain et al.(2006)		

ردیابی مولکولی ژن عطر و طعم در تلاقی‌های مرکب برنج ... / کتالانی و همکاران



شکل ۲- تعیین ژنوتیپ عطر و طعم در جمعیت حاصل از تلاقی مرکب، تلاقی شماره ۱: فجر/قائم/شصتک/قائم. تلاقی شماره ۲: نعمت/قائم//دم‌سیاه/قائم. تلاقی شماره ۳: نعمت/قائم//شصتک/قائم. تلاقی شماره ۴: شصتک/قائم//دم‌سیاه/قائم. تلاقی شماره ۵: فجر/قائم/نعمت/قائم. تلاقی شماره ۶: فجر/قائم//دم‌سیاه/قائم، و ارقام والدینی (فجر، قائم، شصتک، دم‌سیاه و نعمت)، P₁: فجر، P₂: قائم، P₃: شصتک، P₄: دم‌سیاه، P₅: نعمت

جدول ۳- نتایج حاصل از ردیابی ژن عطر و طعم در جمعیت حاصل از تلاقی مرکب

	Fgr
89-2-8	+
89-2-10	+
89-4-1	+
89-5-2	+
89-1-4	±
89-1-7	±
89-1-11	±
89-2-1	±
89-2-6	±
89-2-9	±
89-4-2	±
89-4-3	±
89-4-4	±
89-4-5	±
89-4-6	±
89-4-7	±
89-5-1	±
89-5-3	±
89-5-4	±
89-5-5	±
89-6-2	±
89-6-4	±

جدول ۴- بوته‌های انتخاب شده بر مبنای داده‌های حاصل از نشانگرهای مولکولی. ۴ بوته‌ی اول به عنوان بوته-هایی که دارای ژن عطر هموزیگوت‌اند از سایر بوته‌ها متمایز می‌باشند. اسکور+ یعنی آن ژنوتیپ از نظر ژن عطر هموزیگوت است، ± هتروزیگوت و - یعنی فاقد آلل مطلوب ژن عطر و طعم می‌باشند.

شماره تلاقی	جمعیت F1//F1	تعداد کل بوته‌های مورد مطالعه	تعداد بوته‌های انتخابی در مزرعه	وضعیت عطر		
				وضعیت عطر (٪ معطر)	وضعیت عطر (٪ غیر معطر)	وضعیت عطر (٪ هتروزیگوت)
۱	فجر/قائم // شصتک/قائم	۴۱	۱۱	-	۷۷/۳۷	۲۷/۲۷
۲	نعمت/قائم // دم‌سیاه/قائم	۳۷	۱۰	۲۰	۵۰	۳۰
۳	نعمت/قائم // شصتک/قائم	۵۰	۵	-	۱۰۰	-
۴	شصتک/قائم // دم‌سیاه/قائم	۲۲	۷	۱۴/۲۹	-	۸۵/۷۱
۵	فجر/قائم // نعمت/قائم	۱۰	۵	۲۰	-	۸۰
۶	فجر/قائم // دم‌سیاه/قائم	۳۰	۵	-	۶۰	۴۰

شماره تلاقی	جمعیت F1//F1	تعداد کل بوته‌های مورد مطالعه	تعداد بوته‌های انتخابی در مزرعه	وضعیت عطر		
				وضعیت عطر (٪ معطر)	وضعیت عطر (٪ غیر معطر)	وضعیت عطر (٪ هتروزیگوت)
۱	فجر/قائم // شصتک/قائم	۴۱	۱۱	-	۷۷/۳۷	۲۷/۲۷
۲	نعمت/قائم // دم‌سیاه/قائم	۳۷	۱۰	۲۰	۵۰	۳۰
۳	نعمت/قائم // شصتک/قائم	۵۰	۵	-	۱۰۰	-
۴	شصتک/قائم // دم‌سیاه/قائم	۲۲	۷	۱۴/۲۹	-	۸۵/۷۱
۵	فجر/قائم // نعمت/قائم	۱۰	۵	۲۰	-	۸۰
۶	فجر/قائم // دم‌سیاه/قائم	۳۰	۵	-	۶۰	۴۰