

مکان‌یابی ژن‌های کمی کنترل‌کننده کیفیت پخت و خوراک برنج در یک جمعیت لاین نوترکیب خویش‌آمیخته

علی اکبر عبادی^{۱*}، عزت‌الله فرشادفر^۲ و بابک ربیعی^۳

۱، دانشجوی دکتری رشته اصلاح نباتات، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه و عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، ایران، ۲، استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه، ایران، ۳، دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
(تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۲ - تاریخ تصویب: ۹۱/۲/۲۰)

Analysis of Quantitative Trait Loci for Rice Cooking and Eating Quality Based on an Iranian RILs Population

A. A. EBADI^{1*}, E. FARSHADFAR² AND B. RABIEI³

1, Ph.D. Student of Plant Breeding, Razi University, Kermanshah, Iran, and Member of Science of Rice Research Institute of Iran (RRII), 2, Professor, Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, Razi University, Kermanshah, Iran, 3, Associate Professor, Department of Agronomy & Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
(Received: April. 21, 2012 - Accepted: May. 9, 2012)

Abstract

Quantitative trait loci (QTL) mapping were carried out for 10 rice cooking and eating quality traits, by using a 144 recombinant inbred lines derived from cross between Hashemi and Neamat varieties with microsatellite markers. The ten traits included amylose content (AC), gelatinization temperature (GT), and 8 parameters from the viscosity profile. A total of 23 QTLs were detected for the 10 traits, with at least one QTL and as many as 4 QTLs for each individual trait. At least one QTL for each trait detected on chromosome 6. Several QTL clusters were observed for multiple quality traits. Especially, one QTL cluster near the *Alk* locus on chromosome 6 includes four QTLs: *qGT6*, *qFV6b*, *qCSV6* and *qSBV6*, which control GT, final viscosity (FV), consistency viscosity (CSV) and setback viscosity (SBV), respectively. Most of them were major QTLs. Another important QTL cluster was located at *Wx* locus on chromosome 6 includes 3 QTLs: *qAC6*, *qMV6a* and *qBDV6*, which control AC, MV (minimum viscosity) and breakdown viscosity (BDV), respectively. Moreover, these QTLs were major QTLs. Our results showed some of cooking and eating quality controlled by tow region on chromosome 6, region of *Wx* locus and region of *Alk* locus. Markers linked to these two genes can be used as marker assisted selection in breeding programmes.

Keywords: Amylose content, rice viscosity profile, microsatellite marker, QTL mapping

چکیده

مکان‌یابی ژن‌های کمی (QTL) برای ۱۰ صفت مربوط به کیفیت پخت و خوراک برنج با استفاده از ۱۴۴ لاین نوترکیب خویش‌آمیخته حاصل از تلاقی دو رقم هاشمی/نعمت توسط نشانگر ریزماهواره انجام شد. صفات مورد بررسی در این تحقیق شامل میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینی شدن و هشت خصوصیت چسبندگی نشاسته دانه برنج بود. در مجموع تعداد ۲۳ عدد QTLs برای ۱۰ صفت مورد بررسی از حداقل یک تا حداکثر ۴ QTL برای هر صفت شناسایی شد. برای هر صفت حداقل یک QTL روی کروموزوم ۶ شناسایی شد. چندین کلاستر ژنی که هر کدام از این کلاسترها چند صفت را کنترل می‌کنند نیز شناسایی شد. خصوصاً یک کلاستر ژنی در نزدیکی جایگاه ژن آلکالین روی کروموزوم ۶ که شامل چهار QTL (*qGT6*، *qFV6b*، *qCSV6* و *qSBV6*) بود که به ترتیب صفات درجه حرارت ژلاتینی شدن، چسبندگی نهایی، قوام و پسروی چسبندگی را کنترل می‌کنند. اغلب این QTLها بزرگ اثر بودند. یک کلاستر ژنی مهم دیگر در مکان ژنی واکسی روی کروموزوم ۶ قرار داشت و شامل ۳ QTL (*qAC6*، *qMV6a* و *qBDV6*) که به ترتیب صفات میزان آمیلوز، حداقل چسبندگی و فروریختگی چسبندگی را کنترل می‌کنند، که این QTLها نیز بزرگ اثر بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که برخی از صفات مربوط به کیفیت پخت و خوراک برنج توسط دو ناحیه ژن واکسی و آلکالین روی کروموزوم ۶ کنترل می‌شود. همچنین QTLهای کوچک اثر جدیدی روی سایر کروموزوم‌ها برای صفات مورد بررسی شناسایی شد.

واژه‌های کلیدی: میزان آمیلوز، چسبندگی نشاسته برنج، نشانگر ریزماهواره، مکان‌یابی ژن کمی

مقدمه

برنج زراعی (*Oryza sativa* L.) گیاه یکساله متعلق به خانواده گرامینه می‌باشد و از حدود ۵۰۰۰ سال پیش به‌عنوان منبع غذایی توسط بشر مصرف می‌گردد. این غله غذای اصلی نیمی از مردم دنیا می‌باشد و ۷۵ درصد انرژی و پروتئین روزانه حدود ۲/۵ میلیارد نفر از مردم دنیا وابسته به آن می‌باشد. برنج به‌طور کلی ۲۳ درصد از انرژی و ۱۶ درصد از پروتئین مردم را تامین می‌کند (IRRI. 1997). برنج یک غذای نشاسته‌ای است که مقدار زیادی از انرژی رژیم غذایی را تامین می‌کند. خصوصیات پخت و خوراک برنج به‌طور کلی به‌وسیله خصوصیات نشاسته تعیین می‌گردد. بنابراین نشاسته مهم‌ترین فاکتور در تعیین کیفیت پخت و خوراک دانه برنج می‌باشد. نشاسته دانه برنج معمولاً سریع‌تر از سایر نشاسته‌هایی مثل نودل هضم می‌گردد. درجه حرارت ژلاتینی‌شدن (Gelatinization Temperature) (GT)، میزان آمیلوز (AC) (Amylose Content)، غلظت ژل و صفات مربوط به چسبندگی نشاسته دانه برنج از خصوصیات اصلی نشاسته برنج هستند که بر روی کیفیت پخت و خوراک دانه برنج مؤثر می‌باشند (Bao and Xia. 1999). به عقیده بسیاری از محققین میزان آمیلوز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تعیین‌کننده کیفیت پخت و خوراک برنج، عمدتاً تحت کنترل ژن واکسی (*Wx* locus) روی کروموزوم ۶ می‌باشد (Tan et al. 1999; Bao et al. 2000; Aluko et al. 2004). هر چند که این ژن به‌تنهایی تمامی تنوع مربوط به میزان آمیلوز را توجیه نمی‌کند، به همین دلیل بسیاری از محققین تعدادی ژن‌های کوچک اثر بر روی سایر کروموزوم‌های برنج برای این صفت پیدا و معرفی کرده‌اند (Liu et al. 2011; Sabouri 2009; Zhang et al. 2008). به عقیده بسیاری از محققین درجه حرارت ژلاتینی‌شدن به‌عنوان یکی دیگر از فاکتورهای مؤثر در کیفیت پخت و خوراک برنج،

توسط ژن آلکالین (*Alk* locus) روی کروموزوم ۶ کنترل می‌شود (Umemoto et al. 2002; He et al. 2006; Sabouri et al. 2012). هر چند که برخی دیگر از محققین بر این عقیده‌اند که ژن‌های بزرگ‌اثر و کوچک‌اثر دیگری بر روی سایر کروموزوم‌ها در کنترل این صفت مؤثر هستند (Sabouri 2009; Li et al. 2011; Liu et al. 2011).

حدود ۹۰ درصد دانه برنج سفید از نشاسته تشکیل شده است که شامل آمیلوز و آمیلوپکتین می‌باشد (Jiang et al. 2004). بنابراین خصوصیات چسبندگی نشاسته برنج که توسط دستگاه ریپید ویسکو آنالایزر (Rapid Visco Analyzer) اندازه‌گیری می‌شود نیز به‌عنوان یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده کیفیت پخت برنج محسوب می‌گردد. با توجه به راحت‌بودن روش و نیاز به مقدار کم آرد برای اندازه‌گیری این خصوصیات، استفاده از این خصوصیات جهت تعیین کیفیت پخت و خوراک برنج به‌سرعت گسترش یافته است (Bao and Xia. 1999). به عقیده بعضی از محققین، تعدادی از خصوصیات چسبندگی نشاسته دانه برنج توسط ژن واکسی و برخی دیگر توسط ژن آلکالین کنترل می‌شود (Wang et al. 2007; Traore et al. 2012; Teng et al. 2011). هر چند که نتایج برخی دیگر از محققین نشان داد که این خصوصیات توسط ژن‌های کوچک‌اثر و بزرگ‌اثر دیگری بر روی سایر کروموزوم‌های برنج کنترل می‌شوند (Liu et al. 2011; Li et al. 2011).

بر اساس نظر اغلب محققین صفات مؤثر در کیفیت پخت و خوراک برنج جزء صفات کمی بوده و توسط تعدادی از ژن‌های بزرگ‌اثر و کوچک‌اثر کنترل می‌شوند. بنابراین برای شناخت بهتر این صفات و مشخص کردن ژن یا ژن‌های کنترل‌کننده این صفات در ژرم‌پلاسم برنج ایرانی و در شرایط آب و هوایی ایران در این تحقیق از یک جمعیت لاین‌های

با حذف ردیف‌های کناری فقط بوته‌های داخل متن برداشت شدند تا صفات مربوط به کیفیت پخت و خوراک دانه برنج در آن‌ها اندازه‌گیری شود. پس از خرمن‌کوبی رطوبت شلتوک به ۱۴ درصد رسانده شده، سپس توسط دستگاه ساتاکه پوست‌کنی شد تا برنج قهوه‌ای یا برنج دارای پوسته ثانویه یا پریکارپ حاصل شود. لایه پریکارپ از روی برنج قهوه‌ای توسط دستگاه سفیدکن آزمایشگاهی برداشته شد تا برنج سفید تهیه گردد. اندازه‌گیری صفات کیفیت پخت روی این برنج سفید و آرد حاصل از آن انجام شد.

برای تعیین میزان آمیلوز از روش Juliano (1971) با دستگاه اسپکتروفتومتری استفاده شد. برای اندازه‌گیری درجه حرارت ژلاتینی‌شدن از روش Little *et al.* (1958) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری خصوصیات مرتبط با چسبندگی ۳ گرم از آرد برنج سفید که با استفاده از دستگاه آسیاب UD در حد ۱۰۰ مش آردشده، وزن و پس از اضافه کردن ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل استوانه فلزی دستگاه ریید ویسکو آنالایزر (RVA-3D Model Newport Scientific, Sydney Australia) قرار داده شد. اندازه‌گیری خصوصیات چسبندگی نمونه‌ها با برنامه دمایی دستگاه در مدت ۱۲ دقیقه و به روش توضیح داده شده توسط Allahgholipour *et al.* (2006) انجام شد. خصوصیات چسبندگی نشاسته نمونه‌های موردنظر به وسیله هشت فاکتور مهم منتج از منحنی چسبندگی ارزیابی می‌شود. حداکثر چسبندگی^۲ PKV در اوج اولیه منحنی ثبت می‌گردد. با ثابت ماندن دما میزان چسبندگی به حداقل مقدار خود می‌رسد و حداقل چسبندگی^۳ MV ثبت می‌شود. با سرد شدن نمونه و کاهش درجه حرارت تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد دوباره منحنی به سمت بالا می‌رود و

نوترکیب خویش‌آمیخته حاصل از تلاقی دو رقم برنج ایرانی (هاشمی در نعمت) استفاده شد تا ضمن تعیین مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینی‌شدن و خصوصیات چسبندگی دانه برنج، نشانگر و یا نشانگرهای همبسته با ژن‌های این صفات را نیز جهت استفاده در برنامه‌های اصلاحی انتخاب به کمک نشانگر پیدا کنیم.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۱۴۴ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب^۱ RILs نسل F10 حاصل از تلاقی دو رقم هاشمی و نعمت استفاده شد. این لاین‌ها با استفاده از روش بالک تک‌بذر و در مؤسسه تحقیقات برنج کشور تهیه شدند. هاشمی یک رقم محلی دارای کیفیت پخت و خوراک مطلوب و موردپسند ذائقه مصرف‌کنندگان ایرانی و نعمت یک رقم اصلاحی ایرانی (حاصل تلاقی حسن سرابی // سنگ طارم IR24//) پرمحصول با کیفیت پخت نامطلوب می‌باشد. ۱۴۴ لاین نوترکیب به همراه دو والد هاشمی و نعمت و دو رقم خزر و علی کاظمی به عنوان شاهد (۴ رقم به عنوان شاهد با سه تکرار) در قالب طرح آگمنت در سال زراعی ۱۳۹۰ در مزرعه آزمایشی مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) کشت گردیدند. بذرپاشی در ۲۰ فروردین ماه در خزانه جوی و پشته‌ای انجام شد. ۳۰ روز پس از بذرپاشی، نشاها به زمین اصلی منتقل شدند. قبل از نشاکاری زمین عمود بر شیب بلوک‌بندی گردید. شماره تیمارها در هر بلوک به صورت تصادفی و براساس قرعه‌کشی مشخص شد. مساحت هر واحد آزمایشی ۴ مترمربع (۲ متر در ۲ متر)، با فاصله ۲۵ سانتی‌متر بین و درون ردیف‌ها بود. کلیه عملیات زراعی شامل کودپاشی، سم‌پاشی با دریاژینون ۱۰ درصد بر علیه کرم ساقه‌خوار مطابق عرف منطقه انجام گرفت.

2. Peak viscosity

3. Minimum Viscosity = hot past viscosity

1. Recombinant Inbred Lines

طول و نسبت بازهای G و C به بازهای A و T بین 50°C تا 70°C (متغییر بود)، ۴۵ ثانیه مرحله بسط در دمای 72°C بود و در نهایت ۵ دقیقه بسط انتهایی در دمای 72°C صورت گرفت. نمونه‌های تکثیرشده تا انجام الکتروفورز در دمای 20°C - نگهداری شدند. البته به‌منظور حذف نوارهای شبه ریزماهوره و جلوگیری از اتصال غیرتخصصی آغازگرها، ۱۰ دور اول چرخه حرارتی به‌صورت دمای کاهشی طبق روش Don *et al.* (1991) برنامه‌ریزی شد. محصولات PCR بر روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۰٪ بارگذاری شدند و سپس با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه ژل داگ عکس‌برداری شدند.

از تعداد ۵۰۰ نشانگر ریزماهوره (که توالی پرایمرهای آن‌ها بر اساس توالی ارائه‌شده توسط Temnykh *et al.* (2002) و McCouch *et al.* (2000) تعیین شده بود) و یک نشانگر^۹ STS (نشانگر W2R که توالی آن از Ayres *et al.* (1997) به‌عنوان یک نشانگر همبسته با ژن واکسی گرفته شده بود) تست شده بر روی والدین، حدود ۱۷۸ نشانگر (۱۷۶ نشانگر ریزماهوره به‌همراه یک نشانگر STS) چندشکلی قابل امتیازدهی نشان دادند. این نشانگرهای چندشکلی بر روی کروموزوم‌های مختلف قرار داشتند و تعداد آن‌ها بر روی کروموزوم‌های مختلف از ۴ تا ۲۶ عدد متفاوت بود. بعد از تعیین ژنوتیپ ۱۴۴ لاین نوترکیب (باند مشابه والد نعمت A و باند مشابه والد هاشمی B برای تمامی نشانگرها در نظر گرفته شد)، از آزمون کای اسکویر برای نسبت تفرق ۱ به ۱ استفاده شد و ۶ تا از نشانگرهای ریزماهوره از این نسبت تبعیت نمی‌کردند، بنابراین در تهیه نقشه لینکاژی و تجزیه^{۱۰} QTL از ۱۷۱ نشانگر استفاده شد. از ماتریس داده‌های ژنوتیپی جهت تهیه نقشه لینکاژی

چسبندگی نهایی^۱ FV ثبت می‌شود. فروریختگی چسبندگی^۲ BDV از تفاوت حداکثر و حداقل چسبندگی به‌دست آمد. پس روی چسبندگی^۳ SBV با محاسبه تفاوت چسبندگی نهایی از حداکثر چسبندگی به‌دست آمد. قوام چسبندگی^۴ CSV از تفاوت چسبندگی نهایی و حداقل چسبندگی حاصل می‌شود. تمامی این فاکتورها براساس واحد چسبندگی^۵ RVU ثبت شدند. مدت زمانی که طول می‌کشد تا منحنی اولین اوج (حداکثر چسبندگی) را ثبت کند به‌عنوان زمان تا حداکثر چسبندگی^۶ PeT و دمایی که حداکثر چسبندگی را باعث می‌شود به‌عنوان دمای چسبندگی^۷ PaT ثبت شد.

استخراج DNA از نمونه‌های برگ با روش Murray and Thompson (1980) معروف به روش^۸ CTAB انجام گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با استفاده از دستگاه Biometra T-Gradient و در حجم ۱۰ میکرولیتر برای هر واکنش شامل $2\mu\text{l}$ از DNA (با غلظت تقریبی $5\text{ ng}/\mu\text{l}$)، $0.5\mu\text{l}$ از آغازگرهای روبه جلو و روبه عقب (با غلظت محلول مادری $5\mu\text{M}$)، $1/2\mu\text{l}$ مخلوط بازهای آلی dNTPs (با غلظت 1mM)، $0.14\mu\text{l}$ آنزیم تک پلی‌مرز (با غلظت $5\text{U}/\mu\text{l}$)، $0.48\mu\text{l}$ کلریدمنیزیم (با غلظت 50mM) و $1\mu\text{l}$ بافر $10\times$ پی‌سی‌آر انجام گردید. چرخه حرارتی شامل: 4 دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در 94°C ، سپس 36 چرخه به‌صورت 30 ثانیه واسرشته‌سازی در دمای 94°C ، 45 ثانیه مرحله اتصال آغازگرها در دمای 55°C (این دما در جفت آغازگرهای مختلف بسته به

1. Final Viscosity = cool past viscosity
2. Break Down Viscosity
3. Set Back Viscosity
4. Consistency Viscosity
5. Rapid Viscosity Unit
6. Time to Peak Viscosity
7. Pasting Temperature
8. Cetyltrimethyl Ammonium Bromide

9. Simple Tagged Site

10. Quantitative Trait Loci

شده است. همچنین لازم به ذکر است که برای اطمینان بیشتر به داده‌های فنوتیپی هر کدام از صفات بر روی سه نمونه از داخل هر کرت در هر کدام از لاین‌ها اندازه‌گیری شد و از میانگین سه تکرار در تجزیه QTL استفاده شد.

مقایسه میانگین والدین به همراه انحراف معیار آن‌ها، میانگین لاین‌های نوترکیب به همراه انحراف معیار و محدوده صفات مورد بررسی در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول نیز مشاهده می‌شود در تمامی صفات مورد بررسی دو والد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارند. بنابراین جمعیت انتخاب‌شده برای مکان‌یابی ژن‌های مربوط به صفات مورد بررسی مناسب می‌باشد. میانگین اغلب صفات در نعمت بالاتر از هاشمی است به جز صفات فروریختگی چسبندگی، قوام چسبندگی و درجه حرارت چسبندگی که میانگین این صفات در رقم هاشمی بالاتر از نعمت می‌باشد. البته این با نتایج Allahgholipour *et al.* (2010) که روند تغییرات خصوصیات چسبندگی نشاسته به همراه میزان آمیلوز و درجه حرارت ژلاتینی شدن را در ارقام محلی و اصلاح‌شده مورد بررسی قرار داده‌اند مطابقت دارد. لاین‌های نوترکیب خویش‌آمیخته میانگینی حدفاصل بین دو والد در تمامی صفات مورد بررسی نشان دادند. با نگاهی به محدوده صفات در جمعیت لاین‌های نوترکیب مشاهده می‌شود که در همه صفات برخی از لاین‌ها نسبت به والدین ارزش بیشتر یا کمتری داشتند که بیان‌گر وجود تفکیک متجاوز برای همه صفات می‌باشد. دامنه تغییرات صفات در جمعیت لاین‌های نوترکیب نشان از تغییرات پیوسته این صفات و نرمال بودن توزیع فراوانی آن‌ها داشت که این نشان‌دهنده دخالت بیش از یک ژن در کنترل این صفات و کمی بودن این صفات دارد که این با اغلب گزارشات قبلی مطابقت دارد (Sabouri, 2009; Sabouri *et al.* 2012;

نشانگرها با استفاده از نرم‌افزارهای Mapmaker/EXP 3.0 (Lincoln *et al.* 1992)، QTL Ici Mapping (Wang, 2009; Li *et al.* 2008) استفاده شد. نقشه لینکاژی با LOD معادل ۳، حداکثر فاصله پیوستگی ۴۰ cM و تابع کوزامبی ترسیم شد. جهت تجزیه‌های آماری از قبیل همبستگی بین صفات، تجزیه واریانس و غیره از نرم‌افزار SAS ver.9.0 استفاده شد. برای تجزیه QTL از نرم‌افزار QTL Ici Mapping (Wang, 2009; Li *et al.* 2008) استفاده شد، که در این نرم‌افزار از روش تجزیه QTL استفاده می‌شود. نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب فراگیر ICIM جهت سرعت پیمایش ژنوم ۰/۵ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد و برای برآورد مقدار LOD آستانه، Permutation 1000 با مقدار آلفا معادل ۰/۰۵ (Type I Error=۰/۰۵) برای هر صفت تعیین گردید و نرم‌افزار برای هر صفت مقدار بحرانی (آستانه) LOD را تعیین کرد.

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی‌های فنوتیپی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس کلیه صفات بین شاهدها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین بلوک‌ها وجود نداشت هر چند که اختلاف بین تیمارها (ارقام شاهد که والدین را نیز شامل می‌شدند) برای همه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود (داده‌ها نشان داده نشدند). بنابراین نیازی به تصحیح داده‌های مربوط به لاین‌های نوترکیب نبود. مقایسه میانگین ارقام شاهد که والدین را نیز شامل می‌شدند با آزمون توکی انجام شد که حاکی از اختلاف معنی‌دار بین والدین در تمامی صفات مورد بررسی بود. این مقایسه میانگین فقط برای میانگین والدین در جدول ۱ نشان داده

قوام چسبندگی و پسروری چسبندگی منفی است. همبستگی حداکثر چسبندگی با حداقل چسبندگی، فروریختگی چسبندگی و چسبندگی نهایی مثبت و معنی‌دار و با درجه حرارت چسبندگی منفی و معنی‌دار ولی با قوام چسبندگی، مدت زمان حداکثر چسبندگی و پسروری چسبندگی غیرمعنی‌دار است.

حداقل چسبندگی با فروریختگی چسبندگی و درجه حرارت چسبندگی رابطه منفی و معنی‌دار ولی با چسبندگی نهایی و مدت زمان حداکثر چسبندگی رابطه مثبت و معنی‌دار دارد اما رابطه حداقل چسبندگی با قوام چسبندگی و پسروری چسبندگی معنی‌دار نیست.

فروریختگی چسبندگی با سه صفت مدت زمان و درجه حرارت چسبندگی و پسروری چسبندگی همبستگی منفی و معنی‌دار ولی با قوام چسبندگی همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد. چسبندگی نهایی با قوام و پسروری چسبندگی همبستگی مثبت و معنی‌دار ولی با مدت زمان و درجه حرارت چسبندگی همبستگی منفی و معنی‌دار دارد. قوام چسبندگی با مدت زمان حداکثر چسبندگی همبستگی منفی و

(Liu et al. 2011). هر چند که گزارشات اندکی نیز اصرار بر کیفی بودن برخی صفات مثل میزان آمیلوز و درجه حرارت ژلاتینی شدن دارند (Tan et al. 1999).

ضریب همبستگی بین صفات مورد بررسی در جدول ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود بین صفت میزان آمیلوز با تمامی صفات مربوط به چسبندگی نشاسته به‌جز چسبندگی نهایی همبستگی معنی‌داری وجود دارد که البته این همبستگی بین میزان آمیلوز با درجه حرارت ژلاتینی شدن، حداکثر چسبندگی، حداقل چسبندگی، قوام چسبندگی، مدت زمان حداکثر چسبندگی و پسروری چسبندگی مثبت و معنی‌دار ولی با صفات فروریختگی چسبندگی و درجه حرارت چسبندگی منفی است. درجه حرارت ژلاتینی شدن با تمامی خصوصیات چسبندگی نشاسته به‌جز حداقل چسبندگی، همبستگی معنی‌داری دارد، این همبستگی با صفات مدت زمان و درجه حرارت رسیدن به حداکثر چسبندگی مثبت و با صفات حداکثر چسبندگی، فروریختگی چسبندگی، چسبندگی نهایی،

جدول ۱- مقادیر مربوط به صفات کیفیت پخت و خوراک دانه برنج در والدین و جمعیت لاین‌های نوترکیب خویش‌آمیخته

صفات	والدین (میانگین \pm انحراف معیار)		جمعیت لاین‌های نوترکیب خویش‌آمیخته	
	هاشمی	نعمت	میانگین \pm انحراف معیار	محدوده
میزان آمیلوز (به درصد)	20.33 \pm 0.62 C	27.37 \pm 0.60 A	23.98 \pm 2.18	17 - 28.7
درجه حرارت ژلاتین شدن	4.43 \pm 0.17 C	7 \pm 0 A	6.12 \pm 0.99	3.2 - 7
حداکثر چسبندگی (بر حسب واحد چسبندگی RVU)	275.4 \pm 4.9 C	332.1 \pm 7.6 A	277.8 \pm 47.1	131.3 - 361.3
حداقل چسبندگی (بر حسب واحد چسبندگی RVU)	193.1 \pm 6.7 C	301.9 \pm 6.2 A	237.7 \pm 46.4	110.6 - 328.8
فروریختگی چسبندگی (بر حسب واحد چسبندگی RVU)	82.3 \pm 2.7 A	30.2 \pm 4.4 C	40.1 \pm 21.9	9 - 103.3
چسبندگی نهایی (بر حسب واحد چسبندگی RVU)	325.8 \pm 5.1 C	428.9 \pm 10.3 A	362.8 \pm 63.6	180.1 - 491.2
قوام چسبندگی (بر حسب واحد چسبندگی RVU)	132.7 \pm 4.4 A	126.9 \pm 4.2 B	124.8 \pm 46.8	21 - 271.8
پسروری چسبندگی (بر حسب واحد چسبندگی RVU)	50.3 \pm 3.5 C	102.8 \pm 6.9 A	84.9 \pm 45.7	-17.1 to 214
مدت زمان حداکثر چسبندگی (بر حسب دقیقه)	6.02 \pm 0.13 B	6.26 \pm 0.16 A	6.53 \pm 0.36	5.63 - 7
درجه حرارت چسبندگی (درجه سانتی‌گراد)	83.1 \pm 2.7 A	76.4 \pm 1.7 C	82.62 \pm 4.8	69 - 93.2

میانگین‌های دارای حروف متفاوت با هم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون توکی دارند.

چسبندگی همبستگی مثبت و با پسروری چسبندگی همبستگی منفی و معنی‌دار دارد، همبستگی بین

با پسروری چسبندگی همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد. مدت زمان حداکثر چسبندگی با درجه حرارت

بین تعداد دیگری از صفات متفاوت می‌باشد (Wang *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2008). این موضوع با توجه به متفاوت بودن جمعیت‌ها و اندازه‌گیری این صفات در شرایط آب و هوایی متفاوت امری معمول و بدیهی است.

درجه حرارت چسبندگی و پسروری چسبندگی مثبت و معنی‌دار بود. نتایج مربوط به همبستگی بین صفات مربوط به کیفیت پخت با نتایج سایر محققینی که بر روی جمعیت‌های RILs کار کرده‌اند برای روابط بین برخی از صفات مورد بررسی یکسان و برای روابط

جدول ۲- ضریب همبستگی پیرسون بین صفات مربوط به کیفیت پخت و خوراک دانه برنج

صفات	میزان آمیلوز	درجه حرارت ژلاتینی شدن	حد اکثر چسبندگی	حداقل چسبندگی	فروریختگی چسبندگی	چسبندگی نهایی	قوام چسبندگی	مدت زمان حداکثر چسبندگی	درجه حرارت چسبندگی
درجه حرارت ژلاتینی شدن	0.33**								
حداکثر چسبندگی	0.21**	-0.17*							
حداقل چسبندگی	0.41**	0.04 ^{ns}	0.88**						
فروریختگی چسبندگی	-0.40**	-0.44**	0.24**	-0.25**					
چسبندگی نهایی	0.02 ^{ns}	-0.25**	0.71**	0.69**	0.02 ^{ns}				
قوام چسبندگی	0.43**	-0.39**	0.09 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	0.28**	0.68**			
مدت زمان حداکثر چسبندگی	0.31**	0.50**	0.06 ^{ns}	0.34**	-0.57**	-0.12 ^{ns}	-0.52**		
درجه حرارت چسبندگی	-0.17*	0.28**	-0.43**	-0.27**	-0.31**	-0.18*	0.03 ^{ns}	0.43**	
پسروری چسبندگی	0.24**	-0.18*	-0.03 ^{ns}	0.08 ^{ns}	-0.22**	0.69**	0.87**	-0.24*	0.18*

ns, *, **: معنی‌دار در سطح یک درصد، معنی‌دار در سطح ۵٪ و غیر معنی‌دار.

روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۵، ۶، ۹ و ۱۱ شناسایی گردید (جدول ۳ و شکل ۱). برای صفت میزان آمیلوز دو QTL روی کروموزوم‌های ۵ و ۶ شناسایی گردید. QTL روی کروموزوم شماره ۶ به نام *qAC6* با توجیه ۱۳/۲ درصد از واریانس فنوتیپی نسبت به QTL شناسایی شده روی کروموزوم ۵ که ۷/۷ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه می‌کرد دارای اثر بیشتری بود. هر دو QTL اثر افزایشی مثبتی داشتند (جدول ۳ و شکل ۱). QTL بزرگ اثر روی کروموزوم ۶ بین دو نشانگر RM589-RM190 قرار داشت که این ناحیه مکان ژن واکسی *Wx* می‌باشد. چرا که بین نشانگر RM190 و جایگاه ژنی *WX* همبستگی بالایی وجود دارد (Ayres *et al.* 1997). در بسیاری از تحقیقات انجام شده در خصوص صفت میزان آمیلوز اعلام شده که این صفت توسط ناحیه ژن واکسی کنترل می‌شود (Tan *et al.* 1999;

نتایج ژنوتیپی و مکان‌یابی QTLs

با استفاده از ماتریس ژنوتیپی حاصل از تست ۱۷۱ نشانگر بر روی لاین‌های نوترکیب، نقشه لینکاژی این نشانگرها ترسیم گردید. این نقشه لینکاژی حدود ۱۵۹۰ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را با میانگین ۹/۳ سانتی‌مورگان بین هر جفت نشانگر پوشش داد (شکل ۱). بیشترین تعداد نشانگر روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ و کمترین تعداد نشانگر روی کروموزوم‌های ۴ و ۱۲ بود. مکان نشانگرها بر روی نقشه لینکاژی تطابق نسبتاً مناسبی با نقشه ارائه شده توسط McCouch *et al.* (2002) و Temnykh *et al.* (2000) داشت. البته لازم به ذکر است که نشانگرهای استفاده شده در این تحقیق بر اساس همین دو نقشه انتخاب شده بودند.

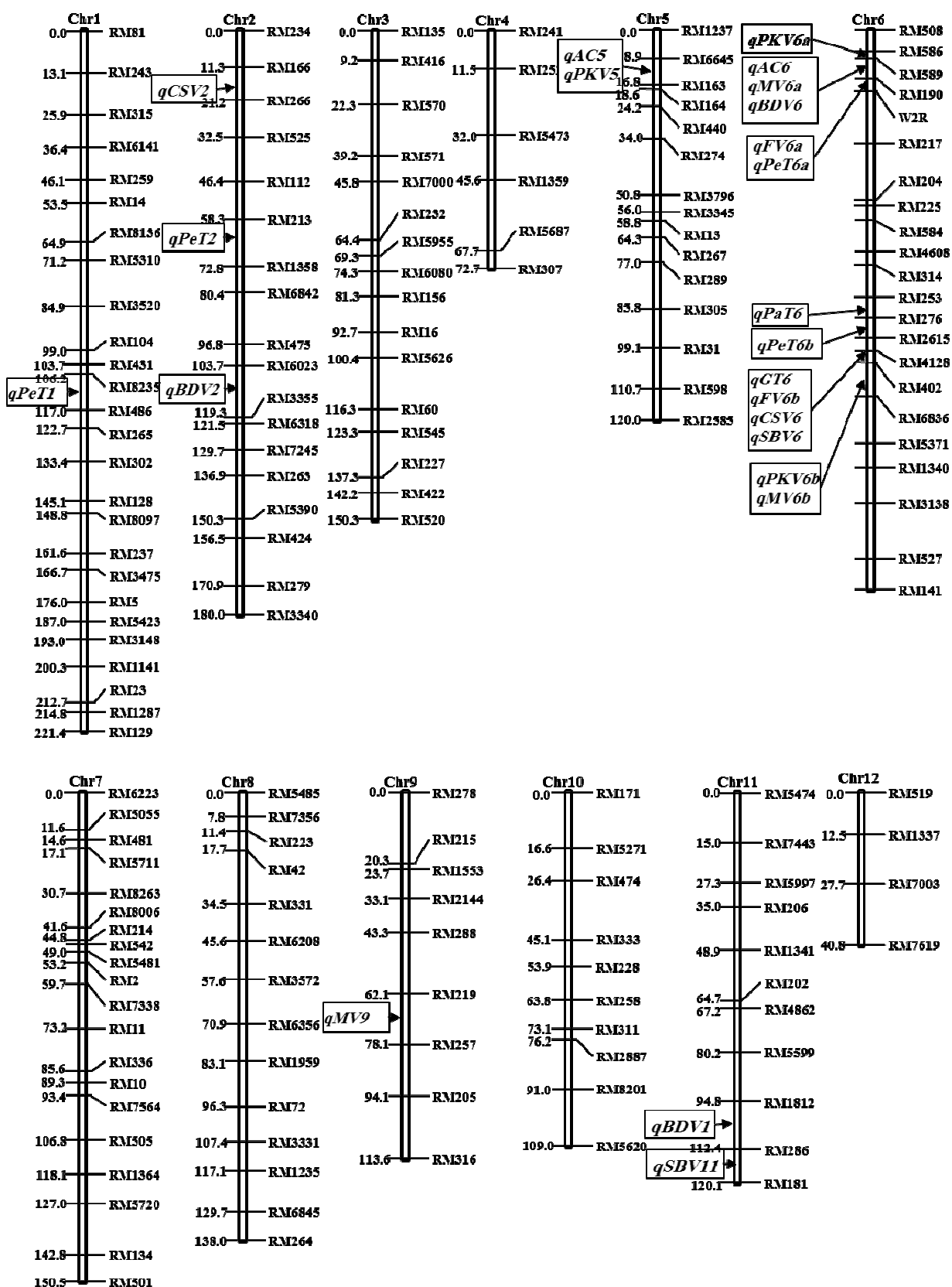
با تجزیه QTL صفات کیفیت پخت در مجموع تعداد ۲۳ جایگاه ژنی برای ۱۰ صفت مورد بررسی بر

دو حد آمیلوز خیلی‌بالا و آمیلوز خیلی‌پائین (مانند ارقام واکسی) قرار نداشتند که این موضوع شاید دلیلی برای عدم شناسایی QTL‌هایی با اثرات بزرگ‌تر باشد. برای صفت درجه حرارت ژلاتینی‌شدن یک QTL بزرگ اثر روی کروموزوم ۶ بین دو نشانگر RM4128-RM402 شناسایی شد که ۶۵/۱٪ واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه می‌کرد و دارای اثر افزایش مثبت بود. این ناحیه از کروموزوم ۶ در واقع محل ژن آلکالین *Alk* می‌باشد (که این موضوع با مقایسه این نقشه لینکاژی با نقشه لینکاژی *Temnykh et al.* (2000) نیز قابل اثبات است). در اغلب گزارشات قبلی در خصوص کنترل ژنتیکی این صفت نیز به نقش جایگاه ژنی آلکالین به‌عنوان ناحیه کروموزومی اصلی در کنترل درجه حرارت ژلاتینی اشاره شده است و اغلب آن‌ها حداقل یک QTL بزرگ‌اثر برای این صفت در این ناحیه

(*Aluko et al.* 2004) حتی در تحقیقی که توسط *Sabouri et al.* (2012) بر روی یک جمعیت F₂ حاصل از تلاقی رقم سپیدرود در غریب انجام شده بود یک QTL دقیقاً بین دو نشانگر RM589-RM190 برای صفت میزان آمیلوز شناسایی و معرفی شده بود. هر چند که برخی دیگر از محققین نظیر *Sabouri* (2009) و *Liu et al.* (2011) هیچ QTL روی کروموزوم ۶ برای صفت میزان آمیلوز شناسایی نکردند که با نتایج این تحقیق مغایرت داشت. QTL کوچک اثر شناسایی‌شده بر روی کروموزوم ۵ برای اولین بار در این تحقیق گزارش شده و در تحقیقات قبلی روی این کروموزوم برای صفت میزان آمیلوز QTL گزارش نشده است. والدین استفاده‌شده در این تحقیق یکی دارای آمیلوز بالا (نعمت با ۲۷٪ آمیلوز) و دیگری دارای آمیلوز متوسط (هاشمی با ۲۰٪ آمیلوز) بودند (جدول ۱) یا به‌عبارتی در

جدول ۳- QTL‌های شناسایی‌شده برای صفات کیفیت پخت و خوراک برنج در جمعیت RILs

صفات	QTL	کروموزوم	نشانگر	LOD آستانه	LOD	اثر افزایشی	درصد واریانس
میزان آمیلوز	<i>qAC6</i>	6	RM589-RM190	2.80	4.37	0.79	13.21
	<i>qAC5</i>	5	RM6645-RM163		2.85	0.89	7.69
درجه حرارت ژلاتینی‌شدن	<i>qGT6</i>	6	RM4128-RM402	3.08	27.27	0.79	65.12
حداکثر چسبندگی	<i>qPKV6a</i>	6	RM586-RM589	3.03	12.96	27.44	33.64
	<i>qPKV6b</i>	6	RM402-RM6836		5.31	-17.54	14.0
	<i>qPKV5</i>	5	RM6645-RM163		3.73	-16.86	12.74
حداقل چسبندگی	<i>qMV6a</i>	6	RM589-RM190	2.82	18.9	33.46	52.12
	<i>qMV6b</i>	6	RM402-RM6836		3.29	-12.10	6.85
	<i>qMV9</i>	9	RM219-RM257		2.89	10.73	5.86
چسبندگی نهایی	<i>qFV6a</i>	6	RM190-W2R	2.94	4.60	22.01	11.67
	<i>qFV6b</i>	6	RM4128-RM402		8.44	-30.61	22.64
فروریختگی چسبندگی	<i>qBDV6</i>	6	RM589-RM190	2.78	4.59	-7.8	12.65
	<i>qBDV2</i>	2	RM6023-RM3355		3.23	8.63	10.23
	<i>qBDV11</i>	11	RM1812-RM286		2.86	7.82	9.85
قوام چسبندگی	<i>qCSV6</i>	6	RM4128-RM402	2.68	6.88	-20.84	19.95
	<i>qCSV2</i>	2	RM166-RM266		2.89	10.24	9.64
پسروی چسبندگی	<i>qSBV6</i>	6	RM4128-RM402	2.98	4.21	-16.36	12.70
	<i>qSBV11</i>	11	RM286-RM181		3.45	13.86	10.87
مدت زمان حداکثر چسبندگی	<i>qPeT6a</i>	6	RM190-W2R	2.74	5.97	0.12	11.94
	<i>qPeT6b</i>	6	RM276-RM2615		8.65	0.16	19.34
	<i>qPeT1</i>	1	RM8235-RM486		2.83	-0.08	5.41
	<i>qPeT2</i>	2	RM213-RM1358		3.33	-0.10	8.05
درجه حرارت چسبندگی	<i>qPaT6</i>	6	RM253-RM276	2.93	5.36	1.94	17.36



شکل ۱- نقشه لینکاژی نشانگرهای ریزماهواره روی کروموزوم‌های برنج به همراه QTL‌های شناسایی شده برای صفات مورد بررسی

توجیه ۵۲٪ واریانس فنوتیپی بزرگ‌اثر و دارای اثر افزایشی مثبت و دیگری به نام *qMV6b* با توجیه ۶/۸٪ واریانس فنوتیپی کوچک‌اثر و دارای اثر افزایشی منفی بود. QTL بزرگ‌اثر در ناحیه ژن واکسی قرار داشت. بنابراین این صفت هم مانند صفت حداکثر چسبندگی تحت تاثیر ژن واکسی است. در اغلب تحقیقات قبلی در مورد این صفت نیز به کنترل آن توسط ژن واکسی اذعان شده است (Bao *et al.* 2003; Wang *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2008). QTL کوچک‌اثر روی کروموزوم ۹ که تنها ۵/۹٪ واریانس فنوتیپی را توجیه می‌کرد نیز توسط سایر محققین اما در مکان ژنی متفاوتی روی کروموزوم ۹ شناسایی و گزارش شده است (Liu *et al.* 2011). برای صفت چسبندگی نهایی دو QTL روی کروموزوم ۶ به نام های *qFV6a* و *qFV6b* به ترتیب در ناحیه ژن واکسی (بین دو نشانگر RM190-W2R با توجیه ۱۱/۷٪ واریانس فنوتیپی و در ناحیه ژن آلکالین (بین دو نشانگر RM4128-RM402) با توجیه ۲۲/۶٪ واریانس فنوتیپی شناسایی شدند که اولی دارای اثر افزایشی مثبت و دومی دارای اثر افزایشی منفی بود. به عبارتی این صفت تحت تاثیر هر دو ژن واکسی و آلکالین قرار دارد که البته تاثیر ژن آلکالین بر روی این صفت به مراتب بیشتر از ژن واکسی می‌باشد که این موضوع توسط نتایج مطالعات قبلی نیز مورد تأیید می‌باشد (Wang *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2008).

برای صفت فروریختگی چسبندگی که از تفاوت حداقل و حداکثر چسبندگی به دست می‌آید تعداد سه QTL روی کروموزوم‌های ۶، ۲ و ۱۱ به ترتیب با توجیه ۱۲/۷، ۱۰/۲ و ۹/۸ درصد از واریانس فنوتیپی شناسایی گردید. QTL روی کروموزوم ۶ در مکان ژن واکسی قرار داشت و دارای اثر افزایشی منفی بود. برخی از محققین از جمله Bao *et al.* (1999) و Wang *et al.* (2007) نیز یک QTL بزرگ‌اثر

کروموزومی گزارش کرده‌اند (He *et al.* 1999; Umemoto *et al.* 2002; Wang *et al.* 2007; Sabouri *et al.* 2012)، که منطبق با نتایج تحقیق حاضر می‌باشد. البته در برخی از تحقیقات قبلی هیچ QTL برای صفت درجه حرارت ژلاتینی‌شدن روی کروموزوم ۶ گزارش نشده است (Sabouri, 2009)، که با نتایج این تحقیق مغایرت دارد.

برای صفت حداکثر چسبندگی دو QTL روی کروموزوم ۶ و یک QTL روی کروموزوم ۵ شناسایی گردید که در مجموع ۶۰/۴ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه می‌کند. از دو QTL شناسایی‌شده روی کروموزوم ۶، یکی به نام *qPKV6a* با اثر افزایشی مثبت بین دو نشانگر RM586-RM589 قرار داشت و با توجیه ۳۳/۶٪ واریانس فنوتیپی بزرگ اثر بود (جدول ۳ و شکل ۱). همان‌طور که در شکل ۱ نیز مشاهده می‌شود این ناحیه نزدیک به جایگاه ژن واکسی می‌باشد. که نشان‌دهنده تاثیر این جایگاه ژنی بر روی صفت حداکثر چسبندگی می‌باشد. نتایج این تحقیق در خصوص صفت حداکثر چسبندگی با نتایج تحقیقات Bao *et al.* (2002) و Liu *et al.* (2011) که یک QTL بر روی کروموزوم ۶ برای این صفت معرفی کردند مطابقت داشت ولی با نتایج برخی دیگر از محققین که QTL برای صفت حداکثر چسبندگی روی کروموزوم ۶ شناسایی نکردند، مغایرت داشت (Bao *et al.* 2003; Wang *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2008). QTL کوچک‌اثر شناسایی‌شده روی کروموزوم ۵ تنها ۱۲/۷٪ واریانس فنوتیپی صفت را توجیه می‌کرد. در گزارشات قبلی نیز یک QTL کوچک‌اثر روی کروموزوم ۵ برای کنترل صفت حداکثر چسبندگی گزارش شده بود (Liu *et al.* 2007; Wang *et al.* 2011).

تعداد سه QTL روی کروموزوم‌های ۶ (دو تا) و ۹ برای صفت حداقل چسبندگی شناسایی شد. از دو QTL روی کروموزوم ۶ یکی به نام *qMV6a* با

qSBV6 با QTL مربوط به چسبندگی نهایی در یک مکان قرار گرفته است که با توجه به حصول این صفت از چسبندگی نهایی دور از انتظار نبود. در تحقیقات Bao *et al.* (2002) و Wang *et al.* (2007) نیز یک QTL در مکان ژن آلکالین برای این صفت گزارش شده بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. QTL کوچک‌اثر شناسایی‌شده روی کروموزوم ۱۱ برای اولین بار در این تحقیق شناسایی شد. مدت زمان تا حداکثر چسبندگی توسط چهار QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۲ و ۶ (دوتا) که در مجموع ۴۴/۷٪ واریانس فنوتیپی را توجیه می‌کردند کنترل می‌شود. از دو QTL شناسایی‌شده روی کروموزوم ۶ یکی به نام *qPeT6a* در محل ژن واکسی با توجیه ۱۱/۹٪ واریانس فنوتیپی و دیگری بین دو نشانگر RM276-RM2615 و تا حدودی نزدیک به ژن آلکالین با توجیه ۱۹/۳٪ واریانس فنوتیپی قرار داشتند و هر دو دارای اثر افزایشی مثبت بودند. که با نتایج Wang *et al.* (2007) که یک QTL بزرگ‌اثر نزدیک به نشانگر RM276 برای این صفت گزارش کرده بودند مطابقت داشت. همچنین Zhang *et al.* (2008) نیز یک QTL روی کروموزوم ۶ برای این صفت گزارش کردند. QTL شناسایی‌شده روی کروموزوم ۲ نیز با نتایج Zhang *et al.* (2008) مطابقت داشت. ولی QTL شناسایی‌شده روی کروموزوم ۱ برای اولین بار در این تحقیق شناسایی و گزارش شد. برای صفت درجه حرارت چسبندگی تنها یک QTL روی کروموزوم ۶ به نام *qPaT6* بین دو نشانگر RM253-RM276 با توجیه ۱۷/۴٪ از واریانس فنوتیپی این صفت شناسایی گردید که با نتایج Wang *et al.* (2007) که یک QTL بزرگ‌اثر نزدیک به نشانگر RM276 برای این صفت گزارش کرده بودند مطابقت داشت.

تعداد ۵ کلاستر ژنی روی دو کروموزوم ۵ (یک کلاستر ژنی) و ۶ (۴ کلاستر ژنی) شناسایی شد. کلاسترهای ژنی روی کروموزوم ۶ یا در دو مکان

برای این صفت در مکان ژن واکسی گزارش کردند اما برخی دیگر از محققین هیچ QTL روی کروموزوم ۶ برای این صفت شناسایی نکردند (Bao *et al.* 2002; Liu *et al.* 2011) شناسایی‌شده روی کروموزوم ۲ در مطالعات قبلی نیز گزارش شده بود (Liu *et al.* 2011) ولی QTL کوچک‌اثر شناسایی‌شده روی کروموزوم ۱۱ برای اولین بار در این تحقیق شناسایی و گزارش می‌شود. صفت قوام چسبندگی که از تفاوت چسبندگی نهایی و حداقل چسبندگی حاصل می‌شود توسط دو جایگاه ژنی کمی یکی روی کروموزوم ۶ بین دو نشانگر RM4128-RM402 نزدیک ژن آلکالین با توجیه ۲۰٪ از واریانس فنوتیپی و اثر افزایشی منفی و دیگری روی کروموزوم ۲ با توجیه ۹/۶٪ از واریانس فنوتیپی در این تحقیق کنترل می‌شود. در تحقیقات قبلی QTL‌های کوچک‌اثر در ناحیه ژن آلکالین برای این صفت گزارش شده است (Bao *et al.* 2002; Wang *et al.* 2007) که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. البته Wang *et al.* (2007) یک QTL بزرگ‌اثر نیز برای این صفت در ناحیه ژن واکسی گزارش کردند که در این تحقیق QTL در ناحیه ژن واکسی برای صفت قوام ژل پیدا نشد. QTL شناسایی‌شده روی کروموزوم ۲ در تحقیقات قبلی نیز گزارش شده بود (Liu *et al.* 2011). پسروی چسبندگی همانند دو صفت قوام چسبندگی و فروریختگی چسبندگی جزء صفات ثانویه از خصوصیات چسبندگی است که از اختلاف بین چسبندگی نهایی و حداکثر چسبندگی حاصل می‌شود. برای این صفت نیز دو QTL یکی روی کروموزوم ۶ بین دو نشانگر RM4128-RM402 نزدیک ژن آلکالین با توجیه ۱۲/۷٪ از واریانس فنوتیپی و اثر افزایشی منفی و دیگری روی کروموزوم ۱۱ با توجیه ۱۰/۹٪ از واریانس فنوتیپی ولی با اثر افزایشی مثبت شناسایی گردید (جدول ۳ و شکل ۱). QTL شناسایی‌شده برای این صفت روی کروموزوم ۶ به نام

(2007) و Zhang *et al.* (2008) نیز گزارش شده بود. قرار گرفتن کلاسترهای ژنی در دو مکان ژن واکسی و آلکالین نشان‌دهنده اهمیت و اثر این دو مکان ژنی در کنترل ژنتیکی صفات کیفیت پخت و خوراک دانه برنج می‌باشد که این موضوع توسط اغلب تحقیقات قبلی مورد تاکید قرار گرفته است (Wang *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2008; Li *et al.* 2012). بنابراین با توجه نتایج تحقیق حاضر و اغلب گزارشات موجود در مورد کنترل ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت پخت و خوراک دانه برنج، می‌توان از نشانگرهای هم بسته با دو مکان ژنی واکسی و آلکالین در برنامه‌های اصلاحی انتخاب به کمک نشانگر در جهت بهبود کیفیت پخت و خوراک ارقام و لاین‌های جدید استفاده کرد.

ژنی واکسی و آلکالین قرار داشتند و یا نزدیک به این دو مکان ژنی بودند (شکل ۱). کلاستر ژنی واقع در مکان ژن واکسی شامل QTLهای مربوط به صفات میزان آمیلوز، حداقل چسبندگی و فروریختگی چسبندگی بود که این سه صفت دارای همبستگی بالایی نیز بودند (جدول ۲) و این همبستگی بالای بین این صفات شاید به دلیل کنترل ژنتیکی این صفات توسط یک جایگاه ژنی مشترک باشد. کلاستر ژنی واقع در نزدیکی ژن آلکالین شامل QTLهای مربوط به صفات درجه حرارت ژلاتینی‌شدن، چسبندگی نهایی، قوام و پسروری چسبندگی بود. بین این صفات نیز همبستگی معنی‌دار وجود داشت. البته این کلاسترهای ژنی در دو مکان ژنی واکسی و آلکالین توسط Bao *et al.* (2003)، Wang *et al.*

REFERENCES

- Allahgholipour M, Ali AJ, Alinia F, Nagamine T, Kojima Y (2006) Relationship between rice grain amylose and pasting properties for breeding better quality rice varieties. *Plant Breeding*, 125:357-362.
- Allahgholipour M, Rabiei B, Ebadi AA, Hosseini M, Yekta M (2010) Starch viscosity properties: New criteria for assessment of cooking quality of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 12:140-151 (In Persian)
- Aluko G, Martinez C, Tohme J, Castano C, Bergman C, Oard JH (2004) QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* × *O. glaberrima*. *Theor. Appl. Genet.*, 109:630-639.
- Ayres NM, Mclung AM, Larkin PD, Bligh HFJ, Jones CA, Park WD (1997) Microsatellites and single nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germplasm. *Theor. Appl. Genet.*, 94:773-781.
- Bao JS, Xia YW (1999) Genetic control of paste viscosity characteristics in indica rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 98:1120-1124.
- Bao JS, He P, Xia YW, Chen Y, Zhu LH (1999) Starch RVA profile parameters of rice are mainly controlled by Wx gene. *Chinese Science Bulletin*, 44:2047-2051.
- Bao JS, Zheng XW, Xia YW, He P, Shu QY, Lu X, Chen Y, Zhu LH (2000) QTL mapping for the paste viscosity characteristics in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 100:280-284.
- Bao JS, Sun M, Corke H (2002) Analysis of genetic behaviour of some starch properties in indica rice *Oryza sativa* L.: thermal properties gel texture swelling volume. *Theor. Appl. Genet.*, 104: 408-413.
- Bao JS, Corke H, He P, Zhu LH (2003) Analysis of quantitative trait loci for starch properties of rice based on an RIL population. *Acta. Botanica Sinica*, 45:986-994.
- Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Mattick JS (1991) Touchdown PCR to

- circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acid Research*, 19:4008-4009.
- He P, Li SG, Qian Q, Ma YQ, Li JZ, Wang WM, Chen Y, Zhu LH (1999) Genetic analysis of rice grain quality. *Theor. Appl. Genet.*, 98:502-508.
- He Y, Han Y, Jiang L, Xu C, Lu J, Xu M (2006) Functional analysis of starch-synthesis genes in determining rice eating and cooking qualities. *Mol Breeding*, 18:277-290.
- International Rice Research Institute (IRRI) (1997) *Almanac*, 2nd ed. Manila, Philippines: Int. Rice. Res. Inst, Los banos, Laguna, Philippines.
- Jiang HW, Dian WM, Liu FY, Wu P (2004) Molecular cloning and expression analysis of three genes encoding starch synthase II in rice. *Planta*, 218:1062-1070.
- Juliano B (1971) A simplified assay for milled-rice amylase. *Cereal Science Today*, 16:334-338.
- Li H, Ribaut JM, Li Z, Wang J (2008) Inclusive composite interval mapping (ICIM) for digenic epistasis of quantitative traits in biparental populations. *Theor. Appl. Genet.*, 116:243-260.
- Li J, Zhang W, Wu H, Guo T, Liu X, Wan X, Jin J, Hanh TTT, Thoa NTN, Chen M, Liu S, Chen L, Liu X, Wang J, Zhai H, Wan J (2011) Fine mapping of stable QTLs related to eating quality in rice (*Oryza sativa* L.) by CSSLs harboring small target chromosomal segments. *Breeding Science*, 61:338-346.
- Lincoln S, Daly M, Lander E (1992) Constructing genetics maps with MAPMAKER/EXP 3.0. Whitehead Institute Technical Report, Whitehead Institute, Cambridge
- Little RR, Hilder GB, Dawson EH, Elsie H (1958) Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. *Cereal Chem.*, 35:111-126.
- Liu X, Wan X, Ma X, Wan J (2011) Dissecting the genetic basis for the effect of rice chalkiness amylose content protein content and rapid viscosity analyzer profile characteristics on the eating quality of cooked rice using the chromosome segment substitution line population across eight environments. *Genome*, 54:64-80.
- McCouch SR, Teytelman L, Xu YB, Lobos KB, Clare K, Walton M, Fu B, Maghirang R, Li ZK, Xing YZ, Zhang QF, Kono I, Yano M, Fjellstrom R, DeClerck G, Schneider D, Cartinhour S, Ware D, Stein L (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Res.*, 9:199-207.
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant. *DNA Nucleic Acids Research*, 8:4321-4325.
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant. *DNA Nucl. Acids Res.*, 8:4321-4325.
- Sabouri H (2009) QTL detection of rice grain quality traits by microsatellite markers using an indica rice (*Oryza sativa* L.) combination. *Journal of Genetics*, 88:81-85.
- Sabouri A, Rabiei B, Toorchi M, Aharizad S, Moumeni A (2012) Mapping quantitative trait loci (QTL) associated with cooking quality in rice (*Oryza sativa* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 6:808-814.
- Tan YF, Li JX, Yu SB, Xing YZ, Xu CG, Zhang QF (1999) The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. *Theor. Appl. Genet.*, 99:642-648.
- Temnykh S, Park WD, Ayres N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, Cho YG, Ishii T, McCouch SR (2000) Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) *Theor. Appl. Genet.*,

- 100:697-712.
- Teng B, Zeng R, Wang Y, Liu Z, Zhang Z, Zhu H, Ding S, Li W, Zhang G (2012) Detection of allelic variation at the Wx locus with single-segment substitution lines in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding*, 30:583-595.
- Traore K, McClung AM, Chen MH, and Fjellstrom R (2011) Inheritance of flour paste viscosity is associated with a rice Waxy gene exon 10 SNP marker. *Cereal Science*, 53:37-44.
- Umemoto T, Yano M, Satoh H, Shomura A, Nakamura Y (2002) Mapping of a gene responsible for the difference in rice varieties. *Theor. Appl. Genet.*, 104:1-8.
- Wang LQ, Liu WJ, Xu Y, He YQ, Luo LJ, Xing YZ, Xu CG, Zhang Q (2007) Genetic basis of 17 traits and viscosity parameters characterizing the eating and cooking quality of rice grain. *Theor. Appl. Genet.*, 115:463-76.
- Wang JK (2009) Inclusive composite interval mapping of quantitative trait genes. *Acta Agro. Sin.*, 35:239-245.
- Zhang QF, Zhang YD, Zhu Z, Zhao L, Zhao QY, Xu L, Wang CL (2008) Inheritance Analysis and QTL Mapping of Rice Starch Viscosity (Rapid Visco Analyzer Profile) Characteristics. *Rice Science*, 15:186-194.