Plant Prod., 2026, 49(3), 517-534
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2026.52557.2360
Received: 05 July 2026
Accepted: 26 August 2026

Plant Productions
Research Article

Identification of molecular markers associated with rice (*Oryza sativa* L.) cooking quality

Maria Nili[1], Babak Rabiei[1*], Mehrzad Allahgholipour[2], Ali Akbar Ebadi[2]

1. Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

Citation: Nili, M., Rabiei, B., Allahgholipour, M., & Ebadi, A.A. (2026). Identification of molecular markers associated with rice (*Oryza sativa* L.) cooking quality. *Plant Productions,* 49(3), 517-534.

Abstract

Introduction

Rice grain quality includes appearance, milling, cooking and nutritional quality, which are determined by the physicochemical properties of the rice grain. Among these, amylose content (AC), gelatinization temperature (GT), gel consistency (GC) and paste viscosity properties are considered as the main and important indicators determining the cooking quality of rice. The aim of this study was to investigate the relationship between molecular markers and the characteristics determining the cooking quality of rice and to introduce informative markers associated with these characteristics.

Materials and Methods

The plant materials of this study were a diverse collection of 61 rice genotypes adapted to Iranian climatic conditions, the seeds of which were obtained from the Rice Research Institute of Iran (RRII), Rasht, Iran, and the International Rice Research Institute (IRRI), Philippines. The studied traits were the characteristics determining the cooking and eating quality including AC, GT and GC, as well as the paste viscosity parameters derived from the rapid visco analazer (RVA) including peak viscosity (PV), minimum viscosity (MV) or hot paste viscosity (HPV), final viscosity (FV) or cool paste viscosity (CPV), setback viscosity (SV), breakdown viscosity (BV), and consistency viscosity (CV). For molecular evaluation of the studied genotypes, by reviewing previous studies as well as by searching the Gramene website (www.gramene.org), 40 molecular markers associated with rice cooking quality characteristics, including 38 microsatellite markers, a specific marker for the *Waxy* gene, and a STS marker W2R, were selected. Genomic DNA was extracted from young leaf samples using the CTAB method and the quality and quantity of DNA was determined using 1% agarose gel. Polymerase chain reaction (PCR) was performed using a thermocycler GenAmp, USA, in a 10 µL volume including 8 µL of the PCR master solution (PCR

* **Corresponding Author:** Babak Rabiei
E-mail: rabiei@guilan.ac.ir

© 2026 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Buffer 10X, dNTPs 5 mM, MgCl2 50 mM, Tag DNA Polymerase 5U/µL) and 2 µL of genomic DNA sample with a concentration of 10 ng/µL. PCR products were separated using 10% polyacrylamide gels and the gels were stained with ethidium bromide. For data analysis, banding patterns in each genotype were scored based on presence (one) or absence (zero) and stepwise regression was used to identify significant markers associated with each of the studied traits.

Results and Discussion

The results of this study showed that genes located at the *Waxy* and *Alk* loci in chromosome 6 of rice played an important role in controlling most of the characteristics determining cooking and eating quality, including AC, GT, GC and paste viscosity parameters from RVA profile. Among the 40 molecular markers studied, seven markers RM190, RM253, RM510, RM584, RM3183, RM5371 and W2R, in addition to controlling a greater share of trait variation, showed a significant association with several traits. This result could be due to the quantitative and pleiotropic effects of similar genes or strong linkage between different genes located at the position of these markers in controlling the relevant traits. Among them, marker RM190 had significant associations with five traits (AC, GT, PV, MV and FV), marker RM5371 with four traits (AC, PV, FV and CV), markers RM253 (GT, FV and CV) and RM510 (GC, PV and MV) with three traits, and markers RM584 (PV and MV), RM3183 (MV and SV) and W2R (GC and PV) with two traits, and were identified as more important linked markers with rice cooking and eating quality.

Coclusion

The results of this study showed that the *Waxy* and *Alk* gene loci played an important role in controlling rice cooking and eating quality traits. Out of 40 markers evaluated in this experiment, seven markers RM190, RM253, RM510, RM584, RM3183, RM5371 and W2R had significant associations with rice cooking and eating quality traits. Therefore, if the results are confirmed by repeating the experiment, these markers can be proposed as informative markers for use in marker-assisted selection (MAS) programs.

Keywords: Grain physicochemical properties, Marker assisted selection, Rapid visco analazer, Waxy gene

تولیدات گیاهی، ۱٤۰۵، ٤۹(۳)، ۵۱۷ -۵۳٤
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2026.52557.2360
تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۱۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۰۴

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با کیفیت پخت برنج (*Oryza sativa* L.)

ماریا نیلی[۱]، بابک ربیعی[۱*]، مهرزاد اله‌قلی‌پور[۲]، علی اکبر عبادی[۲]

۱- گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

چکیده

کیفیت دانه برنج که شامل کیفیت ظاهری، تبدیل، پخت و مواد غذایی است و توسط ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی دانه تعیین می‌شود، اهمیت زیادی برای بیش‌تر مصرف‌کنندگان در دنیا داشته و به‌ویژه نقش زیادی در بازارپسندی و ارزش تجاری رقم‌های مختلف برنج دارد. در بین این ویژگی‌ها، میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن، قوام ژل و ویژگی‌های چسبندگی نشاسته، به‌عنوان شاخص‌های اصلی و مهم تعیین کننده کیفیت پخت و خوراک برنج در نظر گرفته می‌شوند. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط بین نشانگرهای مولکولی با ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت پخت برنج و معرفی نشانگرهای آگاهی‌بخش پیوسته با این ویژگی‌ها بود. صفات ارزیابی شده در این مطالعه، ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت پخت و خوراک شامل میزان آمیلوز (AC)، دمای ژلاتینه‌شدن (GT)، قوام ژل (GC) و پارامترهای چسبندگی حاصل از نمودار رپید ویسکو آنالایزر (RVA) از جمله حداکثر چسبندگی (PV)، حداقل چسبندگی (MV) یا چسبندگی خمیر داغ (HPV)، چسبندگی نهایی (FV) یا چسبندگی خمیر سرد (CPV)، پس‌روی چسبندگی (SV)، فروریختگی چسبندگی (BV)، و قوام چسبندگی (CV) بودند که با استفاده از ٤۰ نشانگر مولکولی شامل ۳۸ نشانگر ریزماهواره، یک نشانگر اختصاصی برای ژن مومی (*Waxy*) و یک نشانگر STS به نام W_2R در ٦۱ ژنوتیپ برنج مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که جایگاه ژن‌های *Waxy* و *Alk* در کروموزوم شش برنج نقش مهمی در کنترل اغلب ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت پخت و خوراک از جمله AC، GT، GC و پارامترهای چسبندگی حاصل از نمودار RVA داشتند. از بین ٤۰ نشانگر مطالعه شده، هفت نشانگر RM190، RM253، RM510، RM584، RM3183، RM5371 و W_2R علاوه بر کنترل سهم بیش‌تری از تنوع صفات، ارتباط معنی‌داری با چندین ویژگی نشان دادند که می‌تواند ناشی از چند اثره و کمی بودن (اثرات پلیوتروپیک) ژن‌های یکسان و یا پیوستگی قوی بین ژن‌های متفاوت واقع در مجاورت این نشانگرها باشد. وجود همبستگی معنی‌دار بین ویژگی‌های مربوطه این نتیجه را مورد تأیید قرار داد. در این بین، نشانگر RM190 با پنج ویژگی (AC، GT، PV، MV و FV)، نشانگر RM5371 با چهار ویژگی (AC، PV، FV و CV)، نشانگرهای RM253 (GT، FV و CV) و RM510 (GC، PV و MV) با سه ویژگی و نشانگرهای RM584 (PV و MV)، RM3183 (MV و SV) و W_2R (GC و PV) با دو ویژگی دارای ارتباط معنی‌دار بودند. بنابراین در صورت تأیید نتایج با

نویسنده مسئول: بابک ربیعی
رایانامه: rabiei@guilan.ac.ir

تکرار آزمایش، می‌توان این نشانگرها را به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش پیوسته با ویژگی‌های کیفیت پخت و خوراک برنج جهت استفاده در برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر (MAS) پیشنهاد داد.

کلید واژه‌ها: انتخاب به‌کمک نشانگر، رپید ویسکو آنالایزر، ژن *Waxy*، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی دانه

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) از تیرهٔ Graminea یکی از مهم‌ترین غلات در دنیا به‌ویژه در آسیا می‌باشد و غذای اصلی بیش از نیمی از مردم جهان را تشکیل می‌دهد. کیفیت دانه برنج که شامل کیفیت ظاهری، کیفیت تبدیل و کیفیت پخت است، اهمیت زیادی برای بیش‌تر مصرف‌کنندگان در دنیا داشته و به‌ویژه نقش زیادی در بازارپسندی و ارزش تجاری رقم‌های مختلف برنج دارد (Rabiei *et al*., 2004; Balindong *et al*., 2018). به این دلیل، به‌نژادگران برنج در بیش‌تر کشورهای دنیا، علاوه بر افزایش عملکرد، به‌دنبال بهبود کیفیت برنج نیز می‌باشند. اگرچه مطالعات زیادی در زمینه نحوه کنترل ژنتیکی ویژگی‌های مرتبط با کیفیت دانه و به‌ویژه کیفیت پخت برنج در دنیا انجام شده است، با این‌حال هنوز به‌طور دقیق عوامل ژنتیکی کنترل کننده کیفیت پخت و خوراک در برنج روشن نشده است (Zhao *et al*., 2021). مطالعات زیادی در مورد نقش میزان آمیلوز (Juliano *et al*., 1965; Juliano, 1985; Syahariza *et al*., 2013; Kong *et al*., 2015; Balindong *et al*., 2018) و ساختمان آمیلوپکتین نشاسته (Juliano, 1990; Ong, 1995; Ramesh *et al*., 1999; Syahariza *et al*., 2013; Kong *et al*., 2015; Balindong *et al*., 2018) بر کیفیت پخت برنج انجام شده که کمک زیادی به شناخت عوامل موثر بر کیفیت برنج کرده است. نتایج بیش‌تر پژوهش‌های قبلی نشان داده‌اند که سه ویژگی میزان آمیلوز (AC)[1]، دمای ژلاتینی شدن (GT)[2] و قوام ژل (GC)[3] نقش مهم و کلیدی در تعیین کیفیت پخت دانه برنج دارند (Allahgholipour *et al*., 2010; Zhao *et al*., 2021). علاوه بر این سه ویژگی مهم، گزارش‌های مختلف نشان داده‌اند که بسیاری از رقم‌های برنج که از نظر سه ویژگی بالا مشابه هستند و حتی میزان پروتئین مشابهی نیز دارند، دارای کیفیت پخت یکسانی نیستند (Champagne *et al*., 1999; Allahgholipour *et al*., 2010; Balindong *et al*., 2018). بررسی‌های بیش‌تر نشان داد که این رقم‌ها ویژگی‌های متفاوتی از نظر چسبندگی نشاسته دارند و به این دلیل، پیشنهاد شد که برای تعیین کیفیت پخت برنج، علاوه بر سه ویژگی میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن و قوام ژل که به‌طور معمول در ارزیابی کیفیت پخت رقم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند، بررسی ویژگی‌های چسبندگی نشاسته[4] نیز ضروری است (Champagne *et al*., 1999; Allahgholipour *et al*., 2010). چسبندگی نشاسته دارای هفت ویژگی مهم است که همه آن‌ها با دستگاه رپید ویسکو آنالایزر (RVA)[5] بر حسب واحد چسبندگی سریع (RVU)[6] اندازه‌گیری می‌شوند. این دستگاه با گرم و سرد کردن نمونه‌ها، ویژگی‌های چسبندگی دانه‌های نشاسته را اندازه‌گیری و به‌صورت یک نمودار نمایش می‌دهد. این ویژگی‌ها شامل حداقل چسبندگی (MV)[7] یا چسبندگی خمیر داغ (HPV)[8]، چسبندگی نهایی (FV)[9] یا چسبندگی خمیر سرد (CPV)[10]، حداکثر چسبندگی (PV)[11]، فروریختگی چسبندگی (BV)[12]، پس‌روی

1- Amylose Content (AC)
2- Gelatinization Temperature (GT)
3- Gel Consistency (GC)
4- Paste Viscosity Properties
5- Rapid Visco Analyzer (RVA)
6- Rapid Viscosity Unit (RVU)
7- Minimum Viscosity (MV)
8- Hot Paste Viscosity (HPV)
9- Final Viscosity (FV)
10- Cool Paste Viscosity (CPV)
11- Peak Viscosity (PV)
12- Breakdown Viscosity (BV)

چسبندگی (SV)[1]، قوام چسبندگی (CV)[2] و دمای چسبندگی (PT)[3] هستند (Allahgholipour *et al*., 2010; Zhao *et al*., 2021).

در آزمایشی از یک جمعیت F_2 به‌منظور تجزیه ژنتیکی ویژگی‌های چسبندگی نشاسته برنج استفاده و گزارش شد که هر یک از ویژگی‌های چسبندگی احتمالاً توسط یک ژن اصلی و چند ژن فرعی کنترل می‌شوند (Zhang *et al*., 2008). این پژوهش‌گران برای روشن شدن اساس ژنتیکی ویژگی‌های چسبندگی، از یک جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب (RIL)[4] برای شناسایی QTLهای کنترل کننده ویژگی‌های چسبندگی طی دو سال استفاده و در مجموع ۳۴ QTL (۱۹ و ۱۵ QTL به‌ترتیب در سال اول و دوم) شناسایی کردند که روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۷ و ۸ قرار داشتند و از بین آن‌ها، هشت QTL در هر دو سال شناسایی شدند که پنج QTL روی کروموزوم ۶ و سه QTL روی کروموزوم ۲ قرار داشتند. در آزمایش دیگری از یک جمعیت RIL حاصل از تلاقی دو رقم برنج با میزان آمیلوز یکسان ولی با ویژگی‌های چسبندگی نشاسته متفاوت، جهت تجزیه ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت پخت استفاده شد (Traore *et al*., 2011). تجزیه ژنتیکی جمعیت نشان داد که نشانگر SNP اگزون ۱۰ ژن مومی[5] با نسبت میزان آمیلوز محلول به غیرمحلول و بیش‌تر ویژگی‌های چسبندگی نشاسته مرتبط بود. این محققین استفاده از این نشانگر را جهت انتخاب رقم‌های با کیفیت پخت مطلوب برنج در برنامه‌های به‌نژادی پیشنهاد کردند. آزمایش دیگری با استفاده از یک جمعیت $F_{2:3}$ حاصل از تلاقی دو رقم برنج ایرانی (غریب به‌عنوان والد مادری با کیفیت پخت مطلوب و سپیدرود به‌عنوان والد پدری با کیفیت پخت ضعیف)، برای تحلیل ژنتیکی صفات مرتبط با کیفیت پخت انجام و هشت QTL برای میزان آمیلوز، سه QTL برای دمای ژلاتینی شدن و یک QTL برای قوام ژل گزارش شد (Sabouri *et al*., 2012). در بین این QTLها، چهار QTL برای میزان آمیلوز روی کروموزوم ۶ شناسایی شد که یکی از آن‌ها در حد فاصل دو نشانگر RM190-RM586 و در مجاورت ژن *Waxy* قرار داشت و حدود ۱۹/۳ درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کرد. برای دمای ژلاتینی شدن نیز یکی از QTLها در موقعیت ژن *Alk* روی کروموزوم ۶ مکان‌یابی شد که بیش‌ترین تنوع فنوتیپی را توصیف کرد.

در مطالعه دیگری که به‌منظور بررسی نقش QTLهای اصلی و اپیستاتیک و برهمکنش آن‌ها با محیط در کنترل ژنتیکی میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن و ویژگی‌های چسبندگی نشاسته انجام شد، از ۱۴۴ ژنوتیپ RIL حاصل از تلاقی دو رقم هاشمی و نعمت و ۱۷۱ نشانگر ریزماهواره استفاده شد (Ebadi *et al*., 2013). نتایج نشان داد که در مجموع ۱۸ QTL اصلی در قالب شش خوشه QTL که اغلب آن‌ها روی کروموزوم شماره ۶ قرار دارند، کنترل ده ویژگی مربوط به کیفیت پخت را کنترل می‌کنند و از بین آن‌ها سه خوشه با جایگاه ژن *Waxy* و یک خوشه با جایگاه ژن *Alk* پیوسته هستند. در آزمایش دیگری، عوامل ژنتیکی مسئول کیفیت پخت برنج در ۱۹۰ ژنوتیپ RIL با استفاده از ۱۳۹ نشانگر بررسی و ۳۴ QTL شناسایی شد روی هشت کروموزوم برنج توزیع شده بودند و QTL شناسایی شده در مجاورت ژن *Waxy* ارتباط معنی‌داری با شش ویژگی چسبندگی نشاسته داشت (Hsu *et al*., 2014). در پژوهش دیگری از دو جمعیت RIL برای تجزیه ژنتیکی کیفیت پخت برنج استفاده و در مجموع تعداد ۲۹ QTL شناسایی شد که یکی از آن‌ها که با ژن *Waxy* پیوسته بود، بالاترین تأثیر را بر میزان آمیلوز و ویژگی‌های چسبندگی نشاسته داشت (Xu *et al*., 2015). در مطالعه دیگری، ارتباط بین ۲۶ نشانگر حاصل از ژن‌های مربوط به بیوسنتز نشاسته با ۱۸ ویژگی فیزیکوشیمیایی نشاسته در دو مجموعه متنوع از نمونه‌های برنج آمریکا بررسی شد (Li *et al*., 2017). نتایج نشان داد که چندشکلی‌های (CT)n ژن *Waxy* تأثیر معنی‌داری بر صفات مرتبط با محتوای آمیلوز ظاهری داشتند. آن‌ها پنج نشانگر SNP[6] ژن *Waxy* و دو نشانگر SNP ژن SSIIa[7] را که اثرات بزرگ و ثابتی بر صفات مرتبط با کیفیت نشاسته داشتند، برای

1- Setback Viscosity (SV)
2- Consistency Viscosity (CV)
3- Pasting Temperature (PT)
4- Recombinant Inbred Line (RIL)
5- *Waxy* gene
6- Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
7- Starch Synthase

اصلاح مولکولی کیفیت پخت برنج پیشنهاد کردند (Li *et al*., 2017).

در آزمایش دیگری ترکیب پروتئین دانه و تاثیر آن بر صفات مرتبط با کیفیت پخت برنج (میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن و ویژگی‌های چسبندگی نشاسته) در ۱۶۰ لاین اصلاح‌شده با مقدار آمیلوز متوسط (۲۰-۱۷ درصد) مورد بررسی قرار گرفت (Balindong *et al*., 2018). نتایج نشان داد که اگرچه بین ترکیبات پروتئین دانه با چندین ویژگی چسبندگی همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت، اما تفاوت بین رقم‌های برنج از نظر ترکیب نشاسته به‌طور کامل تفاوت در کیفیت پخت رقم‌ها را توجیه نکرد. ارتباط بین عطر و طعم دانه با ویژگی‌های کیفیت پخت برنج نیز با استفاده از سه روش مختلف ارزیابی طعم شامل تجزیه شیمیایی، پروفیل RVA و آنالیزور طعم در ۳۶ رقم برنج ایندیکا در سه منطقه جغرافیایی متفاوت در کشور چین مورد بررسی قرار گرفت (Chen *et al*., 2021). نتایج آن‌ها نشان داد که دما و مدت زمان تابش نور خورشید طی دوره پر شدن دانه بر کیفیت پخت برنج موثر است. علاوه بر این، رقم‌های با عطر و طعم زیاد، دارای محتوای آمیلوز و پروتئین و همچنین قوام چسبندگی، پس‌روی چسبندگی و چسبندگی نهایی پایین، و در مقابل حداکثر چسبندگی و فروریختگی چسبندگی بالایی بودند. همچنین، پروتئین و ترکیب پروتئین و آمیلوز به‌ترتیب ۳۸/۶ و ۶۲/۱ درصد از تغییرات عطر و طعم را توجیه کرد، در حالی که پروفیل RVA تحت تأثیر محتوای پروتئین، آمیلوز و آمیلوپکتین قرار گرفت و ۶۰.۵ درصد از تغییرات عطر و طعم را توصیف کرد. در آزمایش دیگری که به‌منظور شناسایی QTLهای هفت ویژگی حاصل از دستگاه RVA طی چهار سال در چین انجام شد، در مجموع ۳۱۰ QTL (از یک تا ۵۵ QTL برای هر صفت) شناسایی شد که شش QTL در هر چهار سال و ۲۶ QTL حداقل در سه سال شناسایی شد که ۱۳ QTL با اثر پلیوتروپیک همزمان دو تا شش ویژگی را کنترل می‌کردند (Zhao *et al*., 2021). در مطالعه دیگری، QTLهای کنترل کننده ویژگی‌های چسبندگی نشاسته (پروفیل RVA) با استفاده از روش رگرسیون ریج در یک جمعیت RIL در دو محیط ارزیابی و در مجموع ۵۹ QTL مرتبط با ویژگی‌های چسبندگی در دو محیط شناسایی شد که در ۱۱ کروموزوم برنج توزیع شده و هر QTL از ۰/۱۲ تا ۸۵/۱۶ درصد از تغییرات فنوتیپی را توصیف کردند (Zhan *et al*., 2026). از بین این QTLها، ۱۱ QTL با اثرات بزرگ در هر دو محیط شناسایی شدند و QTL واقع در فاصله ۱/۴۴-۱/۸۵ مگاجفت باز روی کروموزوم ۶ حاوی ژن مومی به‌طور همزمان هشت ویژگی پروفیل RVA را کنترل کرد. علاوه بر این، فاصله ۲۰/۷۰-۲۰/۵۸ Mb روی کروموزوم ۵ و ۲۴/۹۶-۲۵/۴۲ Mb روی کروموزوم ۸ اثر معنی‌داری بر چند ویژگی RVA داشتند. این پژوهش‌گران در انتها نه ژن کاندید که به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم بر مسیر سنتز نشاسته تأثیر می‌گذارند را شناسایی کردند.

با وجود پیشرفت‌های قابل توجه در شناسایی ژن‌ها و QTLها هنوز اطلاعات کمی در مورد کارآیی این نشانگرها و استفاده از آن‌ها در برنامه‌های انتخاب به‌کمک نشانگر در ژنوتیپ‌های برنج سازگار با شرایط اقلیمی ایران وجود دارد. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی ارتباط بین نشانگرهای مولکولی به‌ویژه نشانگرهای واقع در جایگاه ژن‌های *Waxy* و *Alk* با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مرتبط با کیفیت پخت و خوراک برنج و شناسایی نشانگرهای معنی‌دار پیوسته با این ویژگی‌ها در یک جمعیت متنوع برنج سازگار با شرایط اقلیمی ایران اجرا شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این تحقیق، مجموعه‌ای متنوع شامل ۶۱ ژنوتیپ برنج سازگار با شرایط اقلیمی ایران بود که بذر آن‌ها از موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) و موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI) تهیه شد (جدول ۱). بذر رقم‌های مورد مطالعه پس از ضد عفونی با محلول قارچ‌کش کربوکسین تیرام (ویتاواکس تیرام) با غلظت ۲/۵ در هزار در بستر خزانه کشت و پس از این که به ارتفاع حدود ۳۰ سانتی‌متر (چهار برگی) رسیدند، به مزرعه آزمایشی منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) در سال ۱۳۹۴ انجام شد. کلیه مراقبت‌های لازم تا رسیدن گیاهان به مرحله برداشت بر اساس دستورالعمل موسسه تحقیقات برنج کشور انجام و سپس نمونه‌ها برداشت و جهت اندازه‌گیری ویژگی‌های کیفی به آزمایشگاه منتقل شدند. صفات مورد مطالعه

در این آزمایش، ویژگی‌های تعیین کننده کیفیت پخت بودند که با نمونه‌برداری از ده بوته تصادفی از هر کرت بر اساس دستورالعمل موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (SES, 2014) مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. این ویژگی‌ها شامل دمای ژلاتینی شدن (Little *et al*., 1958)، میزان آمیلوز (Juliano, 1971)، قوام ژل (Cagampang *et al*., 1973) و ویژگی‌های چسبندگی نشاسته شامل حداقل و حداکثر چسبندگی، چسبندگی نهایی، فروریختگی چسبندگی (تفاوت بین حداکثر و حداقل چسبندگی)، پس‌روی چسبندگی (تفاوت بین چسبندگی نهایی و حداکثر چسبندگی) و قوام چسبندگی (تفاوت بین چسبندگی نهایی و حداقل چسبندگی) بودند. برای اندازه‌گیری ویژگی‌های چسبندگی، سه گرم آرد برنج سفید پس از عبور از الک یک میلی‌متری با ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و در داخل استوانه فلزی دستگاه رپید ویسکو آنالایزر (RVA, Model 3-D, Newport Scientific, Sydney Australia) قرار داده شد. دمای اولیه دستگاه ۵۰ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد. دستگاه در ۱۰ ثانیه اول با سرعت ۹۶۰ دور در دقیقه شروع به کار کرد و سپس سرعت آن در ۱۶۰ دور در دقیقه ثابت شد. ویژگی‌های چسبندگی نمونه‌ها با استفاده از برنامه دمایی در مدت ۱۲ دقیقه تعیین شد (Allahgholipour *et al*., 2010). تمام اندازه‌گیری‌ها در شرایط یکسان آزمایشگاهی و با دستگاه کالیبره‌شده و مطابق با روش استاندارد AACC International Method 61-02.01 با استفاده از پروفایل استاندارد دستگاه انجام شد.

ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در آزمایشگاه ژنومیکس دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان انجام شد. برای ارزیابی مولکولی ژنوتیپ‌ها، با بررسی مطالعات انجام شده در ارتباط با ویژگی‌های کیفیت پخت برنج و هم‌چنین با جستجو در وبگاه گرامنه (www.gramene.org) تعداد ۴۰ نشانگر شامل ۳۸ نشانگر ریزماهواره، یک نشانگر اختصاصی برای ژن *Waxy* و یک نشانگر STS به نام W_2R انتخاب شدند. نام، مشخصات و صفات پیوسته با نشانگرها در جدول ۲ ارایه شده است.

استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های برگ جوان با استفاده از روش CTAB (Murray and Thompson, 1980) انجام و کیفیت و کمیت DNA با استفاده از ژل آگارز یک درصد بررسی شد (شکل ۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر GenAmp, USA در حجم ۱۰ میکرولیتر شامل ۸ میکرولیتر محلول اصلی PCR (شامل PCR Buffer 10X, dNTPs 5mM, $MgCl_2$ 50mM, Tag DNA Polymerase 5U/µL) و ۲ میکرولیتر نمونه DNA ژنومی با غلظت ۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر انجام شد. کلیه مواد از شرکت سیناژن تهیه شدند. برنامه دمایی PCR شامل یک مرحله وا سرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴ °C به‌مدت ۴ دقیقه و سپس ۳۶ چرخه سه‌مرحله‌ای شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ °C به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۶۵–۵۰ °C (با توجه دمای اتصال هر آغازگر) به‌مدت ۴۵ ثانیه و بسط آغازگرها در دمای ۷۲ °C به‌مدت ۴۵ ثانیه بود و در پایان نیز بسط انتهایی در دمای ۷۲ °C به‌مدت پنج دقیقه صورت گرفت (Rabiei *et al*., 2004). محصولات PCR با استفاده از ژل‌های پلی‌اکریل‌آمید ۱۰ درصد و دستگاه الکتروفورز عمودی مدل MGV-102 تفکیک و به‌منظور آشکارسازی و امتیازدهی نوارها، رنگ‌آمیزی ژل‌ها با اتیدیوم بروماید انجام و سپس با دستگاه ژل‌داک (Gel Documentation 2000, BioRad) عکس‌برداری شدند (شکل ۲). به‌منظور تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، ابتدا الگوهای نواری بر اساس وجود (یک) یا عدم وجود (صفر) در هر یک از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نمره‌دهی و سپس برای شناسایی نشانگرهای آگاهی‌بخش، رگرسیون گام‌به‌گام بین متغیرهای وابسته (صفات مورد مطالعه) و متغیرهای مستقل (الگوی نواربندی نشانگرها) با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که از ۴۰ نشانگر ارزیابی شده در این آزمایش، ۲۲ نشانگر حداقل با یکی از ویژگی‌های مربوط به کیفیت پخت پیوستگی داشتند. قوام چسبندگی و پس‌روی چسبندگی با دو نشانگر پیوسته بودند و در مقابل، محتوای آمیلوز با هفت نشانگر پیوستگی نشان داد (جدول ۳). از طرف دیگر، ارتباط بین برخی از نشانگرها مانند RM412، RM528، RM204، RM3827، RM7179، RM586، RM4608، RM5599،

RM4128، RM3، RM314، RM1340، RM3330، RM508، RM549 و RM589 فقط با یکی از ویژگی‌های مورد مطالعه معنی‌دار بود، در حالی که تعداد دیگری از نشانگرها نظیر RM190، RM584، RM5371، RM3183، RM253، W_2R و RM510 با چندین ویژگی ارتباط معنی‌داری داشتند. نشانگر RM190 با پنج ویژگی شامل میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن، حداقل چسبندگی، حداکثر چسبندگی و چسبندگی نهایی پیوسته بود که با توجه به اینکه این نشانگر دقیقاً در جایگاه ژن *Waxy* روی کروموزوم شش قرار دارد، بنابراین می‌توان به نقش ناحیه *Waxy* در کنترل این صفات اشاره کرد. این نشانگر هم‌چنین به‌تنهایی حدود ۲۰/۷ درصد از واریانس حداکثر چسبندگی و ۲۰/۶ درصد از واریانس حداقل چسبندگی را توجیه کرد و بنابراین به‌عنوان یک نشانگر بزرگ‌اثر پیوسته با این صفات، می‌تواند برای اصلاح مولکولی کیفیت پخت مورد توجه به‌نژادگران برنج قرار گیرد. نشانگر RM4128 که در مجاورت جایگاه ژن آلکالین (*Alk*) قرار دارد (Temnykh *et al*., 2000)، فقط با صفت فروریختگی چسبندگی پیوسته بود. در مقابل، نشانگر RM5371 که بر اساس نقشه پیوستگی نشانگرهای ریزماهواره در یکی از جمعیت‌های RIL رقم‌های برنج ایرانی نزدیک به هیچ‌یک از دو جایگاه ژن‌های *Waxy* و *Alk* قرار نداشت (Ebadi *et al*., 2013)، با چهار صفت تعیین کننده کیفیت پخت شامل میزان آمیلوز، حداکثر چسبندگی، چسبندگی نهایی و قوام چسبندگی پیوسته بود.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های برنج استفاده شده در این مطالعه

Table 1. Rice genotypes used in this study

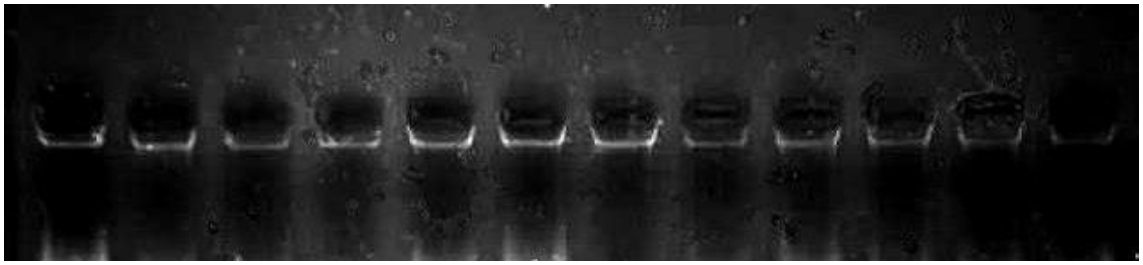
No.	Genotype	Type	Origin	No.	Genotype	Type	Origin
1	Line 830	Improved	IRRI*, Philippines	32	Hasansaraee	Landrace	Guilan, Iran
2	Line 831	Improved	IRRI, Philippines	33	Domsefid	Landrace	Guilan, Iran
3	Saleh	Improved	Guilan, Iran	34	Shahpasand	Landrace	Mazandran, Iran
4	Neda	Improved	Mazandran, Iran	35	Tarom Mantaghe	Landrace	Mazandran, Iran
5	Khazar	Improved	Guilan, Iran	36	Binam	Landrace	Guilan,Iran
6	Nemat	Improved	Mazandran, Iran	37	IR30	Foreign	IRRI, Philippines
7	Dorfak	Improved	Guilan, Iran	38	IR50	Foreign	IRRI, Philippines
8	Shiroodi	Improved	Mazandran, Iran	39	IR60	Foreign	IRRI, Philippines
9	Sepidrood	Improved	Guilan, Iran	40	IR36	Foreign	IRRI, Philippines
10	Kadous	Improved	Guilan, Iran	41	IR58	Foreign	IRRI, Philippines
11	Amol1	Improved	Mazandran, Iran	42	IR28	Foreign	IRRI, Philippines
12	Amol3	Improved	Mazandran, Iran	43	Fuji Minori	Foreign	Japan
13	Tarom Mahalli	Landrace	Mazandran, Iran	44	DC	Foreign	Egypt
14	Hasani	Landrace	Guilan, Iran	45	CY	Foreign	Egypt
15	Anbarboo	Landrace	Guilan, Iran	46	Taichung	Foreign	China
16	Dashti	Landrace	Guilan, Iran	47	USEN	Foreign	Egypt
17	Moosatarom	Landrace	Mazandran, Iran	48	Arjantin1	Foreign	Argentina
18	Daylamani	Landrace	Mazandran, Iran	49	IRFAON204	Foreign	IRRI, Philippines
19	Gharib	Landrace	Guilan, Iran	50	IRFAON113	Foreign	IRRI, Philippines
20	Anbarboo Ilam	Landrace	Illam, Iran	51	Dular	Foreign	India
21	Ghashenge	Landrace	Guilan, Iran	52	TETEP	Foreign	Egypt
22	Hashemi	Landrace	Guilan, Iran	53	Champa Boodar	Landrace	Guilan,Iran
23	Sangejo	Landrace	Mazandran, Iran	54	Tarom Amiri	Landrace	Mazandran, Iran
24	Ahlami Tarom	Landrace	Mazandran, Iran	55	Kontvare	Foreign	Guilan, Iran
25	Abjiboji	Landrace	Guilan, Iran	56	Gohar	Improved	Guilan, Iran
26	Sadri	Landrace	Guilan, Iran	57	IR25571	Foreign	IRRI, Philippines
27	Gharib-Siah-Reyhani	Landrace	Guilan, Iran	58	Line 23	Foreign	IRRI, Philippines
28	Domsiah	Landrace	Guilan, Iran	59	RI184472	Improved	Guilan, Iran
29	Domzard	Landrace	Guilan, Iran	60	RI18443046	Improved	Guilan, Iran
30	Salari	Landrace	Guilan, Iran	61	RI184421	Improved	Guilan, Iran
31	Mohammadi Chaparsar	Landrace	Mazandran, Iran				

جدول ۲- نشانگرهای مولکولی استفاده شده در این مطالعه

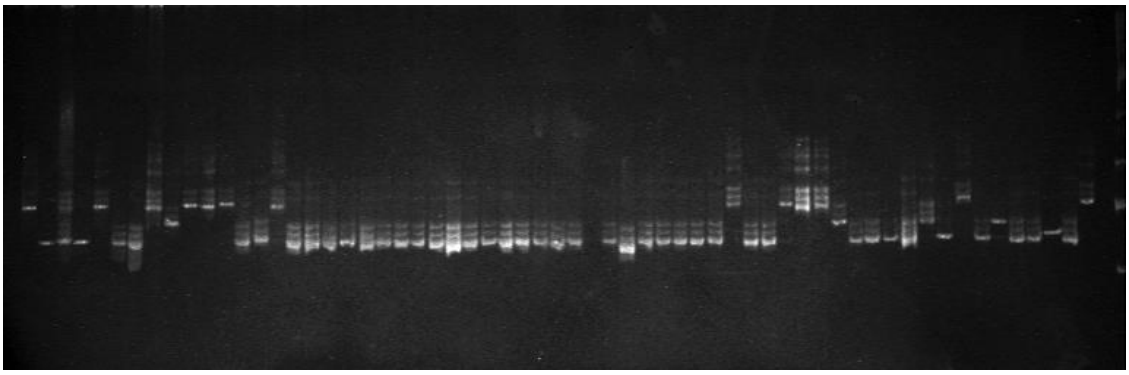
Table 2. Molecular markers used in this study

No.	Marker	Trait †	Reference
1	RM412	-	-
2	RM7434	AC, GT	Sabouri *et al*., 2012
3	RM141	SV, CV	Ebadi *et al*., 2013
4	RM3183	PV	Ebadi *et al*., 2013
5	RM508	AC, MV	Ebadi *et al*., 2013
6	RM314	AC, BV	Wang *et al*., 2007; Ebadi *et al*., 2013
7	RM527	SV	Ebadi *et al*., 2013
8	RM510	-	-
9	RM225	AC	Ebadi *et al*., 2013
10	RM30	-	-
11	RM31	SV, BV, CV	Ebadi *et al*., 2013
12	RM402	AC, GT, PV, CV, SV, FV	Ebadi *et al*., 2013
13	RM340	AC, CV	Sabouri *et al*., 2012
14	RM217	GT, FV, CV	Ebadi *et al*., 2013
15	RM528	-	-
16	RM204	AC, GC, GT	Wang *et al*., 2007
17	RM454	GC	Liu *et al*., 2013
18	RM162	-	-
19	RM586	AC, MV, PV, CV	Wang *et al*., 2007; Ebadi *et al*., 2013
20	RM589	AC, MV, PV, CV, SV	Wang *et al*., 2007; Ebadi *et al*., 2013
21	RM3827	-	-
22	RM253	AC, GT, MV, CV, BV	Wang *et al*., 2007; Chen *et al*., 2008 ; Li *et al*., 2017
23	RM276	-	-
24	RM598	SV	Ebadi *et al*., 2013
25	RM584	AC, GC, MV, PV, BV, SV, CV	Tabkhkar *et al*., 2012; Feifei *et al*., 2015
26	RM7179	-	-
27	RM6836	GT, PV, FV	Sabouri *et al*., 2012; Ebadi *et al*., 2013
28	RM3	GT	Sabouri *et al*., 2012
29	RM103	-	-
30	RM549	GC, GT, PV	Wang *et al*., 2007; Sabouri *et al*., 2012
31	RM170	AC, GC	Fan *et al*., 2005; Tabkhkar *et al*., 2012
32	RM190	AC, GC, GT, MV, PV, FV, BV, CV	Ayres *et al*., 1997; Fan *et al*., 2005; He *et al*., 2006; Liu *et al*., 2011; Ebadi *et al*., 2013
33	RM5371	AC	Ebadi *et al*., 2013
34	RM5599	SV, CV	Ebadi *et al*., 2013
35	RM1340	PV	Ebadi *et al*., 2013
36	RM4608	-	-
37	RM4128	GT, CV, PV, SV	Ebadi *et al*., 2013
38	RM3330	-	-
39	W_2R	AC, GT, PV, FV	Ayres *et al*., 1997; Ebadi *et al*., 2013
40	*Waxy* gene	MV, PV, SV, BV	Hsu *et al*., 2014 ; Feifei *et al*., 2015

† AC, Amylose content; GT, Gelatinization temperature; GC, Gel consistency; PV, Peak viscosity; MV, Minimum viscosity; FV, Final viscosity; SV, Setback viscosity; BV, Breakdown viscosity; CV, Consistency viscosity.



شکل ۱- DNA ژنومی استخراج شده مربوط به برخی از ژنوتیپ‌های برنج روی ژل آگارز یک درصد
Figure 1. Extracted genomic DNA of some rice genotypes on 1% agarose gel



شکل ۲- چندشکلی مشاهده شده توسط نشانگر ریزماهواره RM508 در ٦١ ژنوتیپ برنج موردمطالعه
Figure 2. Polymorphism observed by the microsatellite marker RM508 in 61 studied rice genotypes

وجود ارتباط معنی‌دار بین نشانگرهای یکسان نظیر RM190 و RM5371 با چندین ویژگی مرتبط با کیفیت پخت، ضمن نشان دادن نقش مهم این دو نشانگر در کنترل ویژگی‌های کیفیت پخت و خوراک برنج، می‌تواند وجود ژن‌های یکسان با اثرات پلیوتروپی و یا ژن‌های متفاوت با پیوستگی قوی را در کنترل این ویژگی‌ها به‌خوبی به نمایش بگذارد. بررسی ضرایب همبستگی بین ویژگی‌های مورد مطالعه نیز نشان داد که همبستگی‌های مثبت یا منفی معنی‌داری بین بسیاری از ویژگی‌های اندازه‌گیری شده، به‌ویژه بین AC و GT با ویژگی‌های حاصل از پروفیل RVA وجود داشت، به‌طوری که همبستگی بین AC با تمامی ویژگی‌های پروفیل RVA به‌جز SV و بین GT با تمامی این ویژگی‌ها به‌جز PV و SV معنی‌دار بود (جدول ۴). همبستگی معنی‌دار بین ویژگی‌های کیفیت پخت می‌تواند وجود اثرات پلیوتروپی ژن‌های یکسان و یا اثرات پیوستگی ژن‌های مجاور را مورد تأیید قرار دهد. در آزمایشی که به منظور شناسایی QTLهای کنترل کننده کیفیت پخت و خوراک برنج انجام شد، همبستگی بین AC با MV، FV و SV مثبت و معنی‌دار و با GC و BV منفی و معنی‌دار گزارش شد (Ponce *et al*., 2018). این پژوهش‌گران نیز همانند تحقیق حاضر وجود اثرات پلیوتروپیک QTLها را در کنترل کیفیت پخت و خوراک برنج گزارش و دلیل همبستگی معنی‌دار بین صفات را وجود اثرات پلیوتروپیک QTLهای مشابه عنوان کردند. آن‌ها در مجموع ۱۷ QTL با توصیف ۳/۱۴ تا ۱۷/۱۸ درصد از تنوع فنوتیپی برای ۱۰ صفت شناسایی کردند که از بین آن‌ها یک QTL منطبق با جایگاه ژن *GBSS1* بسیاری از صفات مرتبط با کیفیت پخت از جمله AC، GC، PV، FV و BV و QTL دیگر نزدیک به جایگاه ژن *SSIIa* پنج صفت مرتبط با کیفیت پخت را کنترل کردند (Ponce *et al*., 2018).

در آزمایشی ارتباط بین ۱۱ صفت زراعی با ۱۵۲ نشانگر ریزماهواره در برنج بررسی و گزارش شد که برخی از صفات با بیش از یک نشانگر پیوستگی داشتند

(Zhou *et al*., 2012). این پژوهش‌گران میزان واریانس هر یک از صفات توجیه شده توسط نشانگرها را بین ۱/۹۹ تا ۲۱/۵۸ درصد گزارش کردند که کم‌تر از نتایج تحقیق حاضر (بین ۳۰/۱ تا ۸۲/۷ درصد) بود. از جمله دلایل عدم تطابق در نتایج را می‌توان علاوه بر تفاوت در نوع صفات و زمینه ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه، به تفاوت در نشانگرها نسبت داد، به‌طوری که نشانگرهای مطالعه شده در تحقیق حاضر به‌طور آگاهانه از بین نشانگرهایی انتخاب شدند که قبلاً پیوستگی آن‌ها با صفات مورد نظر در جمعیت‌های دیگر گزارش شده بود و در حقیقت هدف از مطالعه حاضر تایید پیوستگی نشانگرها در جمعیت مورد مطالعه و شناسایی بهترین نشانگرها به‌منظور استفاده از آن‌ها در اصلاح مولکولی جمعیت بود. در آزمایش دیگری که به‌منظور بررسی عوامل ژنتیکی مسئول کیفیت پخت و خوراک دانه‌های برنج در ۱۹۰ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب با استفاده از ۱۳۹ نشانگر مولکولی انجام شد، سی و چهار QTL که روی هشت کروموزوم برنج توزیع شده بودند شناسایی شد که هر یک از آن‌ها در حدود ۱/۲ تا ۷۸/۱ درصد از واریانس فنوتیپی صفات را توجیه کردند (Hsu *et al*., 2014). از جمله نتایج جالب توجه این پژوهش‌گران این بود که QTL شناسایی شده برای ژن *Waxy* اثر معنی‌داری بر شش ویژگی مربوط به چسبندگی نشاسته دانه برنج نیز داشت.

جدول ۳- نشانگرهای آگاهی‌بخش پیوسته با صفات مورد مطالعه با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام

Table 3. Informative markers linked to the studied characteristics using stepwise regression

Trait †	Significant linked marker	Adjusted R^2	Significant level
AC	RM1340, RM190, RM3, RM508, RM5371, RM586, RM314	0.827	0.000
GT	RM253, RM528, RM549, RM412, RM190	0.529	0.000
GC	RM510, RM3330,W_2R	0.356	0.000
PV	RM190, RM584, RM510, RM5371, W_2R	0.465	0.000
MV=HPV	RM190, RM584, RM510, RM3183	0.458	0.000
FV=CPV	RM5371, RM253, RM190	0.391	0.000
SV	RM3183, RM4608	0.319	0.000
BV	RM7179, RM204, RM4128, RM589, RM5599, RM3827	0.407	0.001
CV	RM5371, RM253	0.301	0.000

† AC, Amylose content; GT, Gelatinization temperature; GC, Gel consistency; PV, Peak viscosity; MV, Minimum viscosity; HPV, Hot paste viscosity; FV, Final viscosity; CPV, Cool paste viscosity; SV, Setback viscosity; BV, Breakdown viscosity; CV, Consistency viscosity.

جدول ٤- همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در این مطالعه

Table 4. Correlation coefficients among the measured traits in this study

Trait †	AC	GT	GC	PV	MV	FV	SV	BV	CV
AC	1								
GT	0.369**	1							
GC	-0.177 ns	-0.444**	1						
PV	0.678**	0.244 ns	-0.239 ns	1					
MV=HPV	0.751**	0.289*	-0.166 ns	0.910**	1				
FV=CPV	0.715**	0.291*	-0.312*	0.863**	0.859**	1			
SV	0.245 ns	0.044 ns	0.280*	0.334**	0.220 ns	0.611**	1		
BV	-0.600**	-0.257*	0.001 ns	-0.463**	-0.788**	0.555**	0.024ns	1	
CV	0.607**	0.273*	-0.210 ns	0.588**	0.652**	0.916**	0.713**	-0.522**	1

† AC, Amylose content; GT, Gelatinization temperature; GC, Gel consistency; PV, Peak viscosity; MV, Minimum viscosity; HPV, Hot paste viscosity; FV, Final viscosity; CPV, Cool paste viscosity; SV, Setback viscosity; BV, Breakdown viscosity; CV, Consistency viscosity.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بخش قابل توجه و نسبتاً زیادی از تنوع فنوتیپی ویژگی‌های مربوط به کیفیت پخت برنج به‌طور مشترک توسط چندین نشانگر کنترل می‌شود. در مورد میزان آمیلوز (AC)، نشانگر RM1340 به‌تنهایی توانست ۲۶ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت مهم را توصیف کند، اما این نشانگر به‌همراه نشانگرهای RM3، RM190، RM314، RM508، RM586 و RM5371 در مجموع ۸۲/۷ درصد از واریانس میزان آمیلوز را در جمعیت مورد مطالعه توجیه کرد. سه نشانگر RM190، RM508 و RM586 در مجاورت ژن *Waxy* روی کروموزوم شماره ۶ برنج قرار دارند و بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که ژن‌های واقع در ناحیه ژن *Waxy* نقش مهمی در کنترل محتوای آمیلوز و بنابراین کیفیت پخت رقم‌های برنج دارند. یافته‌های بسیاری از مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که میزان آمیلوز توسط ناحیه ژن *Waxy* کنترل می‌شود و یا حداقل بخش زیادی از تنوع این صفت تحت کنترل این ژن و یا سایر ژن‌های مجاور آن با پیوستگی قوی با ژن *Waxy* قرار دارند (Bao *et al*., 2003; Tian *et al*., 2005; He *et al*., 2006; Chen *et al*., 2008; Traore *et al*., 2011; Ebadi *et al*., 2013; Li *et al*., 2017). مطابق با نتایج مطالعه حاضر، پیوستگی و ارتباط معنی‌دار نشانگر RM190 با ژن *Waxy* در آزمایش دیگری نیز تأیید شده است (Ayres *et al*., 1997). همچنین، گزارش شده است که دو نشانگر RM190 و RM314 بخش بالایی از تغییرات فنوتیپی میزان آمیلوز را کنترل می‌کنند (Fan *et al*., 2005; Tabkhkar *et al*., 2012). در پژوهش دیگری، یک QTL بزرگ‌اثر در فاصله دو نشانگر RM589-RM190 و دو QTL دیگر در فاصله نشانگرهای RM586-RM508 و RM314-RM253 برای میزان آمیلوز شناسایی شد (Ebadi *et al*., 2013)، که به‌جز نشانگر RM253، ارتباط معنی‌دار سایر نشانگرها با میزان آمیلوز در تحقیق حاضر نیز به اثبات رسید. همچنین، نقش نشانگر RM5371 در کنترل ژنتیکی صفت میزان آمیلوز در بسیاری از مطالعات دیگر نیز همانند مطالعه حاضر، گزارش شده است (Ebadi *et al*., 2013). در مقابل در برخی دیگر از مطالعات، ارتباط معنی‌داری بین ژن *Waxy* و یا نشانگرهای مجاور آن با میزان آمیلوز مشاهده نشد (Bao *et al*., 2002; Wada *et al*., 2006; Liu *et al*., 2011). این تفاوت‌ها می‌تواند به‌دلیل تفاوت در زمینه ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه، روش‌های اندازه‌گیری صفات و یا روش‌های تحلیل داده‌ها جهت شناسایی روابط نشانگر- صفت باشد.

در مورد صفت دمای ژلاتینی شدن (GT)، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پنج نشانگر RM190، RM253، RM412، RM528 و RM549 دارای ارتباط معنی‌داری با صفت دمای ژلاتینی شدن بودند و در مجموع ۵۲/۹ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را توجیه کردند. در بین این نشانگرها، سه نشانگر RM190، RM253 و RM528 در حدود ۴۰/۲ درصد و نشانگر RM253 به‌تنهایی در حدود ۲۴/۳ درصد از واریانس دمای ژلاتینی شدن را توصیف کرد. نشانگر RM190 در جایگاه ژن *Waxy* و نشانگر RM253 نزدیک به جایگاه ژن *Alk* و با کمی فاصله از آن قرار دارند. مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر، نقش مکان ژن *Waxy* روی بازوی کوتاه کروموزوم شش در کنترل دمای ژلاتینی شدن برنج گزارش شده است (He *et al*., 2006). در مطالعات دیگر به نقش جایگاه ژن *Alk* نیز به‌عنوان ناحیه کروموزومی اصلی در کنترل دمای ژلاتینی شدن اشاره شده است (Sun *et al*., 2006; Wang *et al*., 2007). پژوهش‌گران دیگر نیز نقش و اهمیت جایگاه ژنومی نشانگر RM253 را در کنترل دمای ژلاتینی شدن گزارش کرده‌اند (Tabkhkar *et al*., 2012; Ebadi *et al*., 2013; Allahgholipour *et al*., 2014; Li *et al*., 2017). همچنین، در آزمایشی یک QTL بزرگ‌اثر در فاصله نشانگری RM4128-RM402 و یک QTL کوچک‌اثر در فاصله RM2615-RM4128 که با اندکی فاصله از نشانگر RM253 روی کروموزوم شش قرار دارند، برای کنترل دمای ژلاتینی شدن شناسایی شده است (Ebadi *et al*., 2013).

قوام ژل (GC)، میزان چسبندگی خمیر یا ژل حاصل از آرد یا نشاسته برنج آسیاب شده را اندازه‌گیری می‌کند و

شاخص خوبی برای بافت برنج پخته‌شده به‌ویژه برای برنج‌های با مقدار آمیلوز بالا می‌باشد. نتایج این تحقیق در مورد این صفت نشان داد که نشانگر W_2R که پیوستگی قوی با ژن ژن *Waxy* دارد، به‌همراه دو نشانگر RM3330 و RM510، در مجموع ۳۵/۶ درصد از تغییرات صفت قوام ژل را توجیه کردند. یافته‌های پژوهش‌گران دیگر نیز نقش و اهمیت کروموزوم شماره شش برنج را در کنترل قوام ژل نشان می‌دهد، به‌طوری که در آزمایشی سه QTL بزرگ‌اثر کنترل کننده قوام ژل هر سه روی کروموزوم شماره شش شناسایی شد که مهم‌ترین آن منطبق با مکان ژن *Waxy* بود (Fan *et al*., 2005). علاوه بر این، نتایج مطالعات مختلف، پیوستگی و ارتباط معنی‌دار بین صفت قوام ژل را با جایگاه نشانگرهای RM170 (Tabkhkar *et al*., 2012) و دو نشانگر RM454 و RM5314 (Liu *et al*., 2013) نشان داده است.

در مورد حداکثر چسبندگی (PV)، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ۴۶/۵۰ درصد از تغییرات این صفت توسط پنج نشانگر W_2R، RM190، RM510، RM584، RM5371 کنترل شد و از بین آن‌ها نشانگر RM190 به‌تنهایی توانست ۲۰/۷ درصد از تنوع حداکثر چسبندگی را کنترل کند. دو نشانگر RM190 و W_2R مطابق با نقشه پیوستگی برنج‌های ایرانی دقیقاً در جایگاه ژن *Waxy* قرار داشته و هر دو نشانگر پیوستگی بسیار قوی با این ژن دارند (Ebadi *et al*., 2013)، اما سه نشانگر دیگر دورتر از ژن *Waxy* و با فاصله از هم روی کروموزوم شش برنج قرار دارند. در نتیجه علاوه بر ژن *Waxy* نقاط دیگر ژنوم و به‌ویژه کروموزوم شش نیز در کنترل این صفت نقش دارند. در آزمایشی QTLهای کنترل کننده کیفیت پخت و خوراک در یک جمعیت RIL حاصل از رقم‌های برنج ایرانی طی سه سال مورد مطالعه قرار گرفت و برای صفت حداکثر چسبندگی، یک QTL بزرگ‌اثر روی کروموزوم شش در بین دو نشانگر RM586-RM589 در هر سه سال آزمایش شناسایی شد که این QTL در سال اول ۳۴/۶۹ درصد، در سال دوم ۳۳/۶۴ درصد و در سال سوم ۲۷/۱۷ درصد از واریانس فنوتیپی صفت حداکثر چسبندگی را توجیه کرد (Ebadi *et al*., 2013). این محققین بیان کردند که این QTL متأثر از جایگاه ژن *Waxy* است. آن‌ها هم‌چنین علاوه بر این QTL، QTL دیگری روی کروموزوم شش در فاصله بین دو نشانگر RM402-RM6836 در سال دوم شناسایی کردند که نشانگر RM5371 که در تحقیق حاضر با صفت حداکثر چسبندگی پیوسته بود، در نزدیکی نشانگر RM6836 قرار دارد. در مطالعات دیگر نیز همانند تحقیق حاضر نقش کروموزوم شش در کنترل صفت حداکثر چسبندگی گزارش شده است (Traore *et al*., 2011; Liu *et al*., 2011; Xu *et al*., 2015). در مقابل، در برخی دیگر از مطالعات بر خلاف نتایج این تحقیق، ارتباط معنی‌داری بین ژن‌های کروموزوم شش با صفت حداکثر چسبندگی گزارش نشده است (Bao *et al*., 2003; Zhang *et al*., 2008). از جمله دلایل تفاوت یافته‌ها در مطالعات مختلف احتمالاً می‌تواند به خاطر تأثیر زمینه‌های ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه، شرایط اجرای آزمایش‌ها و روش‌های تجزیه و تحلیل داده‌ها باشد. همچنین، ثابت شده است که سه ویژگی چسبندگی نهایی و حداقل و حداکثر چسبندگی به‌میزان زیادی تحت تأثیر عوامل محیطی قرار دارند، اما میزان آمیلوز و سایر ویژگی‌های چسبندگی بیش‌تر تحت کنترل ژنوتیپ هستند (Bao *et al*., 2002; Tong *et al*., 2014).

برای ویژگی حداقل چسبندگی (MV) یا چسبندگی خمیر داغ (HPV)، چهار نشانگر پیوسته و معنی‌دار شامل RM190، RM510، RM584 و RM3183 شناسایی شد که در مجموع ۴۵/۸ درصد از تنوع فنوتیپی حداقل چسبندگی را کنترل می‌کردند. یکی از نکات جالب توجه این بود که سه نشانگر RM190، RM510 و RM584 با ویژگی حداکثر چسبندگی نیز پیوستگی معنی‌داری داشتند. بررسی ضریب همبستگی بین این دو ویژگی نشان داد که همبستگی مثبت معنی‌دار و بالایی (۰/۹۱) بین دو ویژگی حداقل و حداکثر چسبندگی مشاهده شد (جدول ۴). در نتیجه شاید بتوان گفت که این دو صفت عمدتاً توسط ناحیه ژن

Waxy روی کروموزوم شش و به‌ویژه محدوده جایگاه سه نشانگر RM190، RM510 و RM584 کنترل می‌شوند. بررسی یافته‌های بسیاری از مطالعات قبلی نیز نشان داد که حداقل یک QTL کنترل کننده حداقل چسبندگی روی کروموزوم شش در ناحیه ژن *Waxy* یا نزدیک به این ناحیه شناسایی شده است (Bao *et al*., 2003; Zhang *et al*., 2008; Liu *et al*., 2011). در مطالعه‌ای که در یک جمعیت RIL حاصل از رقم‌های برنج ایرانی انجام شد، چهار QTL در ناحیه ژن *Waxy* برای این صفت شناسایی شد که یکی از آن‌ها در فاصله بین نشانگرهای RM589-RM190 با توصیف ۵۲/۱۲ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت به‌عنوان QTL بزرگ‌اثر کنترل کننده حداقل چسبندگی معرفی شد (Ebadi *et al*., 2013). در مطالعه دیگری نیز ارتباط معنی‌داری بین نشانگر RM584 و حداقل چسبندگی گزارش شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت (Xu *et al*., 2015).

نتایج این مطالعه برای صفت چسبندگی نهایی (FV) یا چسبندگی خمیر سرد (CPV) نشان داد که سه نشانگر RM190، RM253 و RM5371 دارای ارتباط معنی‌داری با این ویژگی بودند و در مجموع در حدود ۳۹/۱ درصد از تغییرات چسبندگی نهایی را در جمعیت مورد مطالعه کنترل کردند. بنابراین، این سه نشانگر به‌عنوان نشانگرهای مهم و آگاهی‌بخش کنترل کننده چسبندگی نهایی معرفی می‌شوند. در بین این سه نشانگر، نشانگر RM5371 دارای ارتباط معنی‌دار و پیوستگی قوی‌تری با چسبندگی نهایی بود و به‌تنهایی ۲۴ درصد از تنوع این صفت را توصیف کرد. با توجه به اینکه نشانگر RM190 دقیقاً در موقعیت ژن *Waxy* و نشانگر RM253 در نزدیکی جایگاه ژن *Alk* روی کروموزوم شش قرار دارد، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که چسبندگی نهایی علاوه بر نواحی ژن *Waxy* و *Alk* تحت تأثیر نواحی دیگر ژنوم نیز قرار دارد. پژوهش‌گران دیگر نیز یک QTL بزرگ‌اثر در جایگاه ژن *Waxy* و یک QTL کوچک‌اثر در جایگاه ژن *Alk* برای کنترل این صفت گزارش کرده‌اند (Bao *et al*., 2000; Wang *et al*., 2007). همچنین، در آزمایش دیگری دو QTL در فاصله بین نشانگرهای RM190-W2R (در جایگاه ژن *Waxy*) و RM4128-RM402 (نزدیک به جایگاه ژن *Alk*) شناسایی شد (Ebadi *et al*., 2013)، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. در مقابل، نتایج برخی دیگر از آزمایش‌ها نشان می‌دهد که هیچ‌یک از دو ناحیه ژن *Waxy* یا *Alk* در کنترل چسبندگی نهایی نقشی ندارند (Bao *et al*., 2002; Zhao *et al*., 2021). در آزمایشی که طی چهار سال انجام شد، QTLهای پایدار کنترل کننده چسبندگی نهایی که در هر چهار سال شناسایی شدند، روی کروموزوم‌های دو و نه گزارش شدند (Zhao *et al*., 2021).

یکی دیگر از ویژگی‌های مهم چسبندگی نشاسته که از منحنی حاصل از دستگاه رپید ویسکو آنالایزر (RVA) استخراج می‌شود و پیش‌بینی کننده بافت نهایی برنج و بیانگر استحکام برنج پخته‌شده است، پس‌روی چسبندگی (SV) است که تفاوت بین حداکثر چسبندگی و چسبندگی نهایی می‌باشد (Gravois and Webb, 1997; Allahgholipour *et al*., 2010, 2014). نتایج این مطالعه نشان داد که دو نشانگر RM3183 و RM4608 در حدود ۳۲ درصد از تغییرات پس‌روی چسبندگی را توجیه کردند که از این مقدار ۲۷ درصد به‌تنهایی توسط نشانگر RM3183 کنترل شد. بررسی مطالعات قبلی در مورد این صفت یافته‌های متفاوتی را نشان می‌دهد، به‌طوری که نتایج برخی از مطالعات نشان می‌دهد که یک QTL روی کروموزوم شش و نزدیک به جایگاه ژن *Waxy* به‌همراه یک QTL روی کروموزوم شماره یک برنج در کنترل پس‌روی چسبندگی نقش دارند (Bao *et al*., 2000; Wang *et al*., 2007; Feifei *et al*., 2015). هم‌چنین در برخی دیگر از مطالعات، وجود یک QTL به‌نام *qSB-V6* در فاصله بین دو نشانگر RM4128-RM402 که نزدیک به جایگاه ژن *Alk* روی کروموزوم شش قرار دارند، برای کنترل ویژگی پس‌روی چسبندگی گزارش شده است (Zhang *et al*., 2008; Ebadi *et al*., 2013).

فروریختگی چسبندگی (BV) که تفاوت بین حداکثر و

حداقل چسبندگی است، یکی دیگر از ویژگی‌های مهم چسبندگی نشاسته حاصل از دستگاه RVA است. نتایج این تحقیق نشان داد که شش نشانگر RM204، RM589، RM3827، RM4128، RM5599 و RM7179 در مجموع ۴۰/۷ درصد از واریانس فنوتیپی فروریختگی چسبندگی را توجیه کردند و می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش برای اصلاح مولکولی این ویژگی در نظر گرفته شوند. همچنین، با توجه به اینکه نشانگر RM589 در نزدیکی جایگاه ژن *Waxy* و نشانگر RM4128 در نزدیکی جایگاه ژن *Alk* قرار دارد، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که هر دو ناحیه مربوط به ژن‌های *Waxy* و *Alk* در کنترل ویژگی فروریختگی چسبندگی نقش دارند. بررسی یافته‌های پژوهش‌گران دیگر نیز نشان می‌دهد که همانند نتایج این مطالعه در بسیاری از مطالعات دیگر به وجود یک QTL در جایگاه ژن *Waxy* برای کنترل ژنتیکی فروریختگی چسبندگی اشاره شده است (Bao *et al*., 2000, Bao *et al*., 2003; Wang *et al*., 2007; Zhang *et al*., 2008; Feifei *et al*., 2015). در آزمایشی که به‌منظور شناسایی نواحی ژنومی کنترل کننده فروریختگی چسبندگی در یک جمعیت RIL ایرانی طی سه سال انجام شد، هفت QTL برای کنترل این ویژگی روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۵، ۶، ۸ و ۱۱ شناسایی شد که دو QTL به نام‌های *qBDV6a* (در فاصله نشانگرهای RM589-RM190 در ناحیه ژن *Waxy*) و *qBDV6b* (در فاصله نشانگرهای RM314-RM253 و نزدیک به ناحیه ژن *Alk*) روی کروموزوم شش قرار داشتند (Ebadi *et al*., 2013). در مقابل، نتایج برخی دیگر از مطالعات با یافته‌های مطالعه حاضر مغایرت داشت، به‌طوری که QTLهای کنترل کننده فروریختگی چسبندگی را روی کروموزوم‌های یک و هشت گزارش کرده‌اند و نقشی برای کروموزوم شش و جایگاه ژن‌های *Waxy* و *Alk* در کنترل این ویژگی قائل نشده‌اند (Kobayashi and Tomita, 2008; Liu *et al*., 2011).

قوام چسبندگی (CV) تفاوت بین چسبندگی نهایی و حداقل چسبندگی است. نتایج این مطالعه ارتباط معنی‌دار بین دو نشانگر RM253 و RM5371 را با قوام چسبندگی نشان داد که این دو نشانگر در مجموع ۳۳/۳ درصد از واریانس این ویژگی را کنترل کردند. اگرچه ارتباط معنی‌داری بین نشانگرهای واقع در ناحیه ژن‌های *Waxy* و *Alk* با قوام چسبندگی در این مطالعه شناسایی نشد، اما دو نشانگر فوق در طرفین ژن *Alk* روی کروموزوم شش واقع شده‌اند. مرور یافته‌های دیگران نشان می‌دهد که برای کنترل قوام چسبندگی در بیش‌تر مطالعات وجود دو QTL روی کروموزوم شش و یک QTL روی کروموزوم یک گزارش شده است (Bao *et al*., 2000; Zhang *et al*., 2008; Liu *et al*., 2011). مطالعه جمعیت RIL رقم‌های برنج ایرانی طی سه سال نشان داد که پنج QTL روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۶ و ۱۰ قوام چسبندگی را کنترل می‌کنند که دو QTL در ناحیه ژن‌های *Waxy* و *Alk* روی کروموزوم شش قرار داشتند و QTL واقع در ناحیه ژن *Alk* با توصیف بیش از ۱۵ درصد از تنوع فنوتیپی صفت در هر سه سال به‌عنوان QTL بزرگ‌اثر کنترل کننده قوام چسبندگی معرفی شد (Ebadi *et al*., 2013). در مطالعه دیگری نیز یک QTL در جایگاه ژن *Waxy* روی کروموزوم شش و در فاصله بین دو نشانگر RM584 -Wx برای قوام چسبندگی شناسایی شد (Feifei *et al*., 2015).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، پیوستگی و ارتباط بین ۴۰ نشانگر مولکولی شامل ۳۸ نشانگر ریزماهواره، یک نشانگر اختصاصی برای ژن *Waxy* و یک نشانگر STS (W_2R) با ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک تعیین کننده کیفیت پخت دانه در ۶۱ ژنوتیپ برنج مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که ژن‌های واقع در جایگاه ژن‌های *Waxy* و *Alk* در کروموزوم شش برنج نقش مهمی در کنترل اغلب صفات تعیین کننده کیفیت پخت و چسبندگی نشاسته داشتند. از بین ۴۰ نشانگر مطالعه شده، هفت نشانگر RM190، RM253، RM510، RM584، RM3183، RM5371 و W_2R با توجه به ارتباط معنی‌دار

با چندین ویژگی و همچنین کنترل سهم بیش‌تری از تنوع صفات، مهم‌تر از سایر نشانگرها بودند. نشانگر RM190 با پنج ویژگی، نشانگر RM5371 با چهار ویژگی، نشانگرهای RM253 و RM510 با سه ویژگی و نشانگرهای RM584، RM3183 و W_2R با دو ویژگی دارای ارتباط معنی‌دار بودند و بنابراین پیشنهاد می‌شوند به‌عنوان نشانگرهای آگاهی‌بخش پیوسته با ویژگی‌های کیفیت پخت برنج جهت استفاده در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS) مورد استفاده قرار گیرند.

References

Allahgholipour, M., Farshadfar, E., & Rabiei, B. (2014). Evaluation of molecular diversity in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using microsatellite markers linked with agronomic and grain physico-chemical characteristics. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 15(4), 337-354. https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.15625540.1392.15.4.4.8 [In Persian].

Allahgholipour, M., Rabiei, B., Ebadi, A.A., Hosseini, M., & Yekta, M. (2010). Starch viscosity properties: New criteria for assessment of cooking quality of rice (*Oryza sativa* L.) cultivatrs. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 12(2), 140-151. https://dor.isc.ac/dor/ 20.1001.1.15625540.1389.12.2.5.4 [In Persian].

Ayres, N.M., Mclung, A.M., Larkin, P.D., Bligh, H.F.J., Jones, C.A., & Park, W.D. (1997). Microsatellites and single nucleotid polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 94, 773-781. https://doi.org/10.1007/s001220050477

Balindong, J.L., Ward, R.M., Liu, L., Rose, T.J., Pallas, L.A., Ovenden, B.W., Snell, P.J., & Waters, D.L.E. (2018). Rice grain protein composition influences instrumental measures of rice cooking and eating quality. *Journal of Cereal Science*, 79, 35-42. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.09.008

Bao, J.S., Corke, H., He, P., & Zhu, L.H. (2003). Analysis of quantitative trait loci for starch properties of rice based on an RIL population. *Acta Botanica Sinica*, 45(8), 986-994.

Bao, J.S., 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. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(2-3), 408-413. https://doi.org/ 10.1007/s001220100688

Bao, J.S., Zheng, X.W., Xia, Y.W., He, P., Shu, Q.Y., Lu, X., Chen, Y., & Zhu, L.H. (2000). QTL mapping for the paste viscosity characteristics in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 280-284. https://doi.org/10.1007/s001220050037

Cagampang, G.B., Perez, C.M., & Juliano, B.O. (1973). A gel consistency test for eating quality of rice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24(12), 1589-1594. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740241214

Chen, H., Chen, D., He, L., Wang, T., Lu, H., Yang, F., Deng, F., Chen, Y., Tao, Y., Li, M., Li, G., & Ren, W. (2021). Correlation of taste values with chemical compositions and Rapid Visco Analyser profiles of 36 indica rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *Food Chemistry*, 349, 129176. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129176

Chen, M.H., Bergman, C.J., Pinson, S.R.M., & Fjellstrom, R.G. (2008). *Waxy* gene haplotypes: Associations with pasting properties in an international rice germplasm collection. *Journal of Cereal Science*, 48(3), 781-788. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.05.004

Champagne, E.T., Bett, K.L., Vinyard, B.T., McClung, A.M., Barton, F.E., Moldenhauer, K., Linscombe, S., & McKenzie, K. (1999). Correlation between cooked rice texture and rapid visco analyser measurements. *Cereal Chemistry*, 76(5), 764-771. https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.5.764

Ebadi, A.A., Farshadfar, E., & Rabiei, B. (2013). Mapping QTLs controlling cooking and eating quality indicators of Iranian rice using RILs across three years. *Australian Journal of Crop Science*, 7(10), 1494-1502.

Fan, C.C., Yu, X.Q., Xing, Y.Z., Xu, C.G., Luo, L.J., & Zhang, Q. (2005). The main effects, epistatic effects and environmental interactions of QTLs on the cooking and eating quality of rice in a doubled-haploid line population. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(8), 1445-1452. https://doi.org/10.1007/s00122-005-1975-y

Feifei, X., Chengxiao, S., Yan, H., Yaling, Ch., Chuan, T., & Jinsong, B. (2015). QTL mapping for rice grain quality: a strategy to detect more QTLs within sub-populations. *Molecular Breeding*, 35, 105. https://doi.org/10.1007/s11032-015-0296-3

Gravois, K.A., & Webb, B.D. (1997). Inheritance of long grain rice amylograph viscosity characteristics. *Euphytica*, 97(1), 25-29. https://doi.org/10.1023/A:1003082930147

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. *Molecular Breeding*, 18, 277-290. https://doi.org/10.1007/s11032-006-5505-7

Hsu, Y.C., Tseng, M.C., Wu, Y.P., Lin, M.Y., Wei, F.J., Hwu, K.K., Hsing, Y.I., & Lin, Y.R. (2014). Genetic factors responsible for eating and cooking qualities of rice grains in a recombinant inbred population of an inter-subspecific cross. *Molecular Breeding*, 34(2), 655-673. https://doi.org/10.1007/s11032-014-0065-8

Juliano, B.O. (1971). A simplified assay for milled-rice amylase. *Cereal Science Today*, 16, 334-339.

Juliano, B.O. (1985). Criteria and tests for rice grain qualities. In: Juliano, B.O. (Ed.), Rice Chemistry and Technology. The American Association of Cereal Chemists, Saint Paul, Minnesota, USA. pp: 443-524.

Juliano, B.O. (1990). Rice grain quality: Problems and challenges. *Cereal Food World*, 35(2), 245-253.

Juliano, B.O., Onate, L.U., & del Mundo, A.M. (1965). Relation of starch composition, protein content, and gelatinization temperature to cooking and eating qualities of milled rice. *Food Technology*,19, 1006-1011.

Kobayashi, A., & Tomita, K. (2008). QTL detection for stickiness of cooked rice using recombinant inbred lines derived from crosses between Japonica rice cultivars. *Breeding Seience*, 58: 419-426.

Kong, X., Chen, Y., Zhu, P., Sui, Z., Corke, H., & Bao, J. (2015). Relationships among genetics, structure, and functional properties of rice starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(27), 6241-6248. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02143

Li, K., Bao, J., Corke, H., & Sun, M. (2017). Association analysis of markers derived from starch biosynthesis related genes with starch physicochemical properties in the USDA rice mini-core collection. *Frontiers in Plant Science*, 8, 424. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00424

Little, R.R., Hilder, G., & Dawson, E.H. (1958). Differential effect of dilute alkalion 25 varieties of milled rice. *Cereal Chemistry*, 35, 111-126.

Liu, Q., Takita, T., Wu, X., Ma, J., Li, T., Zhou, X., (2013). Effects of high air temperature on rice grain quality and yield under field condition. *Agronomy Journal*, 105(2), 446-454. https://doi.org/10.2134/agronj2012.0164

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(1), 64-80. https://doi.org/10.1139/G10-070

Murray, M.G., & Thompson, W.F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant. *Nucleic Acids Research*, 8(19), 4321-4325. https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321

Ong, M.H. (1995). Texture determinations in cooked parboiled rice. I: Rice starch amylose and the fine structure of amylopectine. *Journal of Cereal Science*, 21(3), 251-260. https://doi.org/10.1006/JCRS.1995.0028

Ponce, K.S., Ye, G., & Zhao, X. (2018). QTL identification for cooking and eating quality in Indica rice using multi-parent advanced generation intercross (MAGIC) population. *Frontiers in Plant Science*, 9, 00868. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00868

Rabiei, B., Valizadeh, M., Ghareyazie, B., Moghaddam, M., & Ali, A.J. (2004). Identification of QTLs for rice grain size and shape of Iranian cultivars using SSR markers. *Euphytica*, 137, 325-332. https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000040452.76276.76

Ramesh, M., Ali, Z.S., & Bhattacharya, K.R. (1999). Structure of rice and its relation to cooked rice texture. *Carbohydrate Polymers*, 38(4), 337-347. https://doi.org/10.1016/S0144-8617(98)00125-8

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.

SES. (2014). Standard Evaluation System for Rice. Edition 5. International Rice Research Institute (IRRI), Philippines. 57 Pages.

Sun, S.Y., Hao, W., & Lin, H.X. (2006). Identification of QTLs for cooking and eating quality of rice grain. *Rice Science*, 13(3), 161-169.

Syahariza, Z.A., Sar, S., Hasjim, J., Tizzotti, M.J., & Gilbert, R.G. (2013). The importance of amylose and amylopectin fine structure for starch digestibility in cooked rice grains. *Food Chemistry*, 136, 742-749. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.053

Tabkhkar, N., Rabiei, B., & Sabouri, A. (2012). Genetic diversity of rice cultivars by microsatellite markers tightly linked to cooking and eating quality. *Australian Journal of Crop Science*, 6(6), 980-985.

Temnykh, S., Park, W.D., Ayres, N., Cartinhour, S., Hauck, N., Lipovich, L., Cho, Y.G., Ishii T., & McCouch, S.R. (2000). Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 697-712. https://doi.org/10.1007/s001220051342

Tian, R., Jiang, G.H., Shen, L.H., Wang, L.Q., & He, Y.Q. (2005). Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population. *Molecular Breeding*, 15, 117-124. https://doi.org/10.1007/s11032-004-3270-z

Tong, C., Chen, Y., Tang, F., Xu, F., Huang, Y., Chen, H., & Bao, J.S. (2014). Genetic diversity of amylose content and RVA pasting parameters in 20 rice accessions grown in Hainan, China. *Food Chemistry*, 161, 239-245. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.011

Traore, K., McClung, A.M., Chen, M.H., & Fjellstrom, R. (2011). Inheritance of flour paste viscosity is associated with a rice *Waxy* gene exon 10 SNP marker. *Journal of Cereal Science*, 53(1), 37-44. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.009

Wada, T., Uchimura, Y., Ogata, T., Tsubone, M., & Matsue, Y. (2006). Mapping of QTLs for physicochemical properties in Japonica rice. *Breeding Science*, 56, 253-260. https://doi.org/10.1270/jsbbs.56.253

Wang, L.Q., Liu, W.J., Xu, Y., He, Y.Q., Luo, L.J., Xing, Y.Z., Xu, C.G., & Zhang, Q. (2007) . Genetic basis of 17 traits and viscosity parameters characterizing the eating and cooking quality of rice grain. *Theoretical and Applied Genetics*, 115, 463-476. https://doi.org/10.1007/s00122-007-0580-7

Xu, F., Sun, C., Huang, Y., Chen, Y., Tong, C., & Bao, J. (2015). QTL mapping for rice grain quality: a strategy to detect more QTLs within sub-populations. *Molecular Breeding*, 35, 105. https://doi.org/10.1007/s11032-015-0296-3

Zhan, Y., Lu, Z., Liu, W., Wang, S., Chen, T., He, Y., Yang, W., Zhang, L., & He, X. (2026). QTL mapping for RVA profile characteristics in a recombinant inbred line population derived from high-harvest-index Yuexiangzhan Rice. *Plants*, 15(6), 880. https://doi.org/10.3390/plants15060880

Zhang, Q.F., Zhang, Y.D., Zhu, Z., Zhao, L., Zhao, Q.Y., Xu, L., & Wang, C.L. (2008). Inheritance analysis and QTL mapping of rice starch viscosity (rapid visco analyzer profile) characteristics. Rice Science, 15(3), 186-194. https://doi.org/10.1016/S1672-6308(08)60041-4

Zhao, L., Zhao, C., Zhou, L., Zhao, Q., Zhu, Z., Chen, T., Yao, S., Zhang, Y., & Wang, C. (2021). QTL mapping for starch paste viscosity of rice (*Oryza sativa* L.) using chromosome segment substitution lines derived from two sequenced cultivars with the same *Wx* allele. *BMC Genomics*, 22, 596. https://doi.org/10.1186/s12864-021-07913-7

Zhou, J., You, A., Zhu, L., & He, G. (2012). Association analysis of important agronomic traits in Japonica rice germplasm. *African Journal of Biotechnology*, 12, 2956-2970. https://doi.org/10.5897/AJB11.1912