

بررسی ژنوتیپ‌های برنج ایرانی و خارجی از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی دانه و نشانگرهای ریزماهوره

هانیه بابائی رئوف^۱، عاطفه صبوری^{۱*}، مهرداد اله‌قلی پور^۲

۱. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار ژنتیک و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲. استادیار پژوهش موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۹/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۵/۰۲)

چکیده

بهبود خصوصیات پخت و خوراک برنج، یکی از مهمترین اهداف برنامه‌های به‌نژادی برنج است. در این راستا داشتن اطلاعات کافی از تنوع ژنتیکی به‌منظور انتخاب والدین مناسب ضروری است. در مطالعه حاضر تعداد ۵۳ ژنوتیپ برنج ایرانی و خارجی از لحاظ ویژگی‌های کیفی دانه شامل طول، عرض، شکل دانه، میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن، خصوصیات چسبندگی و همچنین با استفاده از پنج ژن و تعداد ۲۰ نشانگر ریزماهوره مرتبط با صفات فیزیکوشیمیایی دانه برنج، مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها به سه گروه تقسیم شدند. تعداد ۱۳ ژنوتیپ بومی به‌همراه ۱۰ ژنوتیپ خارجی در گروه آمیلوز متوسط با خصوصیات چسبندگی در محدوده قابل قبول (برای ژنوتیپ‌هایی با کیفیت پخت و خوراک مناسب) قرار گرفتند و ۱۳ ژنوتیپ خارجی به‌همراه هشت ژنوتیپ ایرانی در گروه با میزان آمیلوز بالا قرار داشتند. همچنین تجزیه داده‌های مولکولی نشان داد که نشانگرهای ریزماهوره به‌همراه ژن‌های مورد استفاده قادرند به نحو مطلوبی ژنوتیپ‌های خارجی و ایرانی و همچنین تا حدی ژنوتیپ‌ها را از لحاظ کیفیت دانه تفکیک نمایند. نتایج بیانگر وجود تنوع قابل توجه در بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ کیفیت دانه و نواحی ژنومی مورد مطالعه بود که می‌توان از آن برای بهبود صفات کیفی بهره برد.

واژه‌های کلیدی: برنج ایرانی، تجزیه خوشه‌ای، کیفیت پخت و خوراک و نشانگرهای ریزماهوره.

Evaluation of Iranian and Foreign Rice Genotypes Based on Grain Physicochemical Properties and Microsatellite Markers

Haniyeh Babaei Raouf¹, Atefeh Sabouri^{1*}, Mehrzad Allahgholipour²

1: MSc student and Associate Professor Dep. of Genetic and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan respectively. 2: Research Assist. Prof. of, Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran (Received November 28, 2017 – Accepted, July 24, 2018)

ABSTRACT

Improving rice cooking and eating properties is one of the most important goals in rice breeding programs. Having enough knowledge around genetic diversity for selecting suitable parents is necessary for these goals. In this study, 53 Iranian and foreign rice genotypes were studied in terms of grain qualitative properties including length, width, length to width ratio, amylose content, gelatinization temperature and pasting properties, as well as five genes and 20 microsatellite markers related to rice grain physicochemical traits. According to the results of cluster analysis, genotypes were divided into three groups. Thirteen of native rice genotypes, as well as 10 foreign genotypes were in intermediate amylose group with pasting properties in the range of genotypes with good cooking and eating quality and eight improved Iranian cultivars and 13 foreign genotypes were in high amylose group. Also, the results of the molecular analysis indicated, microsatellite markers and used genes can be able to distinguish Iranian and foreign genotypes and also distinguish genotypes according to their grain quality partly. The results indicated a significant variation among genotypes according to grain quality and genomic regions associated with these traits, which can be used for improving these traits in breeding programs.

Keywords: Iranian Rice, cluster analysis, cooking and eating quality, microsatellite markers

* Corresponding author E-mail: a.sabouri@guilan.ac.ir

مقدمه

برنج یکی از غلات مهم و غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت جهان می‌باشد و حدود ۲۰ درصد از کالری روزانه، ۱۴ درصد از پروتئین و دو درصد از چربی جمعیت جهان را تأمین می‌کند (Kennedy & Burlingam., 2003). با توجه به افزایش جمعیت جهان و افزایش تقاضا برای غذا، افزایش عملکرد دانه و همچنین کیفیت دانه، اهمیت بالایی در کشاورزی پیدا می‌کند (Lee et al., 2015). در سطح جهانی بخش عمده‌ی برنج تولیدی (یعنی حدود ۵۵ درصد) از شالیزارهای غرقاب به‌دست می‌آید و ۷۵ درصد کل تولید را تشکیل می‌دهند (Bouman et al., 2002; Emam, 2003). به دلیل افزایش کمبود آب، نیاز به توسعه سیستم‌های جایگزین وجود دارد که نیاز کمتری به آب دارند. در سیستم کشت "برنج‌های هوازی" گیاه به زمین غیرغرقاب متحمل است و می‌تواند همانند برنج‌های آپلند در زمین‌های مرتفع رشد کند. این برنج‌ها کارایی مصرف آب بالایی دارند اما از لحاظ عملکرد با برنج‌های غرقابی متفاوت می‌باشند (Bouman et al., 2002). بررسی و ارزیابی این سیستم می‌تواند به‌عنوان یک راهکار برای مقابله با کمبود آب در کشور مورد توجه قرار گیرد. اما نکته قابل توجه، بررسی کیفیت دانه این ارقام در مقایسه با ارقام ایرانی است. کیفیت دانه یک معیار مهم در تولید برنج و یک عامل مهم در بازاریابی برنج است. تعریف کیفیت دانه در میان کشورها و یا مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت است (Juliano et al., 1964). برای مثال ذائقه ایرانی بیشتر برنج‌های معطر با طول دانه بلند و عرض کم را ترجیح می‌دهد (Sabouri et al., 2015). ویژگی‌های اصلی تعیین‌کننده کیفیت دانه در برنج شامل کیفیت ظاهری مانند طول، عرض و نسبت طول به عرض دانه، کیفیت تبدیل از قبیل درصد برنج سالم و خرد، کیفیت پخت و خوراک شامل مقدار آمیلوز، قوام ژل و دمای ژلاتینی شدن آندوسپرم دانه برنج و کیفیت ارزش غذایی مانند میزان پروتئین می‌باشد (Juliano, 1971, Virmani et al., 2003). میزان آمیلوز به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر کیفیت پخت و

خوراک می‌باشد و با سفت و سخت بودن دانه ارتباط مثبت و با نرمی و چسبندگی دانه همبستگی منفی دارد. برنج‌های با میزان آمیلوز متوسط در بیشتر نواحی تولیدکننده برنج در سرتاسر دنیا ترجیح داده می‌شوند (Hossain et al., 2009; Tian et al., 2009). با این حال میزان آمیلوز به‌تنهایی نمی‌تواند تمام تغییرات مربوط به کیفیت پخت و خوراک را توجیه کند، بسیاری از ارقام با میزان آمیلوز یکسان دارای کیفیت پخت و خوراک متفاوتی هستند. خصوصیات چسبندگی یا ویسکوزیته نشاسته دانه برنج یک فاکتور مهم تاثیرگذار بر روی کیفیت پخت و خوراک است و توسط هفت خصوصیت مهم شامل حداکثر چسبندگی، حداقل چسبندگی، پس‌روی چسبندگی، قوام چسبندگی و دمای چسبندگی ارزیابی می‌شود (Walker & Allahgholipour et al., 1996). Hazelton., 2010). در مطالعه‌ای ۱۲ رقم برنج را که از نظر میزان آمیلوز، درجه حرارت ژلاتینی شدن، قوام ژل و میزان پروتئین مشابه بودند، اما کیفیت پخت متفاوتی داشتند انتخاب کردند و دریافتند که بین ارقام محلی و اصلاح‌شده تفاوت بسیار معنی‌داری از نظر خصوصیات چسبندگی وجود دارد. تنوع ژنتیکی اساس و پایه کار اصلاح نباتات است، یک به‌نژادگر در صورتی می‌تواند به موفقیت چشم‌گیری در برنامه به‌نژادی خود دست یابد که تنوع کافی در مواد گیاهی او وجود داشته باشد (Allahgholipour et al., 2005). به همین دلیل آگاهی از ساختار ژنتیکی ارقام گیاهی یک اصل مهم در برنامه‌های به‌نژادی گیاهان بوده و می‌تواند خط-مشی صحیحی برای انتخاب ارقام مناسب از بین جمعیت‌های به‌نژادی موجود فراهم نماید (Mohammadi & Prasana, 2003). تکنولوژی نشانگرهای مولکولی، به درک اساس ژنتیکی صفات کمی پیچیده همچون کیفیت خوراک در برنج کمک کرده است (McCouch et al., 2002). Garcia et al., (2011)، به‌منظور به‌دست آوردن دمای ژلاتینی شدن، میزان آمیلوز و تجزیه و تحلیل حسی برای تعیین کیفیت پخت دانه‌های برنج در دو سیستم متفاوت پنج

۱۳۹۴ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی کشت شد و بذور مورد نیاز برای آزمایش حاضر تهیه گردیدند. اسامی و اطلاعات مواد گیاهی مورد ارزیابی، در جدول ۱ آورده شده است. برای انجام آزمایش‌های کیفی، دانه‌ها بعد از کاهش رطوبت به ۱۳ درصد، با استفاده از دستگاه پوست‌کن به برنج قهوه‌ای و سپس به برنج سفید تبدیل و مقداری از این برنج سفید، برای اندازه‌گیری برخی صفات شامل آمیلوز و خصوصیات چسبندگی آسیاب شدند. برای تعیین میزان آمیلوز از روش (Juliano, 1971) و از دستگاه اسپکتروفتومتری و برای اندازه‌گیری دمای ژلاتینی‌شدن از روش (Little *et al.*, 1958) استفاده شد. برای اندازه‌گیری خصوصیات مرتبط با چسبندگی شامل حداکثر چسبندگی (PV)، فروریختگی (BD)، چسبندگی نهایی (FV)، پس‌روی چسبندگی (SB) و سایر خصوصیات چسبندگی، سه گرم از آرد برنج سفید و ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر درون استوانه فلزی دستگاه ریپید ویسکو آنالایزر (RVA-3D Model Newport Scientific, Sydney Australia) قرار داده شد و خصوصیات چسبندگی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (American Association of Cereal Chemists, 1995). همچنین برای اندازه‌گیری طول، عرض و شکل دانه از ۱۰۰ عدد بذر تصادفی استفاده شد. از میانگین مشاهدات، جهت انجام تجزیه‌های آماری شامل تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. در این تجزیه از روش‌های مختلف از جمله UPGMA، Ward و... با استفاده از نرم‌افزار SPSS استفاده شد و در نهایت نتیجه‌گیری و تفسیر دندوگرام به روش Ward انجام شد. ضرایب همبستگی صفات نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS محاسبه شد. استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های برگ‌ی تازه، بر اساس روش (Saghai Maroof *et al.*, 1994) انجام و کمیت و کیفیت نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد. پیش از انجام واکنش PCR، تمامی نمونه‌ها تا غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند و تکثیر DNA از طریق واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت BIO RAD انجام شد (Raiesi *et al.*, 2015). برای انجام این کار یکسری

رقم برنج غرقابی و پنج رقم برنج هوازی را در برزیل، مورد مطالعه قرار دادند. کلیه ارقام هوازی و دو رقم از ارقام غرقابی میزان آمیلوز متوسط را نشان دادند. ارقام غرقابی چسبندگی پایین را نشان دادند و نرم‌تر از ارقام هوازی بودند. ارقام هوازی مشخصات مشابهی در منحنی ویسکوآمیلوگراف نشان دادند. اما حداکثر چسبندگی بالایی برای سه رقم از ارقام غرقابی مشاهده گردید. در کل ویژگی‌های متفاوتی بین ارقام هوازی و غرقابی با تجزیه کلاستر مشاهده شد. عمده ارقام هوازی دانه‌های نرم و شل با کیفیت پخت مناسب تأییدشده توسط آزمون‌های حسی را نشان دادند. بیشتر ارقام غرقابی نیز دانه‌های نرم و چسبنده ارائه نمودند. Pang *et al.* (2016)، یک مجموعه ۷۸۷ تایی از لاین‌های برنج غیرواکسی (شامل ۱۱۶ هیبرید و ۶۷۱ اینبرد) را از لحاظ میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات چسبندگی نشاسته برنج در جهت اصلاح ارقام با کیفیت بهتر برنج مورد بررسی قرار دادند. آنها بیان کردند که شناسایی ارقامی که دارای آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات چسبندگی مشابه با انواع برنج‌های با کیفیت بالا می‌باشند می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی جالب برای اصلاح ارقام با کیفیت بالا مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به اهمیت صفات مرتبط با کیفیت دانه در برنج، تحقیق حاضر با هدف بررسی تنوع ژنوتیپ‌های برنج ایرانی و خارجی شامل ارقام هوازی از لحاظ مؤلفه‌های کیفیت دانه و همچنین ژن‌ها و نشانگرهای کاندیدای مرتبط با این صفات طرح‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد ارزیابی شامل ۵۳ ژنوتیپ برنج شامل ۳۱ ژنوتیپ خارجی از جمله تعدادی ژنوتیپ هوازی و ۲۲ ژنوتیپ ایرانی بود که بذور اولیه آنها به‌ترتیب از مؤسسه تحقیقات بین‌المللی برنج در فیلیپین (IRRI) و مؤسسه تحقیقات برنج کشور در رشت تهیه شد. این بذور در مزرعه پژوهشی واقع در بخش سنگر شهرستان رشت با مختصات جغرافیایی طول شرقی ۴۹ درجه و ۴۳ دقیقه و ۵۷ ثانیه و عرض شمالی ۳۷ درجه و ۹ دقیقه و ۵۰ ثانیه در بهار و تابستان سال

نشانگرها و ژن‌های مرتبط با کیفیت ظاهری و پخت و تعیین توالی‌شان از منابع، توسط شرکت Shanghai Genaray Biotech سنتز شدند. خوراک انتخاب گردیدند (جدول ۲). نشانگرها پس از

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه

Table 1. Specifications of the studied rice genotypes

NO	name	Parentage or Origin	NO	name	Parentage or Origin
1	Palawan	Unknown	28	IR 83752-B-B-12-3	IR 71524-44-1-1/2*UPL RI 7
2	IR66417-18-1-1-1	IRRI	29	Panda	India
3	IR71525-19-1-1	IRRI	30	Vandana	C 22/Kalakeri
4	IR60080-46A	IRRI	31	NonaBokra	India
5	IR65907-116-1-B	IRRI	32	Ghasrodashti	Iran(native)
6	IRAT170	IRRI	33	Sangetarom	Iran(native)
7	Caiapo	IRAT13/B.CAMPO//CNAX104/PEROLA	34	Sange jo	Iran(native)
8	Pegaso	Unknown	35	Rashti sard	Iran(native)
9	IRAT216	Colombia 1/M 312 A-74-2-8-8	36	Shahpasand	Iran(native)
10	IR 81024-B-254-1-B	IRRI 143/IR 71525-19-1-1	37	Anbarbou	Iran(native)
11	IR 81422-B-B-200-4	IR 74371-3-1-1/IR 64	38	Salari	Iran(improved)
12	IR 82310-B-B-67-2	IR 74371-46-1-1/2*IR 64	39	Neda	Iran(native)
13	IR 82590-B-B-32-2	CAUDH 1/IR 74371-54-1-1	40	Ahlamitarom	Iran(native)
14	IR 82616-B-B-64-3	IR 71524-44-1-1/IR 76569-259-1-2-1	41	Alikazemi	Iran(improved)
15	IR 82635-B-B-82-2	IR 78875-176-B-2/IR 78875-207-B-3	42	Khazar	Iran(native)
16	IR 82639-B-B-103-4	IR 78875-176-B-2/IR 78908-143-B-4	43	Hashemi	Iran(native)
17	IR 82639-B-B-118-3	IR 78875-176-B-2/IR 78908-143-B-4	44	Champaboudar	Iran(native)
18	IR 82639-B-B-140-1	IR 78875-176-B-2/IR 78908-143-B-4	45	Gharib	Iran(native)
19	IR 83749-B-B-46-1	IR 71524-44-1-1/2*IR 74371-54-1-1	46	Domsiyah	Iran(improved)
20	IR 82589-B-B-114-3	IRRI 132/IR 74371-54-1-1	47	Sepidroud	Iran(improved)
21	IR 82589-B-B-84-3	IRRI 132/IR 74371-54-1-1	48	Kadous	Iran(improved)
22	IR 82590-B-B-90-4	CAUDH 1/IR 74371-54-1-1	49	Dorfak	Iran(improved)
23	IR 82590-B-B-94-4	CAUDH 1/IR 74371-54-1-1	50	Gohar	Iran(native)
24	IR 82590-B-B-98-2	CAUDH 1/IR 74371-54-1-1	51	Hasansarai	Iran(improved)
25	IR 82635-B-B-143-1	IR 78875-176-B-2/IR 78875-207-B-3	52	Nemat	Iran(native)
26	IR 82635-B-B-32-4	IR 78875-176-B-2/IR 78875-207-B-3	53	Sadri	Iran(native)
27	IR 83749-B-B-87-3	IR 71524-44-1-1/2*IR 74371-54-1-1			

واسرشته‌ساز ۶ درصد انجام و سپس ژل‌ها به‌روش نیترات‌نقره (Sanguinetti *et al.*, 1994) رنگ‌آمیزی و

تفکیک نوارهای تک‌ثیری در دستگاه الکتروفورز عمودی با استفاده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید

توجه به لدر (Ladder) امتیازدهی شد. تجزیه خوشه‌ای داده‌های مربوط به نشانگرهای SSR و ژن‌ها با ضرایب شباهت مختلف و روش‌های مختلف با استفاده از نرم-افزار Power Marker انجام شد و در نهایت بهترین دندروگرام که بر اساس ضریب شباهت Nei و الگوریتم اتصال همسایگی (NJ) بود مورد تفسیر قرار گرفت.

عکس‌برداری شدند. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای آغازگرهای ژن‌های *AGPase-Sa* و *GS3* به ترتیب توسط آنزیم برشی *PstI* و *EcoRV* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت هضم و سپس فرآورده‌های هضم‌شده در ژل پلی‌اکریل‌امید ۶٪ جداسازی شدند. الگوهای نواری حاصل از الکتروفورز محصولات PCR، با در نظر گرفتن وزن مولکولی‌شان با

جدول ۲- مشخصات نشانگرهای ریزماهواره پیوسته با QTLها یا ژن‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت در برنج

Table 2. Characteristics of microsatellite markers linked to QTLs or Genes controlling traits associated with qualify in rice

Number	name	Annealing temperature	Forward sequence	Reverse sequence	Reference
1	RM587	55	ACGCGAACAAATTAACAGCC	CTTTGCTACCAGTAGATCCAGC	Cho <i>et al.</i> , 2013
2	RM3370	55	GTGTCTTAGAGCATATAACG	AAATCTTGAAAAATTCCTTCT	Cho <i>et al.</i> , 2014
3	RM217	55	ATCGCAGCAATGCCTCGT	GGGTGTGAACAAAGACAC	Mia <i>et al.</i> , 2015
4	RM589	55	ATCATGGTCGGTGGCTTAAC	CAGGTTCCAACCAGACACTG	Cho <i>et al.</i> , 2013
5	RM529	55	CCCTCCCTTCTGTAAGCTCC	GAAGAACAATGGGGTTCTGG	Sighng <i>et al.</i> , 2014
6	RM5642	55	CCGTTTGATGTAAGTACAG	AGAGAGAGAACTATTCGATG	Cho <i>et al.</i> , 2013
7	RM484	55	TCTCCCTCTCACCAATTGTC	TGCTGCCCTCTCTCTCTCTC	Cho <i>et al.</i> , 2014
8	RM333	55	GTACGACTACGAGTGTCAACAA	GTCTTCGCGATCACTCGC	Onaga <i>et al.</i> , 2013
9	RM5558	55	GCTGACTTCACACTGCGATC	GGCCACTTCCAACATCAG	Cho <i>et al.</i> , 2013
10	RM1161	55	AAACTGTTTACCCTGGGCC	ATCCCTTCTGCGGTAAC	Cho <i>et al.</i> , 2013
11	RM3498	55	GTGAAAGTCGGTGACGATGG	ACTTAGGGGATCAGGGGATG	Cho <i>et al.</i> , 2013
12	RM6349	50	CGTCCACTCGTGACAATGAC	TGATCTCCTCCTCCTCCTC	Cho <i>et al.</i> , 2014
13	RM1375	50	CTACACGCGAAACTCTGTG	ATGAAGTCTAGGCTGCACC	Cho <i>et al.</i> , 2013
14	RM1300	55	CAGCCATGAATGTTGGCTAC	GCCATGTCATTATGGTGC	Cho <i>et al.</i> , 2014
15	RM8215	55	GTTCTCCCTCATGACACAG	TAGAGACTTTATATTGGTGTGC	Cho <i>et al.</i> , 2014
16	RM1302	55	TCTTCCCTGAACGTGAAG	CCTTCTCCCAACATCTCG	Cho <i>et al.</i> , 2014
17	GS3	50	TATTTATTGGCTTGATTCTGTG	GCTGGTTTTTACTTTCAATTTGCC	Lee <i>et al.</i> , 2015
18	GS6	50	CTTCTCCCTTCCTTCCAC	TACTCTGTGGCCTCACC	Lee <i>et al.</i> , 2015
19	GW8/OsSPL16	50	CCAAGAAAAGCGACACCAGT	GCATCTTGAGATCCCCTCC	Lee <i>et al.</i> , 2015
20	AGPase-Sa	50	ATGTAAACTGTTAGAATCGAAGA	CAAGATCTATGTGCTGACACAAT	Mo <i>et al.</i> , 2014
21	GBSSI (Wx)	50	TGCAGAGATCTCCACAGCA	GCTGGTCGTACGCTGAG	Mo <i>et al.</i> , 2014
22	RM190	55	CTTTGTCTATCTCAAGACAC	TTGCAGATGTTCTTCTGTATG	Borba <i>et al.</i> , 2010
23	RM270	55	GGCCGTTGGTTCTAAAAATC	TGCGCAGTATCATCGGCGAG	Cho <i>et al.</i> , 2014
24	RM276	55	CTCAACGTTGACACCTCGTG	TCTCCATCGAGCAGTATCA	Fan <i>et al.</i> , 2005
25	RM523	55	AAGGCATTGCAGCTAGAAGC	GCACTTGGGAGGTTTGCTAG	Cho <i>et al.</i> , 2013

نتایج و بحث

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات چسبندگی دانه:

ابتدا تجزیه خوشه‌ای بر اساس میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات چسبندگی با استفاده از روش حداقل واریانس Ward انجام شد و مناسب‌ترین محل برش برای دندروگرام مشخص گردید (شکل ۱). کلیه ژنوتیپ‌ها در سه گروه آمیلوز بالا، آمیلوز متوسط و آمیلوز پایین قرار گرفتند و صحت گروه‌بندی‌های حاصل توسط تجزیه تابع تشخیص ۱۰۰ درصد به دست آمد. برای هر کدام از گروه‌ها، میانگین و میزان انحراف از میانگین کل برای صفات مورد نظر محاسبه شد (جدول ۳). گروه اول دربرگیرنده ژنوتیپ‌هایی با میزان آمیلوز بالا (میانگین آمیلوز ۲۴/۷۳٪)، شامل ۲۱

ژنوتیپ، ۸ ژنوتیپ ایرانی و اصلاح‌شده و ۱۳ ژنوتیپ خارجی بودند. فروریختگی چسبندگی دانه در این ژنوتیپ‌ها پایین و در محدوده ۱/۵-۲۴/۷۵ RVU قرار داشت که نشان‌دهنده خشک‌شدن دانه‌های آنها پس از پخت می‌باشد. همچنین محدوده پس‌روی چسبندگی دانه بین ۱۴۵/۱۷-۱۶۰/۳۸ RVU بود که نشان‌دهنده پس‌روی چسبندگی دانه تقریباً بالا است که موجب سخت‌تر شدن دانه‌های برنج پس از پخت می‌شود. میزان چسبندگی نهایی دانه نیز بالا و بین ۲۱/۳۵-۴۲۰/۶۸ RVU به دست آمد (جدول ۳).

چسبندگی نهایی نشان‌دهنده تورم مجدد دانه‌های نشاسته طی فرآیند سرد و گرم‌شدن نمونه‌ها می‌باشد و با میزان آمیلوز رابطه مستقیم دارد (Allahgholipour *et al.*, 2006b). میزان چسبندگی

نهایی بالا موجب می‌شود دانه‌ها پس از پخت سفت شوند. بنابراین مطابق نتایج این پژوهش، به‌طور کلی ژنوتیپ‌های این گروه، از لحاظ شاخص‌های کیفیت شیمیایی دانه مطلوب و مناسب ذائقه ایرانی ارزیابی نشدند. از لحاظ کیفیت ظاهری دانه، میانگین طول، عرض و شکل دانه (نسبت طول به عرض دانه) در این گروه به‌ترتیب ۸/۲۲، ۲/۳۵ میلی‌متر و ۳/۵۹ بودند که در مقایسه با میانگین‌های کل، این گروه از لحاظ کیفیت ظاهری دانه تقریباً برابر یا کمی بالاتر از میانگین کل ژنوتیپ‌ها بودند (جدول ۳).

گروه دوم دارای میزان آمیلوز متوسط (میانگین آمیلوز ۲۱/۹۳٪) و ۲۳ ژنوتیپ، که شامل ۱۳ ژنوتیپ ایرانی دارای کیفیت خوراک خوب و ۱۰ ژنوتیپ خارجی بود (جدول ۳). فروریختگی چسبندگی در این ژنوتیپ‌ها ۸۲/۹۳-۵۸/۰۸ RVU به‌دست آمد که نشان‌دهنده میزان فروریختگی متوسط و تقریباً در محدوده گزارش شده برای ارقام دارای کیفیت مناسب، توسط Allahgholipour et al. (2010) می‌باشد. میزان چسبندگی نهایی در این ژنوتیپ‌ها بین ۲۳۵/۸۷-۳۲۶/۳۷ RVU بود که از نظر این شاخص نیز تقریباً در محدوده ارقام با کیفیت مناسب قرار داشتند. پس روی چسبندگی پایین‌تر از محدوده‌ی گزارش شده توسط Allahgholipour et al. (2010) و بین ۵۵/۳۴-۱۰۰/۵ RVU به‌دست آمد. پس روی چسبندگی پایین نشانه نرم‌ماندن دانه‌ها پس از پخت می‌باشد. می‌توان بیان نمود ارقام این گروه دارای کیفیت پخت و خوراک مناسبی می‌باشند و اکثر ارقام ایرانی در این گروه قرار گرفتند. از لحاظ کیفیت ظاهری دانه، میانگین طول، عرض و شکل دانه (نسبت طول به عرض دانه) این گروه به‌ترتیب ۷/۹۰، ۲/۳۵ میلی‌متر و ۳/۴۲ بود و در مجموع تقریباً برابر یا کمی کمتر از میانگین کل ژنوتیپ‌ها ارزیابی شدند. اما با بررسی دقیق‌تر ویژگی‌های اعضای این گروه، دو رقم ایرانی دمسیاه و هاشمی بترتیب با طول و عرض دانه ۸/۶۷، ۲/۱۰ و ۲/۱۶ و نسبت طول به عرض ۴/۱۸ و ۴/۰۴ به‌عنوان مطلوبترین ژنوتیپ‌ها هم از لحاظ کیفیت ظاهری و هم خصوصیات پخت و خوراک تعیین شدند. در بین

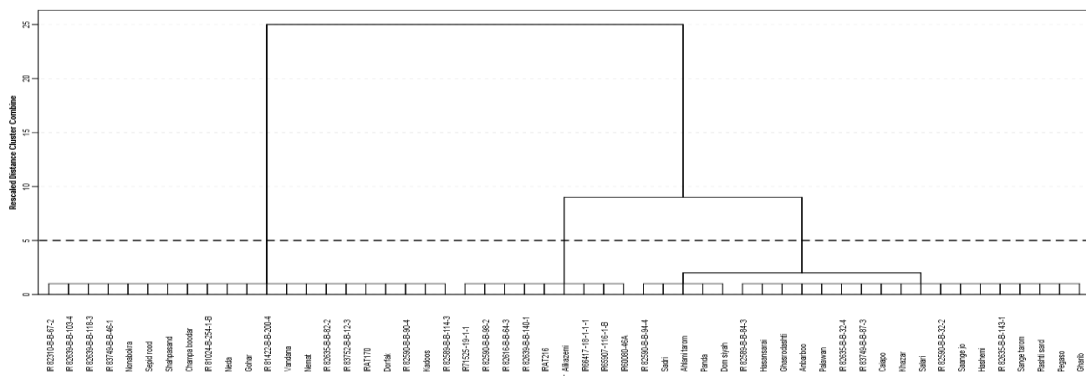
ژنوتیپ‌های خارجی موجود در این گروه نیز، ژنوتیپ هوازی IR 82590-B-B-32-2 به‌ترتیب با طول، عرض و نسبت طول به عرض ۸/۹۳، ۲/۰۹ میلی‌متر و ۴/۳۱ کیفیت ظاهر دانه مطلوبی داشت، اگرچه درصد آمیلوز این ژنوتیپ ۲۲/۸ و کمی بالاتر از میانگین گروه بود (جدول ۳). گروه سوم دارای ژنوتیپ‌های با میزان آمیلوز پایین دانه (میانگین آمیلوز ۱۷/۷۸٪) شامل ۹ ژنوتیپ، یک ژنوتیپ ایرانی و ۸ ژنوتیپ خارجی بود. فروریختگی چسبندگی دانه در این ارقام پایین و در حدود ۲۲/۲۵-۳۷/۸۸ RVU بوده و دارای چسبندگی نهایی پایین و در حدود ۱۶۸/۲۱-۲۱۴/۴۶ RVU بودند. همچنین پس‌روی چسبندگی آنها در محدوده ۲۶/۷۵-۴۲/۸۳ RVU قرار داشت که نشان‌دهنده‌ی پس‌روی بسیار پایین می‌باشد؛ بنابراین دانه این ژنوتیپ‌ها پس از پخت نرم‌تر و بسیار چسبنده‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها در گروه‌های آمیلوزی متوسط و بالا خواهد بود. میانگین متغیرهای مرتبط با کیفیت ظاهری دانه در این گروه نسبت به دو گروه دیگر به‌بازارپسندی مصرف‌کنندگان ایرانی نزدیک‌تر بود - طوری که میانگین طول دانه بلندتر و نسبت طول به عرض بیشتری نسبت به سایر گروه‌ها داشتند. میانگین این گروه برای سه متغیر طول، عرض و نسبت طول به عرض دانه به‌ترتیب ۸/۳۵ و ۲/۳۶ میلی‌متر و ۳/۶۲ به‌دست آمد (جدول ۳).

به‌طور کلی، ژنوتیپ‌های موجود در هر یک از گروه‌ها دارای قرابت بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر گروه‌ها می‌باشند، بنابراین می‌توان از ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های مختلف به‌منظور دورگ‌گیری برای استفاده در پدیده‌هایی مانند ایجاد هتروزیس و تفکیک متجاوز بهره برد. Yan et al. (2005) نیز ژنوتیپ‌های مختلف برنج را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای و بر اساس داده‌های حاصل از صفات کیفی در شش گروه متفاوت طبقه‌بندی نمودند. بین شاخص‌های ویسکوزیته ارزیابی شده، حداکثر چسبندگی (PV) حداکثر قدرت جذب آب توسط دانه‌های نشاسته را نشان می‌دهد. در اثر کاهش درجه حرارت، دانه‌های نشاسته متورم شده و به قطعات کوچکتر تبدیل می-

مقابل، ژنوتیپ‌هایی با کیفیت پخت و خوراک نا-مرغوب، معمولاً دارای میزان فروریختگی چسبندگی پایین و پسروری چسبندگی و چسبندگی نهایی بالا هستند (Yan *et al.*, 2005). این نشان می‌دهد که پارامترهای چسبندگی نشاسته، نقش مهمی را در ارزیابی کیفیت پخت و خوراک برنج بازی می‌کند.

دمای ژلاتینی‌شدن (GT) نیز با کیفیت پخت و خوراک برنج ارتباط دارد. GT با میزان زمان لازم برای پختن برنج رابطه مثبت دارد. ژنوتیپ‌های برنج با دمای ژلاتینی‌شدن بالا به آب و زمان پخت بیشتر از ژنوتیپ‌هایی با دمای ژلاتینی‌شدن متوسط و پایین نیاز دارند. دمای ژلاتینی‌شدن پایین یا متوسط یک خصوصیت مطلوب برای رقم برنج با کیفیت بالا است (Juliano Villened, 1993). Allahgholipour *et al.* (2006a) تعداد ۱۶۷ ژنوتیپ مختلف برنج را از نظر میزان آمیلوز و پارامترهای چسبندگی از طریق تجزیه خوشه‌ای مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های ژاپنی دارای کیفیت پخت خوب، دارای میزان آمیلوز کم، حداکثر چسبندگی و فروریختگی بالا و پسروری چسبندگی پایین می‌باشند. در مقابل ژنوتیپ‌های ایرانی مثل رقم صدری محلی که از نظر کیفیت پخت مناسب است، دارای میزان آمیلوز متوسط، پسروری چسبندگی متوسط و حداکثر چسبندگی و فروریختگی بالا می‌باشند.

شوند تا اینکه به حداقل چسبندگی (TV) خود برسند (Allahgholipour *et al.*, 2010). فروریختگی چسبندگی (BD)، تفاوت بین حداکثر چسبندگی (PV) و حداقل چسبندگی (TV) می‌باشد، که نشان‌دهنده درجه ثبات در طول پخت و پز است (Jiranuntakul *et al.*, 2011). فروریختگی چسبندگی به‌طور قابل‌توجهی با قوام ژل ارتباط دارد. به‌طور کلی یک فروریختگی بالا یک قوام ژل خوب را نشان می‌دهد (Han & Hamaker, 2001). میزان فروریختگی در تعیین کیفیت نهایی پخت برنج بسیار موثر می‌باشد و هرچه این میزان کمتر باشد نشان‌دهنده‌ی کیفیت نامناسب پخت می‌باشد (Allahgholipour *et al.*, 2010). در گروه دوم که ژنوتیپ‌هایی با میزان آمیلوز متوسط قرار داشتند مقدار فروریختگی متوسط بود که نشان‌دهنده قوام متوسط ژل می‌باشد. پسروری چسبندگی (SB) از اختلاف بین چسبندگی نهایی (FV) و حداکثر چسبندگی محاسبه می‌شود، که درجه انحطاط و یا سخت‌شدن نشاسته را پس از خنک‌کردن نشان می‌دهد. مقدار پسروری پایین به نرمی و کیفیت خوب برنج پخته‌شده مربوط می‌شود. ژنوتیپ‌هایی با کیفیت پخت و خوراک خوب معمولاً میزان فروریختگی چسبندگی بالا و پسروری چسبندگی و چسبندگی نهایی پایین دارند. این خصوصیات تقریباً در ژنوتیپ‌هایی با میزان آمیلوز متوسط در این مطالعه (گروه دوم) به‌خوبی قابل مشاهده می‌باشند. در



شکل ۱- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج براساس کیفیت ظاهری، میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و ویژگی‌های چسبندگی دانه به-روش حداقل واریانس Ward

Figure 1- Grouping of rice genotypes based on appearance quality, amylose content, gelatinisation temperature and grain pasting properties by Ward's minimum-variance method

جدول ۳- اعضای گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای همراه با میانگین و انحراف از میانگین کل

Table 3- The membership of groups derived from cluster analysis with mean and deviation from total mean

Cluster	Genotype	Trait	Mean	Deviation of total mean
۱	Nemat, IR 81422-B-B-200-4, Vandana, Neda, Gohar, Nonabokra, Sepidrood, Champa boodar, Shahpasand, IR 81024-B-254-1-B, IR 83749-B-B-46-1, IR 82639-B-B-118-3, IR 82310-B-B-67-2, IR 82639-B-B-103-4, IR 82635-B-B-82-2, IR 83752-B-B-12-3, IRAT170, Dorfak, IR 82590-B-B-90-4, Kadoos, IR 82589-B-B-114-3	AC (%)	24.73	2.39
		GT	5.97	0.78
		PV	236.06	14.65
		TV	216.82	40.12
		BD	19.23	-25.46
		FV	389.67	73.08
		SB	153.61	58.42
		COV	172.85	32.96
		Pt	6.07	0.021
		L(mm)	8.22	0.12
		W(mm)	2.35	0.00
		L/W	3.59	0.07
		۲	IR 82590-B-B-32-2, Salari, Caiapo, Khazar, IR 82635-B-B-32-4, IR 83749-B-B-87-3, Palawan, Ghasrodashti, Anbarboo, Hasansarai, Sange tarom, IR 82589-B-B-84-3, IR 82635-B-B-143-1, Rashti sard, Sange jo, Hashemi, Pegaso, Gharib, Sadri, Ahlami tarom, IR 82590-B-B-94-4, Dom siyah, Panda	AC (%)
GT	4.96			-0.21
PV	229.05			7.65
TV	154.87			-21.82
BD	74.18			29.47
FV	294.85			-21.74
SB	65.79			-29.39
COV	139.97			0.082
Pt	6.07			0.02
L(mm)	7.90			-0.20
W(mm)	2.35			0.00
L/W	3.42			-0.10
۳	IR 82639-B-B-140-1, IR 82590-B-B-98-2, IR71525-19-1-1, IR 82616-B-B-64-3, Alikazemi, IRAT216, IR66417-18-1-1-1, IR65907-116-1-B, IR60080-46A			AC (%)
		GT	3.88	-1.29
		PV	167.64	-53.75
		TV	138.85	-37.84
		BD	28.78	-15.91
		FV	201.62	-114.96
		SB	33.98	-61.20
		COV	62.77	-77.12
		Pt	5.94	-0.10
		L(mm)	8.35	0.25
		W(mm)	2.36	0.00
		L/W	3.62	0.10
		Total mean		AC (%)
GT	5.18			
PV	221.40			
TV	176.70			
BD	44.70			
FV	316.59			
SB	95.19			
COV	139.89			
Pt	6.05			
L(mm)	8.11			
W(mm)	2.35			
L/W	3.52			

AC: میزان آمیلوز، GT: دمای ژلاتینی شدن، PV: حداکثر چسبندگی، TV: حداقل چسبندگی، BD: فروریختگی چسبندگی، FV: چسبندگی نهایی، SB: پس‌روی چسبندگی، COV: قوام چسبندگی، Pt: زمان لازم برای رسیدن به حداکثر چسبندگی، L: طول دانه، W: عرض دانه، L/W: نسبت طول به عرض دانه.

AC: Amylose Content, GT: Gelatinization Temperature, PV: Peak Viscosity, TV: Trough Viscosity, BD: Breakdown, FV: Final Viscosity, SB: Setback, COV: Consistency Viscosity, Pt: Peak time, L: Length, W: Width, L/W: Length to Width ratio.

روی چسبندگی و صفت ثبات چسبندگی در مطالعه حاضر (جدول ۴) و سایر مطالعات مشاهده شد. برای مثال در مطالعات پیشین، صفت مدت‌زمان مورد نیاز برای رسیدن به حداکثر چسبندگی همواره دارای همبستگی مثبت با چسبندگی نهایی، پس‌روی

همبستگی بین شاخص‌های مرتبط با کیفیت به-طور گسترده در مطالعات محققان دیگر نیز بررسی گردیده است و تنها بعضی از این همبستگی‌ها در مطالعات مختلف از لحاظ شدت و جهت مشابه بودند. یکسری همبستگی‌های مثبت بین میزان آمیلوز، پس-

چسبندگی و ثبات چسبندگی بوده است؛ همچنین حداقل چسبندگی و چسبندگی نهایی همواره دارای ارتباط مثبت با یکدیگر بوده‌اند (Bao *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2008). همچنین بر اساس این مطالعات فروریختگی چسبندگی و پس‌روی چسبندگی دارای همبستگی منفی با یکدیگر می‌باشند و این ارتباط در مطالعه حاضر نیز به‌طور واضح مشاهده شد (جدول ۴). این همبستگی‌های پایدار در مطالعات متفاوت ممکن است به دلیل ارتباط فیزیکی‌شیمیایی قوی بین این صفات باشد که به‌نژادگران می‌توانند از اینها برای انتخاب در نسل‌های اصلاحی پیشرفته استفاده نمایند

جدول ۴- ضریب همبستگی پیرسون بین صفات مربوط به کیفیت پخت و خوراک دانه برنج

Table 4- Pearson correlation coefficient between traits related to rice grain cooking and eating quality

Traits	AC	GT	PV	TV	BD	FV	SB	COV
GT	0.668**							
PV	0.852**	0.563**						
TV	0.884**	0.621**	0.725**					
BD	-0.190	-0.178	0.220	0.513**				
FV	0.976**	0.651**	0.784**	0.924**	-0.331*			
SB	0.827**	0.555**	0.450**	0.838**	-0.626**	0.907**		
COV	0.923**	0.585**	0.727**	0.714**	-0.104	0.927**	0.841**	
Pt	0.239	0.215	0.213	0.121	0.095	0.16	0.086	0.175

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

AC: میزان آمیلوز، GT: دمای ژلاتینی شدن، PV: حداکثر چسبندگی، TV: حداقل چسبندگی، BD: فروریختگی چسبندگی، FV: چسبندگی نهایی، SB: پس‌روی چسبندگی، COV: قوام چسبندگی، Pt: زمان لازم برای رسیدن به حداکثر چسبندگی
AC: Amylose Content, GT: Gelatinization Temperature, PV: Peak Viscosity, TV: Trough Viscosity, BD: Breakdown, FV: Final Viscosity, SB: Setback, COV: Consistency Viscosity, Pt: Peak time.

در مقابل Sun *et al.* (2011) در مطالعه خود ضریب همبستگی بین پس‌روی چسبندگی و چسبندگی نهایی را ۰/۶۵ و ضریب همبستگی بین چسبندگی نهایی و ثبات چسبندگی را ۰/۵۹ گزارش کردند که به‌نظر می‌رسد با توجه به تعداد نمونه‌های کم مورد مطالعه آنها (هشت ژنوتیپ)، تایید صحت اعتبار نتایج آنها به تکرار بیشتر آزمایش با استفاده از تعداد ژنوتیپ‌های بیشتر نیاز دارد. عامل دیگر که ممکن است موجب ایجاد همبستگی‌های ناپایدار بین میزان آمیلوز و شاخص‌های چسبندگی گردد سطح آمیلوز در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد. برای مثال در مطالعه حاضر سطح آمیلوز بین ۱۶/۴ و ۲۷/۱ درصد بود و یک همبستگی مثبت معنی‌دار (r=۰/۸۸۴) بین میزان آمیلوز و حداقل چسبندگی وجود داشت که با یافته‌های پژوهشگران دیگر مطابقت دارد. (Wang *et al.*, 2007). در مطالعه Pang *et al.* (2016) نیز که سطح آمیلوز بین ۹ و ۳۴/۱ درصد بود در مطابقت با نتایج مطالعات ذکر شده، یک همبستگی مثبت بین میزان آمیلوز و حداقل چسبندگی (r=۰/۶۵) مشاهده شد. اما در مطالعه دیگر که توسط Chen *et al.* (2008) صورت گرفت سطح آمیلوز بین ۸ تا ۲۶ درصد متغیر بود و همبستگی منفی (r=-۰/۷۵) بین این دو صفت مشاهده گردید. در این پژوهش و در ارتباط با زمان لازم برای رسیدن به حداکثر

در مقابل Sun *et al.* (2011) در مطالعه خود ضریب همبستگی بین پس‌روی چسبندگی و چسبندگی نهایی را ۰/۶۵ و ضریب همبستگی بین چسبندگی نهایی و ثبات چسبندگی را ۰/۵۹ گزارش کردند که به‌نظر می‌رسد با توجه به تعداد نمونه‌های کم مورد مطالعه آنها (هشت ژنوتیپ)، تایید صحت اعتبار نتایج آنها به تکرار بیشتر آزمایش با استفاده از تعداد ژنوتیپ‌های بیشتر نیاز دارد. عامل دیگر که ممکن است موجب ایجاد همبستگی‌های ناپایدار بین میزان آمیلوز و شاخص‌های چسبندگی گردد سطح آمیلوز در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه می‌باشد. برای مثال در مطالعه حاضر سطح آمیلوز بین ۱۶/۴ و ۲۷/۱ درصد بود و یک همبستگی مثبت معنی‌دار (r=۰/۸۸۴) بین میزان آمیلوز و حداقل چسبندگی وجود داشت که با یافته‌های پژوهشگران دیگر مطابقت دارد. (Wang *et al.*, 2007). در مطالعه Pang *et al.* (2016) نیز که سطح آمیلوز بین ۹ و ۳۴/۱ درصد بود در مطابقت با نتایج مطالعات ذکر شده، یک همبستگی مثبت بین میزان آمیلوز و حداقل چسبندگی (r=۰/۶۵) مشاهده شد. اما در مطالعه دیگر که توسط Chen *et al.* (2008) صورت گرفت سطح آمیلوز بین ۸ تا ۲۶ درصد متغیر بود و همبستگی منفی (r=-۰/۷۵) بین این دو صفت مشاهده گردید. در این پژوهش و در ارتباط با زمان لازم برای رسیدن به حداکثر

رشتی سرد، علی کاظمی، اهلمی طارم، شاه‌پسند، عنبربو بود. در مطالعه Allahgholipour *et al.* (2010) نیز ارقام سنگ‌جو و هاشمی در یک گروه قرار گرفته بودند که نشان می‌دهد از لحاظ کیفیت دانه و نواحی ژنومی دخیل در کنترل این صفات، قرابت دارند. زیرگروه پنجم در این تقسیم‌بندی، شامل رقم قصرالدشتی و یک رقم برنج هوازی به نام IR 82635-B-B-32-4 بود. در این زیرگروه، رقم قصرالدشتی همانند آنچه در تجزیه کیفیت دانه نیز مشاهده شد، قرابت بالایی با رقم هوازی IR 82635-B-B-32-4 نشان داد. ژنوتیپ‌های خارجی نیز به دو زیرگروه تقسیم شدند. زیرگروه اول شامل ۱۸ ژنوتیپ خارجی همراه با رقم ایرانی سنگ‌طارم بود. رقم سنگ‌طارم و IR82635-B-B-143-1 مطابق با نتایج تجزیه کیفیت دانه، در کنار یکدیگر قرار گرفتند. همچنین بر اساس این تجزیه ژنوتیپ‌های دارای آمیلوز پایین، شامل برنج‌های هوازی IR82590-B-B-98-2 و IR82639-B-B-140-1 در فاصله کم و در یک زیرگروه قرار داشتند. زیرگروه دوم شامل ۱۲ ژنوتیپ خارجی و یک رقم اصلاح‌شده ایرانی (خزر) بود. قرار گرفتن ارقام اصلاح‌شده ایرانی در کنار ارقام خارجی می‌تواند به این دلیل باشد که عموماً ارقام اصلاح‌شده ایرانی از طریق دو رگ‌گیری بین ارقام بومی و ژنوتیپ‌های IRRI و یا گرینش ژرم‌پلاسم‌های IRRI ایجاد شده‌اند و این مشابهت ژنتیکی می‌تواند دلیلی بر قرارگیری آنها در یک گروه باشد (Tabkhkar *et al.*, 2011). مطابق تجزیه داده‌های کیفیت دانه، در این تقسیم‌بندی نیز، ژنوتیپ‌های آمیلوز پایین IR71525-19-1-1 و IR82616-B-B-64-3 در یک زیرگروه و در نزدیکی یکدیگر قرار گرفتند. ژنوتیپ‌های IRAT216 و IR66417-18-1-1-1 و IR65907-116-1-B نیز در هر دو تجزیه، در یک زیرگروه مشابه قرار گرفته‌اند. این نتایج بیانگر این واقعیت است که این نشانگرها و ژن‌های مورد استفاده که کاندیدای پیوستگی با نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت دانه هستند در ژنوتیپ‌های مورد استفاده در پژوهش حاضر نیز توانستند حداقل در بخشی از جمعیت این ارتباط

چسبندگی و صفت پس‌روی چسبندگی، همبستگی قابل‌توجهی ($r=+0.086$) مشاهده نشد (جدول ۴) که با نتایج پژوهش Wang *et al.* (2016) Pang *et al.* (2007) و Hsu *et al.* (2014) همخوانی داشت. همبستگی ضعیف بین صفت زمان لازم برای رسیدن به حداکثر چسبندگی و صفت پس‌روی چسبندگی ($r=+0.086$) نشان‌دهنده ارتباط فیزیکوشیمیایی کم بین این صفات است و ضریب همبستگی بین آنها در مطالعات مختلف متفاوت است. باید خاطر نشان نمود که دستیابی به نتایج مختلف در مطالعات متفاوت به ماهیت نمونه‌ها و اندازه آنها بستگی دارد و برای دستیابی به نتایج قابل‌اعتماد استفاده از اندازه مناسب نمونه از اهمیت زیادی برخوردار است. همچنین اندازه‌گیری این صفات در شرایط آب و هوایی متفاوت می‌تواند نتایج متفاوتی را ارائه دهد (Pang *et al.*, 2016).

گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس اطلاعات مولکولی

شکل ۲ دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای با نمایش تابشی ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه بر اساس اطلاعات ژن‌ها و نشانگرهای پیوسته به صفات مرتبط با کیفیت دانه در ژنوتیپ‌های آزمایشی برنج را نشان می‌دهد. این دندروگرام تفکیک مطلوبی را برای ژنوتیپ‌های خارجی و ایرانی نشان داد. در نگاه نخست کلیه ژنوتیپ‌ها به دو گروه بزرگ تقسیم شدند. سپس گروه دوم که بجز یک ژنوتیپ، سایر اعضای آن برنج‌های ایرانی بودند به پنج زیرگروه تقسیم شدند. زیرگروه اول شامل ارقام برنج اصلاح‌شده ایرانی (درفک، کادوس، سپیدرود، گوهر و نعمت) بود. در زیرگروه دوم یک عضو (رقم چمپابودار) قرار گرفت. ویژگی ارقام چمپا، گرد بودن دانه و کیفیت متوسط تا خوب آن پس از پخت می‌باشد و همچنین عملکرد نسبتاً بالایی نیز داشته و شاید به این دلیل در گروه جداگانه‌ای قرار گرفته است (Tabkhkar *et al.*, 2011). زیرگروه سوم شامل ارقام صدری، غریب، دم‌سیاه و حسن‌سرابی بود. این ارقام جزء ارقام خوش‌کیفیت‌اند که بعد از پخت نرم می‌مانند. زیرگروه چهارم شامل ارقام سالاری، ندا (اصلاح شده)، سنگ‌جو، هاشمی،

ژنوتیپ‌ها تفکیک نمایند. همچنین بر اساس اطلاعات مولکولی اکثر ژنوتیپ‌های برنج خارجی و ایرانی از هم جدا شدند و این امر توانایی این نشانگرها در تقسیم بندی ژنوتیپ‌های ایرانی و خارجی و تفاوت آنها از لحاظ این نواحی ژنومی را نشان می‌دهد.

را نشان دهند. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که نشانگرهای ریزماهوره توان بالایی در گروه بندی و تفکیک ژنوتیپ‌ها دارند (Ming *et al.*, 2010; Luan *et al.*, 2008). نتایج این تحقیق نشان داد نشانگرهای پیوسته با صفات مرتبط با کیفیت دانه به نحو قابل قبولی قادرند ژنوتیپ‌های با کیفیت دانه بالا را از سایر



شکل ۲- گروه بندی ژنوتیپ‌های برنج با استفاده از ضریب شباهت Nei و روش اتصال همسایگی (Neighbor Joining)
Figure 2- Grouping of rice genotypes using Nei similarity coefficient and Neighbor Joining method.

۲۴ ژنوتیپ برنج را که از لحاظ کیفیت دانه مطلوب بودند با استفاده از ۱۶۴ نشانگر ریزماهوره از طریق تجزیه خوشه‌ای با سطح تشابه ۴۰ درصد به سه گروه اصلی طبقه بندی نمودند و اظهار داشتند که نشانگرهای ریزماهوره به طبقه بندی این ارقام بر طبق زیرگونه‌هایشان کمک کرده است. Garcia *et al.* (2011) پنج ژنوتیپ برنج غرقابی و پنج ژنوتیپ برنج هوازی را در برزیل از لحاظ دمای ژلاتینی شدن، میزان آمیلوز و تجزیه و تحلیل حسی برای تعیین کیفیت پخت دانه‌های برنج مورد مطالعه قرار دادند و بر اساس

نتیجه گیری کلی

در مواد گیاهی مورد آزمایش، تنوع قابل توجهی بین ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه از لحاظ صفات چسبندگی دانه مشاهده شد که می‌توان از این تنوع برای اصلاح این صفات در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. Tabkhkar *et al.* (2011) ژنوتیپ‌های مختلف برنج را با استفاده از اطلاعات حاصل از نشانگرهای مرتبط با کیفیت دانه از جمله میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن و ... و با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در چهار گروه گروه بندی کردند. Lapitan *et al.* (2007)

ژنوتیپ‌ها انجام می‌دهند که تحت تأثیر محیط زیست و روش‌های مدیریتی قرار نمی‌گیرد. نتایج این پژوهش نشان داد بین ژنوتیپ‌های مختلف برنج ایرانی و خارجی از لحاظ کیفیت ظاهری، میزان آمیلوز و خصوصیات چسبندگی دانه تنوع قابل‌توجهی وجود دارد که می‌توان از آن در برنامه‌های مختلف به‌نژادی بهره‌برداری نمود. ارقام دم‌سیاه و هاشمی از لحاظ ویژگی‌های کیفیت دانه مطابق با ذائقه ایرانی، مطلوب-ترین ارقام ایرانی شناسایی شدند و در بین ژنوتیپ‌های هواز، ژنوتیپ IR 82590-B-B-32-2 برتر از سایرین شناسایی شد. نشانگرهای ریزماهواره کاندیدا و ژن‌های مرتبط با ویژگی‌های کیفیت دانه نیز تفکیک قابل-ملاحظه‌ای را در مواد گیاهی مورد آزمایش نشان دادند.

تجزیه خوشه‌ای در پژوهش آنها، در کل ویژگی‌های متفاوتی بین ژنوتیپ‌های هوازی و غرقابی مشاهده شد. با مقایسه کلی بین نتایج گروه‌بندی بر اساس متغیرهای کیفیت دانه و اطلاعات مولکولی در این پژوهش، هم‌خوانی نسبی مشاهده شد که با توجه به اینکه اطلاعات مولکولی بر اساس نواحی ژنومی مرتبط با کیفیت دانه بود، این نتیجه دور از انتظار نبود. عدم مشاهده هم‌خوانی کامل بین دو نوع گروه‌بندی در این مطالعه، می‌تواند به دلیل وجود اثر محیط بر بروز فنوتیپ‌های مورد بررسی یا حتی خطاهای آزمایشی باشد. Karhu *et al.* (1996) بیان کردند که یکی از دلایل تفاوت در گروه‌بندی می‌تواند تأثیر محیط زیست و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط باشد و نشانگرهای مولکولی مقایسه مستقیمی از تنوع ژنتیکی را در میان

REFERENCES

- Allahgholipour, M., Mohammad-Salehi, M. & Ebadi, A. A. (2005). Genetic variation and classification of cultivated rice. *Journal of Agricultural Science*, 35(4), 973-981. (In Farsi)
- Allahgholipour, M., Ali, A. J., T, Nagamine, T. & Kojima, Y. (2006a). Grouping of different rice varieties based on the amount of amylose and viscosity parameters. *Journal of Agriculture Science*, 37(1), 297-306. (In Farsi)
- Allahgholipour, M., Ali, A. J., Alinia, F., Nagamine, T. & Kojima, Y. (2006b). Relationship between rice grain amylose and pasting properties for breeding better quality rice varieties. *Plant Breed*, 125(4), 357-362.
- 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.) cultivars. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 12(2), 140-151. (In Farsi)
- American Association of Cereal Chemists. (1995). Determination of the pasting properties of rice with the rapid visco analyzer. AACC method 61-02. First approval. 10-26-94. Approved method of analysis. 9th edition. Amer. Assoc. Cereal Chem. St. Paul. MN.
- Bao, J., Shen, S., Sun, M. & Corke, H. (2006). Analysis of genotypic diversity in the starch physicochemical properties of nonwaxy rice: apparent amylose content, pasting viscosity and gel texture. *Starch-Stärke*, 58(6), 259-267.
- Borba, T. C. D. O., Brondani, R. P. V., Breseghello, F., Coelho, A. S. G., Mendonça, J. A., Rangel, P. H. N. & Brondani, C. (2010). Association mapping for yield and grain quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics and Molecular Biology*, 33(3), 515-524.
- Bouman, B. A. M., Xiaoguang, Y., Huaqi, W., Zhiming, W., Junfang, Z., Changgui, W. & Bin, C. (2002). Aerobic rice (Han Dao): a new way of growing rice in water-short areas. In: *Proceedings of 12th International Soil Conservation Organization Conference*, May. Tsinghua University Press, Beijing, China, pp. 175-181.
- Chen, M. H., Bergman, C. J., Pinson, S. R. & 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.
- Cho, Y.C., Suh, J.P., Yoon, M.R., Baek, M.K., Won, Y.J., Lee, J.H., Park, H.S., Baek, S.H. & Lee, J.H. (2013). QTL mapping for paste viscosity characteristics related to eating quality and QTL-NIL development in japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding and Biotechnology*, 1(4), 333-346.
- Cho, Y.C., Baek, M.K., Suh, J.P., Won, Y.J., Lee, J.H., Kim, J.J., Park, H.S., Kim, W.J., Kwon, S.W., Cho, Y.G. & Kim, B.K. (2014). QTL detection associated with eating quality based on palatability test in Japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding and Biotechnology*, 2(4), 342-353.
- Emam, E. (2003). *Cereal production* (2th ed.). Shiraz University Press. (In Farsi)

13. 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.
14. Garcia, D. M., Bassinello, P. Z., Ascheri, D. R. P., Ascheri, J. L. R., Trovo, J. B. & Cobucci, R. D. M. A. (2011). Cooking quality of upland and lowland rice characterized by different methods. *Food Science and Technology (Campinas)*, 31(2), 341-348.
15. Han, X. Z. & Hamaker, B. R. (2001). Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. *Journal of Cereal Science*, 34(3), 279-284.
16. Hossain, M. S., Singh, A. K. & Zaman, F. (2009). Cooking and eating characteristics of some newly identified inter sub-specific (*indica/japonica*) rice hybrids. *ScienceAsia*, 35(4), 320-325.
17. 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.
18. Jiranuntakul, W., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Puncha-Arnon, S. & Uttapap, D. (2011). Microstructural and physicochemical properties of heat-moisture treated waxy and normal starches. *Journal of Food Engineering*, 104(2), 246-258.
19. Juliano, B. O., Bautista, G. M., Lugay, J. C. & Reyes, A. C. (1964). Rice quality, studies on physicochemical properties of rice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 12(2), 131-138.
20. Juliano, B. O. (1971). A simplified assay for milled-rice amylose. *Cereal Science, Today*, 16, 334-360.
21. Juliano, B. O. & Villareal, C. P. (1993). *Grain quality evaluation of world rices*. Int. Rice Res. Inst.
22. Karhu, A., Hurme, P., Karjalainen, M., Karvonen, P., Kärkkäinen, K., Neale, D., & Savolainen, O. (1996). Do molecular markers reflect patterns of differentiation in adaptive traits of conifers?. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, 93(1), 215-221.
23. Kennedy, G. & Burlingame, B. (2003). Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. *Food Chemistry*, 80(4), 589-596.
24. Lapitan, V. C., Brar, D. S., Abe, T. & Redoña, E. D. (2007). Assessment of genetic diversity of Philippine rice cultivars carrying good quality traits using SSR markers. *Breeding Science*, 57(4), 263-270.
25. Lee, C. M., Park, J., Kim, B., Seo, J., Lee, G., Jang, S. & Koh, H. J. (2015). Influence of multi-gene allele combinations on grain size of rice and development of a regression equation model to predict grain parameters. *Rice*, 8(1), 33.
26. Little, R. R., HILDER, G. B. & Dawson, E. H. (1958). Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. *Cereal Chemistry*, 35(2), 111-126.
27. Luan, I., Wang, X., Long, W. B., Liu, Y. H., Tu, S. B., Zhao, Z. P., Kong, F. L. & Yu, M. Q. (2008). Microsatellite analysis of genetic variation and population genetic differentiation in autotetraploid and diploid rice. *Biochemical Genetics*, 46, 248-266.
28. McCouch, S.R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K.B., Clare, K., Walton, M., Fu, B., Maghirang, R., Li, Z., Xing, Y. and Zhang, Q. (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research*, 9(6), 199-207.
29. Mia, M.M., Rahman, S., Islam, M.M., Begum, S.N. & Hassan, L. (2015). Molecular characterization of rice genotypes for Zinc biosynthetic gene (s) using microsatellite simple sequence repeat (SSR) markers. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 1(2), 187-197.
30. Ming, H., Fang-Min, X., Li-Yun, C. H., Xiang-Qian, Z. H., Jojee, L. & Madonna, D. (2010). Comparative analysis of genetic diversity and structure in rice using ILP and SSR markers. *Rice Science*, 17 (4), 257-268.
31. Mohammadi, S. A. & Prasana, B. M. (2003). Analysis of genetic diversity in crop plants- Salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43, 1235-1248
32. Mo, Y. J., Jeung, J. U., Shin, W. C., Kim, K. Y., Ye, C., Redoña, E. D., & Kim, B. K. (2014). Effects of allelic variations in starch synthesis-related genes on grain quality traits of Korean nonglutinous rice varieties under different temperature conditions. *Breeding Science*, 64(2), 164-175.
33. Onaga, G., Egdane, J., Edema, R. & Abdelbagi, I. (2013). Morphological and genetic diversity analysis of rice accessions (*Oryza sativa* L.) differing in iron toxicity tolerance. *Journal Crop Science Biotechnology*, 16(1), 53-62.
34. Pang, Y., Ali, J., Wang, X., Franje, N. J., Revilla, J. E., Xu, J. & Li, Z. (2016). Relationship of rice grain amylose, gelatinization temperature and pasting properties for breeding better eating and cooking quality of rice varieties. *PLoS One*, 11(12), e0168483.

35. Raeisi, T. & Sabouri, A. (2015). Validation and association analysis of microsatellite markers related to drought and salinity tolerance in aerobic and Iranian rice under osmotic stress. *Crop Biotech*, 4(10), 57-72.
36. Sabouri, H., Dadras, A.R., Sabouri, A. & Katouzi, M. (2015). Molecular-genetic analysis of rice grain dimension in recombinant inbred lines of cross of Anbarbu × Sepidroud. *Agricultural Biotechnology Journal*, 7(2), 67-85.
37. Saghai Maroof, M. S., Biyashev, R. M., Yang, G. P., Zhang, Q. & Allard, R. W. (1994). Extraordinarily polymorphic microsatellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(12), 5466-5470.
38. Sanguinetti C. J., Dias Neto E. & Simpson, A. J. G. (1994). Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, 17, 915-919.
39. Singh, S.K., Sharma, S., Koutu, G.K., Mishra, D.K., Singh, P., Prakash, V., Kumar, V. and Namita, P. (2014). Genetic diversity in NPT Lines derived from indica× japonica sub-species crosses of Rice (*Oryza sativa* L.) using SSR Markers. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*. 4(3). 121-132.
40. Sun, M. M., Abdula, S. E., Lee, H. J., Cho, Y. C., Han, L. Z., Koh, H. J. & Cho, Y. G. (2011). Molecular aspect of good eating quality formation in japonica rice. *PloS one*, 6(4), e18385.
41. Tabkhkar, N., Rdbiei, B. & Sabouri, A. (2011). Evaluation of allelic frequency and polymorphism of continuous microsatellite markers with gene quality controls in rice. *Journal of Iranian Crop Science*, 42(3), 495-507. (In Farsi)
42. Tian, Z., Qian, Q., Liu, Q., Yan, M., Liu, X., Yan, C., Liu, G., Gao, Z., Tang, S., Zeng, D. & Wang, Y. (2009). Allelic diversities in rice starch biosynthesis lead to a diverse array of rice eating and cooking qualities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(51), 21760-21765.
43. Virmani, S. S., Mao, C. X., & Hardy, B. (2003). Hybrid rice for food security, poverty alleviation, and environmental protection. *Int. Rice Res. Inst.*
44. Walker, C.E. & J.L. Hazelton. (1996). Applications of the rapid visco analyzer. *Newport Scientific Pty ltd*, Warriewood NSW, Australia. pp.122.
45. 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(4), 463-476.
46. 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(4), 105.
47. Yan, C.J., Li, X., Zhang, R., Sui, J.M., Liang, G.H., Shen, X.P., Gu, S.L. & Gu, M.H., (2005). Performance and inheritance of rice starch RVA profile characteristics. *Rice Science*, 12(1), 39-47.