

تجزیه QTL صفات مرتبط با کیفیت پخت و خوراک در جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب (F_۹) برنج

QTL analysis of traits related to rice (*Oryza sativa* L.) cooking and eating quality in a Recombinant Inbred Lines (RILs) population

لیلا بذرکارخطیبانی^{۱*}، براتعلی فاخری^۱، مریم حسینی چالشتری^۲، نفیسه مهدی‌نژاد^۱

۱- به ترتیب دانش‌آموخته دکتری، استاد، استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲- استادیار، پژوهش موسسه تحقیقات برنج کشور (سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت)

Bazrkar-Khatibani L^{1*}, Fakheri BA¹, Hosseini-Chaleshtori M², Mahdinejad N¹

- 1- Graduated PhD, Professor and Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Iran
- 2- Assistant Professor, Rice Research Institute of Iran (RRII), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Rasht

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: l_bazrkar2004@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۰۸ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۵)

چکیده

کیفیت پخت و خوراک برنج مسئله‌ای حیاتی در بازاریابی این محصول استراتژیک و اولویت اصلی مصرف‌کنندگان آن می‌باشد. در پژوهش حاضر، ۱۵۷ لاین اینبرد نوترکیب حاصل از تلاقی دو رقم ایرانی (علی کاظمی و کادوس) برای نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده ۹ صفت کمی مهم مورد استفاده قرار گرفتند. ارزیابی والدین با کمک ۳۰۰ نشانگر ریزماهواره واقع در نواحی کروموزومی مشخص انجام شد و یک نقشه ژنتیکی که ۱۲۱۳ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش می‌داد با به‌کارگیری ۶۵ نشانگر که در ارزیابی چندشکلی نشان دادند تشکیل شد. در مجموع شانزده QTL شامل دو QTL برای مقدار آمیلوز (AC)، یک QTL برای غلظت ژل (GC)، دو QTL برای درجه حرارت ژلاتینه شدن (GT)، دو QTL برای طول دانه پخته (CL)، یک QTL برای ویسکوزیته یا چسبندگی نشاسته (VI)، دو QTL برای میزان جذب آب (WA)، سه QTL برای انبساط حجمی (VE)، ۲ QTL برای نسبت ری آمدن (EL) و یک QTL برای مدت زمان پخت دانه برنج (CT) روی هفت گروه پیوستگی مختلف طی دو سال آزمایش شناسایی شد که می‌توانند به‌عنوان QTL‌های پایدار مورد توجه قرار گیرند. همچنین نتایج نشان داد که QTL‌های qac2، qve1، qve6، qgt6، qel3،4 و qct2 تحت تاثیر محیط قرار داشتند.

واژه‌های کلیدی

جمعیت اینبرد نوترکیب (RIL)
کیفیت پخت و خوراک
نشانگر ریزماهواره
QTL

QTL برای مقدار آمیلوز (AC)، ۲۲ QTL برای قوام ژل (GC) روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۶، ۷ و ۲۰ QTL برای درجه حرارت ژلاتینه‌شدن (GT) روی هر ۱۲ کروموزوم برنج به استثنای کروموزوم‌های ۳ و ۴ را نشان می‌دهد. دوازده QTL برای افزایش طول دانه پس از پخت یا همان نسبت ری آمدن (EL) روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۶، ۹ و ۱۱، پنج QTL برای ویسکوزیته (VI) روی کروموزوم‌های ۱، ۳ و ۶ در ارقام مختلف برنج گزارش شده‌است.

در برخی مطالعات مستقل QTL‌هایی برای صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج مشخص شده‌است (Bao 2014). با مطالعه یک جمعیت دابل هاپلوئید QTL‌های qGC-1، qGC-2، qGC-6، qAC-6، qGT-6، qWA-2، qWA-3، qWA-6، qCRE-2، qCRE-6، qVE-6 و qVE-11 برای مقدار آمیلوز، قوام ژل، درجه حرارت ژلاتینه‌شدن، نسبت ری آمدن و انبساط حجمی شناسایی شده است (Tian et al. 2005). در پژوهش دیگری گزارش شد که مقدار آمیلوز (AC) توسط ۴ QTL روی کروموزوم‌های ۳، ۶ و ۸، درجه حرارت ژلاتینه‌شدن (GT) توسط شش QTL روی کروموزوم‌های ۱-۳، ۶، ۸ و قوام ژل (GC) توسط دو QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۷ کنترل می‌شوند (Guo et al. 2007). در مطالعه‌ای روی جمعیت MAGIC¹ (F₆) یک QTL روی کروموزوم ۶ برای صفت AC، دو QTL روی کروموزوم‌های ۵ و ۶ برای صفت GC و یک QTL روی کروموزوم شماره ۶ برای صفت ویسکوزیته گزارش شد (Pronce et al. 2018). تاکنون برای صفات طول دانه پخته شده و مدت زمان پخت QTL گزارش نشده‌است.

QTL‌های پایدار و بزرگ‌اثر، برای بهبود خصوصیات کیفی دانه برنج از طریق برنامه اصلاحی انتخاب به‌کمک نشانگر مناسب می‌باشند (Bao 2014). متأسفانه اطلاعات ما در خصوص توارث این صفات در زمینه‌های ژنتیکی ایرانی محدود می‌باشد. Sabouri et al. (2012) با استفاده از یک جمعیت حاصل از تلاقی ارقام طارم محلی و خزر (F_{2:3}) تعداد چهار QTL برای مقدار آمیلوز، سه QTL برای درجه حرارت ژلاتینه‌شدن و یک QTL برای قوام ژل مکان‌یابی نمودند که هیچ‌یک از QTL‌های مرتبط با مقدار

بهبود کیفیت دانه برنج از مهم‌ترین دغدغه‌های بسیاری از کشورهای برنج‌خیز جهان به‌ویژه ایران می‌باشد. مردم ایران برنج‌هایی با سختی کمتر و برخوردار از آمیلوز متوسط را می‌پسندند لذا اصلاح برای کیفیت پخت و خوراک موضوع مهمی در ایران می‌باشد. این بخش از کیفیت برنج به‌شدت وابسته به برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی از قبیل مقدار آمیلوز، غلظت ژل، درجه حرارت ژلاتینه شدن و ویسکوزیته است. خصوصیات نشاسته نقش مهمی در تعیین کیفیت پخت و خوراک ایفا می‌کند که به‌شدت وابسته به بیان ژن‌های مرتبط با بیوستز نشاسته می‌باشد (Hosseini 2014).

بر اساس درصد آمیلوز، برنج به ۵ گروه طبقه‌بندی می‌شود. برنج‌های واکسی با ۲-۱ درصد آمیلوز، برنج‌های با درصد آمیلوز خیلی پایین (۱۲-۵ درصد)، برنج‌های با آمیلوز پایین (۲۰-۱۲ درصد)، برنج‌های با آمیلوز متوسط (۲۵-۲۰ درصد) و برنج‌های با آمیلوز بالا (بیش از ۲۵ درصد). غلظت ژل به‌عنوان پارامتری برای نشان دادن تمایل برنج پخته به سخت شدن در اثر کاهش دما است که به‌طور معمول در ۳ دسته سخت، متوسط و نرم دسته‌بندی می‌شود. ویسکوزیته خصوصیت مفید دیگری برای تمیز دادن برنج‌هایی با مقدار آمیلوز مشابه می‌باشد. حتی برنج‌های با مقدار آمیلوز مشابه به‌دلیل اثرات بالقوه ساختار آمیلوپکتین و سایر عوامل در کیفیت پخت و خوراک متفاوت می‌باشند. مکان ژنی wx روی کروموزوم شماره ۶، QTL اصلی شناسایی شده برای مقدار آمیلوز، غلظت ژل و ویسکوزیته است. کلونینگ مبتنی بر نقشه نشان می‌دهد ژن اصلی کنترل‌کننده درجه حرارت ژلاتینه شدن است (Bao 2014).

علاوه بر صفات توصیفی فوق، سایر پارامترها از قبیل جذب آب، انبساط حجمی و افزایش طول دانه پس از پخت، از خصوصیات مرتبط با کیفیت پخت برنج می‌باشند.

در زمینه شناخت مبانی ژنتیکی کیفیت پخت و خوراک برنج پیشرفت‌های زیادی صورت گرفته است. مطالعات متعدد بیانگر شناسایی QTL‌های مختلف برای خصوصیات کیفیت دانه برنج در جمعیت‌های متفاوت می‌باشند. آمار به‌دست آمده از پایگاه اطلاعاتی گرامینه (<http://www.gramene.org>) شناسایی ۵۱

¹ Multi-Parent Advanced Generation Intercross

برگ‌های ایستاده بوده و تا حدی دیررس است. درصد آمیلوز دانه در این رقم ۲۲/۷، غلظت ژل ۶۰، درجه حرارت ژلاتینه شدن آن ۳/۴ و عملکرد شلتوک آن ۶/۵-۷ تن در هکتار می‌باشد (Alizadeh and Zamani 2007). لاین‌های F₉ از خودباروری افراد نسل F₂ (حاصل از تلاقی والدین خالص و خودباروری افراد نسل F₁) به روش انتخاب تک بذری^۱ و بدون گزینش تا نسل F₉ به دست آمدند.

برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر، ابتدا دانه‌های شلتوک هر لاین جداگانه برداشت و پس از رسانیدن رطوبت شلتوک به ۱۴ درصد، عملیات پوست‌کنی طی دو مرحله (۱- تبدیل شلتوک به برنج قهوه‌ای ۲- تبدیل برنج قهوه‌ای به برنج سفید) انجام شد و صفات زیر اندازه‌گیری شدند:

طول دانه پخته با استفاده از دستگاه فتوانالارجر (Photo-Enlarger) بر اساس روش Lee et al. (2004) اندازه‌گیری شد. افزایش طول دانه پس از پخت (ری کردن دانه برنج) از تقسیم میانگین طول دانه پخته شده به میانگین طول دانه خام برنج بر اساس معادله زیر محاسبه شد.

$$EL = \text{میانگین طول شش دانه خام برنج} / \text{میانگین طول شش دانه پخته برنج} = EL$$

مقدار آمیلوز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری و بر اساس روش Perez and Juliano (1978) تعیین شد. غلظت ژل و درجه حرارت ژلاتینه شدن به ترتیب بر اساس روش Cagampang et al. (1973) و روش Little et al. (1958) اندازه‌گیری شد. خصوصیات مرتبط با چسبندگی با استفاده از دستگاه ریپید ویسکو آنالایزر (RVA-3D Model Newport Scientific, Sydney Australia) مورد تجزیه قرار گرفت. صفات مدت زمان لازم برای پخت هر لاین، میزان جذب آب و انبساط حجمی نیز بر اساس دستورالعمل ایری (IRRI) طبق روابط زیر اندازه‌گیری شد (Habibi 2013).

$$WA = \text{وزن نمونه برنج خام} - \text{وزن نمونه برنج پخته}$$

$$VE = \frac{\text{حجم برنج پخته}}{\text{حجم برنج خام}}$$

برای تهیه نقشه پیوستگی در جمعیت مورد مطالعه، در سال اول و در مرحله پنجه‌زنی از مخلوط نمونه‌های برگی حداقل ۱۰ بوته در

آمیلوز در ناحیه ژن مومی wx روی کروموزوم ۶ قرار نداشت. در مطالعه دیگری روی جمعیت F_{2:4} حاصل از تلاقی دو رقم اصلاح شده و بومی ایرانی به اسامی سپیدرود و غریب با استفاده از نشانگرهای SSR و AFLP سه QTL برای مقدار آمیلوز روی کروموزوم‌های ۱، ۶ و ۷، پنج QTL برای دمای ژلاتینه شدن روی کروموزوم‌های ۳، ۵، ۶، ۷ و ۱۲ و سه QTL برای قوام ژل روی کروموزوم‌های ۵، ۶ و ۷ شناسایی شد (Kordrostami et al. 2015).

هدف از این مطالعه تهیه نقشه پیوستگی نشانگرهای SSR در زمینه برنج‌های ایرانی، مکان‌یابی QTL‌های کنترل‌کننده صفات مرتبط با کیفیت پخت و خوراک، برآورد سهم هر یک از QTL‌های شناسایی شده در تبیین تنوع فنوتیپی صفات مورد مطالعه و شناسایی نشانگرهای پیوسته با QTL‌های مربوطه بود که به نوبه خود به اصلاح‌گران برنج کمک خواهد کرد تا استراتژی‌هایی را برای بهبود کیفیت برنج‌های پرمحصول طراحی کنند.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق برای نخستین بار از ۱۵۷ لاین اینبرد نوترکیب (F₉) حاصل از تلاقی دو رقم علی کاظمی (رقم محلی) و کادوس (رقم اصلاح شده) استفاده شد. والدین و لاین‌ها در سال‌های زراعی ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه آزمایشی موسسه تحقیقات برنج کشور واقع در رشت کشت شدند. مساحت هر واحد آزمایشی ۶ مترمربع و فواصل نشاکاری ۲۵ × ۲۵ سانتی‌متر بود. کلیه عملیات زراعی مورد نیاز در طول دوره رشد و نمو بوته‌ها به طور یکسان انجام شد. رقم علی کاظمی یکی از ارقام محلی ایرانی با کیفیت مطلوب پخت است که در ۱۷۰۰۰ هکتار از مزارع استان گیلان کشت می‌شود و دارای کیفیت پخت عالی، ارتفاع بوته نسبتاً بلند، حساس به ورس و با میزان کودپذیری پایین، فرم برگ افتاده و زودرس می‌باشد. مقدار آمیلوز دانه در این رقم ۱۶/۷ درصد، قوام ژل ۷۰، درجه حرارت ژلاتینه شدن دانه ۴/۹ و عملکرد شلتوک آن ۳/۸-۴ تن در هکتار می‌باشد. رقم کادوس دارای کیفیت پخت نامطلوب، ارتفاع بوته متوسط تا کوتاه بوده و در ضمن دارای ساقه‌های مقاوم به ورس و

¹ Single seed descent

سانتی متر می‌باشد برای تعیین ژنوتیپ تعداد زیادی نمونه با نشانگرهای ریزماهواره در مدت زمان کوتاه و با هزینه کم استفاده می‌شود.

پس از تعیین ژنوتیپ و فنوتیپ لاین‌ها، با استفاده از نرم‌افزار MAPMANAGER (Manly et al. 2001) نقشه پیوستگی جمعیت بر مبنای تابع نقشه‌یابی کوسامبی تهیه شد (Kosambi 1994). آزمون کای اسکوئر (χ^2) برای تفرق ژنوتیپ‌های نشانگرهای چندشکل از نسب مورد انتظار ۱:۱ با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. تجزیه همبستگی صفات فنوتیپی مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار STAR software version 1.4 (http://bbi.irri.org) انجام شد. برای محاسبه روابط بین صفات فنوتیپی ارزیابی شده و هر یک از نشانگرها، یک مدل خطی مخلوط (MLM) با به‌کارگیری نرم‌افزار GenStat ver. 17 در نظر گرفته شد. تجزیه QTL در این مدل با استفاده از تجزیه پیوستگی یک صفت در دو سال انجام شد. برای شناسایی QTL‌های معنی‌دار، حد بحرانی $2 \geq -\log_{10} P$ با احتمال یک درصد در تمام صفات در نظر گرفته شد. ژنوم در حداقل ۵ سانتی‌مورگان با ۱۰۰۰ Permutation اسکن شد. با کمک این نرم‌افزار، اثرات متقابل $Q \times E$ نیز شناسایی شد.

نتایج و بحث

توزیع فنوتیپی جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب و موقعیت والدین مورد تلاقی برای هر یک از صفات مورد مطالعه طی دو سال متمادی در شکل ۱ ارائه شده‌است. نتایج حاصل از تجزیه فنوتیپی صفات مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار GenStat تفاوت معنادار بین والدین در غالب صفات را نشان داد. با نگاهی به محدوده صفات در جمعیت لاین‌های اینبرد نوترکیب در ۲ سال آزمایش، مشاهده می‌شود که در کلیه صفات برخی لاین‌ها نسبت به والدین ارزش بیشتر یا کمتری داشتند که بیانگر وجود تفکیک متجاوز برای همه صفات مورد مطالعه بود. Hosseini et al. (2012) در گزارش خود به تفکیک متجاوز صفات مرتبط با کیفیت دانه برنج اشاره نمودند. ارزش صفات درجه حرارت ژلاتینه‌شدن (GT)، قوام ژل (GC) و نسبت ری آمدن (EL) در

هر واحد آزمایش برداشت و استخراج DNA از آن‌ها با روش CTAB (Murray and Thompson, 1980) صورت پذیرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده روی ژل آگارز یک درصد و با استفاده از دستگاه الکتروفورز افقی تعیین شد. از تعداد ۳۰۰ نشانگر ریزماهواره انتخاب شده با کمک نقشه‌های SSR ارائه شده توسط (Temnykh et al. 2000; McCouch et al. 2002) که توزیع یکنواختی روی ۱۲ کروموزوم برنج داشتند برای ارزیابی والدین مورد مطالعه استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس با استفاده از دستگاه Biometra مدل T-Gradient و در حجم ۱۰ میکرولیتر که شامل دو میکرولیتر DNA الگو، ۰/۴ میکرولیتر از هر کدام از آغازگرهای پیشرو و پسرو با غلظت ۱۰ پیکومول، ۰/۶ میکرولیتر مخلوط چهار نوکلئید (دو میلی‌مولار)، ۰/۱۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلی‌مراس (۵ واحد در میکرولیتر)، ۰/۴۸ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ میلی‌مولار)، یک میکرولیتر بافر PCR با غلظت ۱۰ برابر (10x) و ۵ میکرولیتر آب مقطر استریل بود، انجام شد. چرخه حرارتی شامل ۴ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه رشته DNA الگو در 94°C و به دنبال آن 36 چرخه به صورت 30 ثانیه واسرشته‌سازی در 94°C ، 30 ثانیه مرحله اتصال نشانگر در دمای مخصوص اتصال هر نشانگر ($65-55$ درجه سانتی‌گراد)، 30 ثانیه مرحله بسط در دمای 72°C بود و در نهایت ۵ دقیقه بسط نهایی در دمای 72°C صورت گرفت. نمونه‌های تکثیر شده تا انجام الکتروفورز در دمای 4°C نگهداری شدند. فرآورده‌های PCR کلیه آغازگرها برای ۲ نمونه‌ی DNA والدین (علی کاظمی و کادوس)، در هر جمعیت بر روی ژل آگارز ۳ درصد و پلی‌آکریل آمید واسرشته‌ساز ۶ درصد الکتروفورز شدند تا آغازگرهایی که دارای چند شکلی هستند تشخیص داده شوند. در مرحله‌ی بعد نمونه‌های DNA ۱۵۷ لاین مورد آزمایش با استفاده از آغازگرهای چندشکل تکثیر شدند و فرآورده‌های حاصل به منظور تعیین ژنوتیپ افراد مورد الکتروفورز قرار گرفتند. پس از تهیه ژل آکریل آمید ۱۰ درصد محلول حاصله بلافاصله داخل دستگاه الکتروفورز عمودی تزریق شد. در این تحقیق از دستگاه الکتروفورز عمودی کوچک (Mini Vertical Polyacrylamide Gel) به شماره کاتالوگ MG-102-33 ساخت کمپانی C.B.S. Scientific کشور انگلستان استفاده شد. این دستگاه که ابعاد ژل در آن 33×10

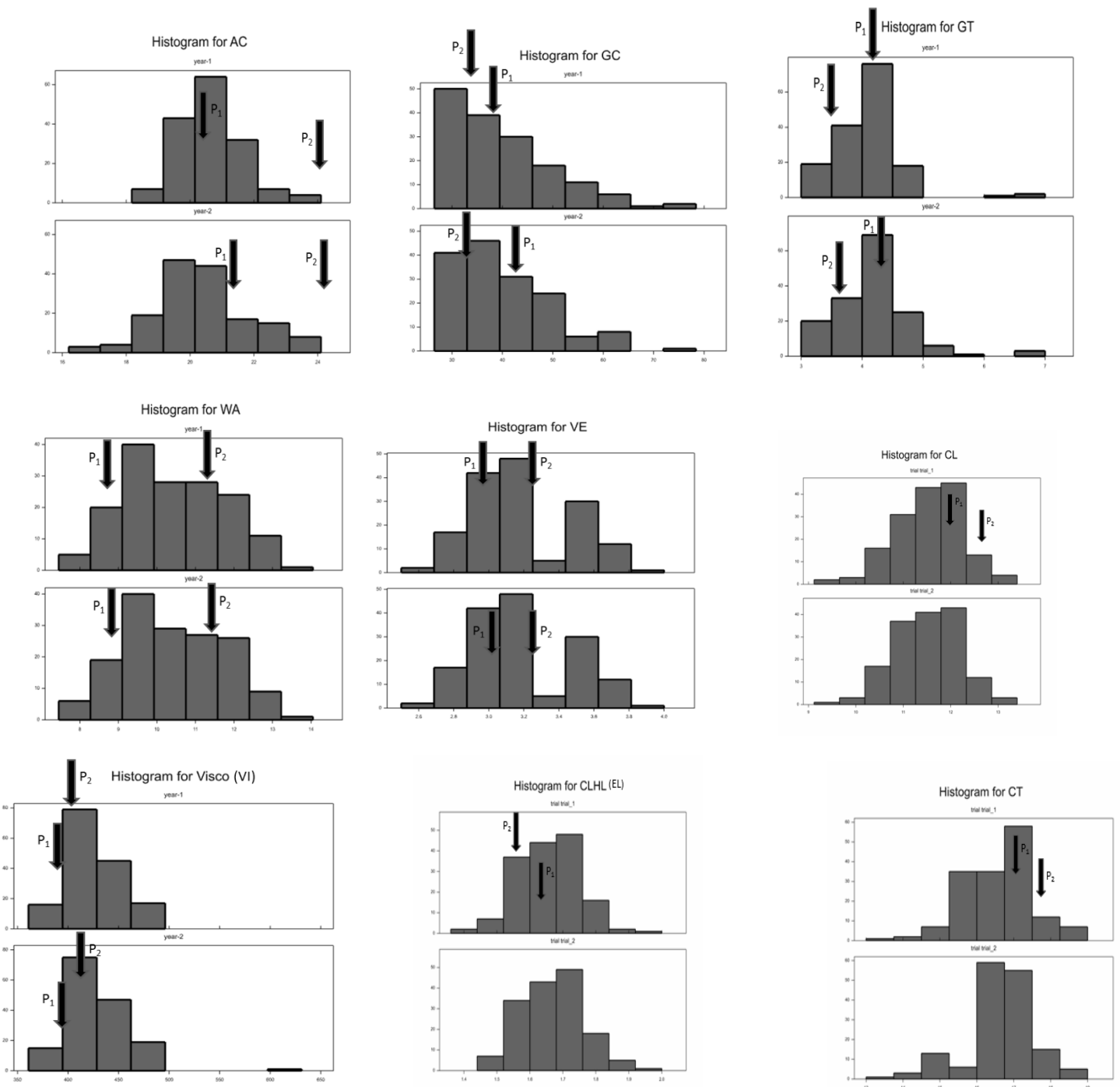
سانتی مورگان بین نشانگرهای مجاور، پوشش داد (جدول ۱). همان‌طور که ملاحظه می‌شود ۶۵ نشانگر چندشکل به دوازده گروه پیوستگی معادل با دوازده کروموزوم برنج منتسب شدند. به‌منظور بررسی انحراف فراوانی‌های ژنوتیپی نشانگرها از فراوانی‌های مندی، آزمون کای اسکور (χ^2) برای نشانگرهای ریزماهواره انجام شد و نتایج نشان داد که ۶۵ نشانگر چندشکل شناسایی شده در این مطالعه مطابقت خوبی با نسبت‌های مورد انتظار داشتند. به‌دلیل اینکه نسل F_۲ نسل خالصی می‌باشد، از این رو نسبت ژنوتیپی مورد انتظار (۱:۱) برای نشانگر SSR با نسبت به‌دست آمده در جمعیت مطابقت داشت. نقشه پیوستگی در جمعیت‌های مختلفی از ارقام برنج ایرانی تهیه شده‌است (Sabouri et al. 2009; Hosseini et al. 2012; Sabouri et al. 2010; Kordrostami et al. 2015). نتایج نشانگر SSR با نسبت به‌دست آمده در جمعیت F_{2:3} حاصل از تلاقی ارقام غریب و سپیدرود تهیه نمایند که طول کل نقشه آن‌ها ۱۴۴۰/۷ سانتی مورگان با متوسط فاصله ۱۳/۷۳ سانتی مورگان بین نشانگرهای مجاور بود. در پژوهش حاضر طول نقشه و فاصله بین نشانگرها در نقشه ژنتیکی ارائه شده با محققین دیگر متفاوت بود که می‌تواند به‌دلیل استفاده از جمعیت متفاوت، تعداد افراد جمعیت نقشه‌یابی، نوع و تعداد نشانگرهای به‌کار رفته در این مطالعه باشد. QTL‌های شناسایی شده در نزدیک‌ترین فاصله به نشانگرهای SSR به‌طور همزمان در ۲ سال آزمایش، مقدار LOD، جهت و مقدار اثر افزایشی، درصد تغییرات فنوتیپی آن‌ها و توزیع QTL‌ها روی ۷ کروموزوم مختلف شناسایی شده (۴-۱، ۶، ۸ و ۱۰) ارائه شده‌است (جدول ۱، شکل ۱). بیش‌ترین ارزش حد آستانه (LOD) ۴/۶۷ در QTL کنترل‌کننده صفت انبساط حجمی (VE) واقع در کروموزوم شماره ۱ در مجاورت نشانگر RM10402 مشاهده شد که به‌ترتیب ۷/۵ و ۲/۹ درصد تغییرات فنوتیپی صفت مذکور را طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ توجیه نمود. مکان ژنی مذکور آلل‌های افزایشنده را از والد کادوس دریافت نمود. در مجموع بر اساس ارزش LOD و درصد تغییرات فنوتیپی صفات، می‌وان گفت شازنده QTL شناسایی شده در این مطالعه، کوچک‌اثر می‌باشند.

والد علی کاظمی در مقایسه با والد کادوس در هر دو سال به‌طور معناداری بالاتر می‌باشد. در مقابل ارزش صفات مقدار آمیلوز (AC)، طول دانه پخته (CL)، ویسکوزیته (VI) و میزان جذب آب (WA) در والد علی کاظمی به‌طور معناداری کمتر از والد کادوس است. ارزش صفت مدت زمان پخت (CT) در والد علی کاظمی در سال ۱۳۹۳ بیش‌تر از کادوس و در سال ۱۳۹۴ کمتر از آن است (شکل ۱). والد علی کاظمی یک رقم بومی ایرانی با خصوصیات کیفی مطلوب است که مقدار آمیلوز کمتری در مقابل والد کادوس که یک رقم اصلاح شده‌است، نشان داد. بنابراین والد علی کاظمی از نظر کیفیت پخت ارزشمندتر از والد کادوس بود. در حقیقت یکی از مشکلات اساسی رقم کادوس که موجب عدم پذیرش آن در بین شالیکاران و مصرف‌کنندگان شده‌است، کیفیت پایین پخت به‌واسطه درصد بالای آمیلوز می‌باشد.

جدول ۱- اطلاعات ۶۵ نشانگر چندشکل SSR

کروموزوم	طول	تعداد نشانگر	میانگین فواصل بین نشانگرها	۹۵ درصد از فواصل
۱	۱۶۱	۹	۱۹/۵	۳۰/۴
۲	۷۵	۴	۲۶	۲۸/۷
۳	۱۴۸	۸	۲۲	۲۶/۳
۴	۱۰۷	۵	۲۶/۵	۳۴/۲
۵	۱۲۰	۷	۲۰/۵	۲۴/۴
۶	۱۱۰	۶	۲۳	۲۵
۷	۱۴۴	۸	۱۹	۲۸/۳
۸	۹۳	۵	۲۳	۲۹/۶
۹	۴۲	۲	۴۲	۴۲
۱۰	۷۱	۴	۲۳	۳۲/۴
۱۱	۵۲	۲	۵۲	۵۲
۱۲	۹۰	۵	۲۱	۳۹
ژنوم	۱۲۱۳	۶۵	۲۲	۳۵/۶

برای تهیه نقشه پیوستگی در این مطالعه، چندشکلی ۳۰۰ نشانگر ریزماهواره از طریق ارزیابی روی والدین مورد بررسی قرار گرفت. از این میان، ۶۵ نشانگر باندهای متفاوتی بین دو والد علی کاظمی و کادوس نشان دادند (شکل ۲). بعد از تعیین ژنوتیپ ۱۵۷ لاین F_۲، داده‌های حاصل به‌صورت ماتریس ۶۵ × ۱۵۷ تنظیم و نقشه ژنتیکی به‌دست آمده بر اساس تابع کوسامبی، ۱۲۱۳ سانتی‌مورگان از کل ژنوم برنج را با میانگین فاصله ۲۲



شکل ۱- توزیع فنوتیپی ۹ صفت مورد مطالعه (AC, GC, GT, WA, VE, CL, EL, CT) در جمعیت RIL طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴

۱۳۹۴ بود. دلیل این تفاوت می‌تواند اثر محیط روی این QTL باشد که تاثیر محیط و پیچیدگی این مکان ژنی را نشان می‌دهد. ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده‌است. به‌طور کلی همبستگی بیشتر صفات کیفی پایین و غیر معنی‌دار بود.

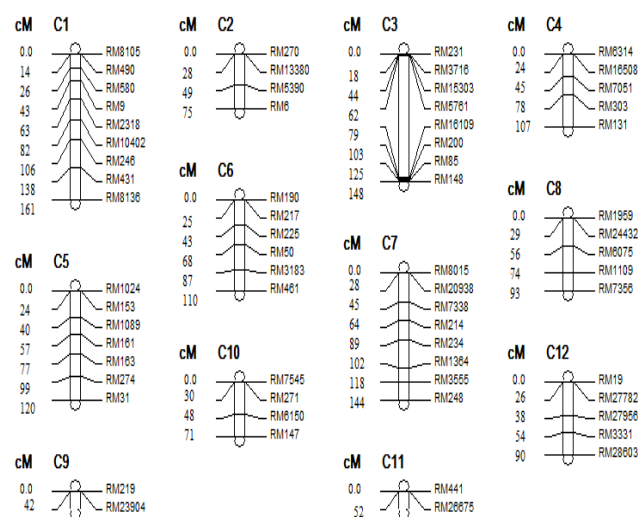
بزرگ‌ترین و کم‌ترین مقدار تنوع فنوتیپی توجیه شده به‌ترتیب مربوط به qwa1 (۹ درصد) و qgt6 (صفر) هر دو در سال ۱۳۹۴ بود. (جدول ۲). برای مکان ژنی qwa1 آل‌های افزایشنده از والد کادوس به نتاج منتقل شد اما مکان ژنی دیگر (qgt6) برخوردار از آل‌های علی‌کاظمی و کادوس به‌ترتیب در سال‌های ۱۳۹۳ و

جدول ۲- QTL های شناخته شده برای ۹ صفت کیفیت پخت در جامعه مورد مطالعه

۱۳۹۴			۱۳۹۳			QTL×E اثر با محیط	LOD	موقعیت (cM)	نشانگر	کروموزوم	QTL	تیمار
آلل موثر	اثر افزایشی	درصد واریانس فنوتیپی	آلل موثر	اثر افزایشی	درصد واریانس فنوتیپی							
K	۰/۲۲	۲/۲	K	۰/۲۲	۵/۲	خیر	۱/۹۸	۱۳۸	RM246	۱	qac1	AC
K	۰/۲۰	۱/۸	A	-۰/۱۴	۲/۱	بله	۱/۱۹	۷۵	RM13380	۲	qac2	
K	۱/۹۳	۴/۲	K	۱/۹۳	۳/۴	خیر	۱/۷۴	۱۴۸	RM5761	۳	qgc3	GC
K	۰/۰۰۹	۰	A	-۰/۰۶	۱	بله	۱/۲۷	۶۸	RM461	۶	qgt6	GT
K	۰/۱۳	۴/۷	K	۰/۱۳	۵/۵	خیر	۱/۷۷	۷۱	RM271	۱۰	qgt10	
K	۰/۱۳	۳/۲	K	۰/۱۳	۲/۹	خیر	۲/۵۶	۶۸	RM461	۶	qcl6	CL
K	۰/۱۳	۳/۶	K	۰/۱۳	۳/۳	خیر	۲/۶۷	۹۳	RM24432	۸	qcl8	
K	۷/۵	۵/۶	K	۷/۵۲	۷/۵	خیر	۲/۱۱	۲۶	RM490	۱	qvi1	VI
K	۰/۳۸	۹	K	۰/۳۸	۸/۹	خیر	۳/۵۵	۶۳	RM10402	۱	qwa1	WA
A	-۰/۲۶	۴/۱	A	۰/۲۶	۴/۱	خیر	۱/۹۴	۶۸	RM461	۶	qwa6	
K	۰/۰۵	۲/۹	K	۰/۳۵	۷/۵	بله	۴/۶۷	۶۳	RM10402	۱	qve1	VE
K	۰/۱۸	۳/۸	K	۰/۱۸	۱/۹	خیر	۱/۸	۰	RM270	۲	qve2	
A	-۰/۰۶	۳/۵	A	-۰/۲۶	۴/۲	بله	۲/۷۶	۶۸	RM461	۶	qve6	
A	-۰/۰۰۹	۱	A	-۰/۰۰۲	۰/۱	بله	۱/۴۸	۰	RM2310	۳	qel3	EL
K	۰/۰۰۵	۰/۲	A	-۰/۰۰۴	۰/۲	بله	۲/۱۳	۴۵	RM16508	۴	qel4	
A	-۰/۱۶	۲/۷	A	-۰/۲۲	۵/۵	بله	۲/۲۴	۴۹	RM6	۲	qct2	CT

Add: اثر افزایشی، PVE: واریانس فنوتیپی تعریف شده توسط QTL ها، A: علی کاظمی (والد ۱)، K: کادوس (والد ۲)، AC: مقدار آمیلوز، GC: قوام ژل، GT: درجه حرارت ژلاتینه شدن، CL: طول دانه پخته، VI: ویسکوزیته، WA: میزان جذب آب، VE: انبساط حجمی، EL: طولیل شدن دانه پس از پخت، CT: مدت زمان پخت

برای صفت مقدار آمیلوز دو QTL کوچک اثر روی کروموزوم‌های ۱ و ۲ شناسایی شد که ۱/۸ تا ۵/۲ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ توجیه نمود. بر اساس نتایج مطالعات انجام شده مقدار آمیلوز تحت کنترل QTL‌های اصلی و فرعی می‌باشد (Hosseini et al. 2014). اکثر مطالعات، یک QTL اصلی را که در نزدیکی ژن wx در کروموزوم wx قرار دارد، شناسایی کرده‌اند (Sabouri et al. 2012). ژن wx عمدتاً مسئول تغییرات طبیعی مقدار آمیلوز، قوام ژل و ویسکوزیته نشاسته است (Bao 2014). نتایج به دست آمده با نتایج مطالعه Sabouri (2009) که در آن QTL‌ای روی کروموزوم ۶ برای AC گزارش نشد، مطابقت داشت. این محقق در پژوهش خود از جمعیت مشتق شده از ارقام طارم محلی × خزر بهره برد. در مطالعه دیگری روی جمعیت بک‌کراس حاصل از تلاقی دو رقم زراعی آسیایی و آفریقایی برنج، QTL‌هایی برای مقدار آمیلوز، روی کروموزوم‌های ۱-۳ و ۱۰-۶ شناسایی شد (Li et al. 2014).



شکل ۲- نقشه ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه توسط نرم‌افزار QTL کارتوگراف

بیش‌ترین ضریب همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات میزان جذب آب و انبساط حجمی ($r=0.771$ سال ۱۳۹۳ و $r=0.762$ سال ۱۳۹۴) برآورد شد. همبستگی بالای این صفات با یکدیگر منتج به شناسایی QTL‌های مشترک روی کروموزوم شماره ۱ شد (جدول ۱).

جدول ۳- تجزیه همبستگی ۹ صفت مورد مطالعه در ۱۵۷ لاین اینبرد نوترکیب طی سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴

صفات	AC	GC	GT	CL	EL	WA	VE	VI	CT
(۱۳۹۳)	1.000								
AC	1.000								
GC	0.006	1.000							
GT	0.356**	0.159	1.000						
CL	-0.1	0.05	0.099	1.000					
EL	0.076	0.166*	0.217*	0.483***	1.000				
WA	0.095	-0.067	0.006	-0.152*	-0.043	1.000			
VE	0.086**	0.025	-0.023	-0.084	-0.012	0.771***	1.000		
VI	0.205*	0.003	-0.0009	0.083	0.029	0.074	0.035	1.000	
CT	-0.093	0.076	0.008	0.02	0.09	0.12	0.072	0.03	1.000
صفات									
(۱۳۹۴)									
AC	1.000								
GC	0.058	1.000							
GT	-0.298**	0.059	1.000						
CL	-0.105	0.045	0.135*	1.000					
EL	-0.211	0.140*	0.201*	0.424***	1.000				
WA	0.103	0.011	-0.008	-0.168*	-0.026	1.000			
VE	0.046	-0.015*	-0.042	-0.093	-0.023	0.762***	1.000		
VI	0.189*	-0.038	-0.114	0.058	0.026	0.035	-0.047	1.000	
CT	0.075	0.064	0.020	0.037	0.095	0.126*	0.056	0.008	1.000

این مطالعه برای اولین بار QTL کنترل‌کننده صفت مذکور روی کروموزوم شماره ۱۰ گزارش می‌شود.

برای صفت طول برنج پخته، در مجموع دو QTL در مجاورت نشانگرهای RM461 (کروموزوم شماره ۶) و RM24432 (کروموزوم شماره ۸) در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ شناسایی شد. بیش‌ترین مقدار تغییرات فنوتیپی (۳/۶ درصد) در مکان ژنی *qcl8* در سال ۱۳۹۴ مشاهده شد. این مکان ژنی دارای اثر افزایشی مثبت در هر دو سال بود و در آن آللهایی از والد کادوس موجب افزایش طول دانه پخته شد.

برای صفت مدت زمان پخت تنها یک QTL در مجاورت نشانگر RM6 روی کروموزوم شماره ۲ شناسایی شد که آللهای افزایشنده از والد علی کاظمی به نتایج منتقل شد. اثرات افزایشی این مکان ژنی در هر دو سال منفی و به سمت کاهش مدت زمان پخت بود. تاکنون ویژگی‌های ژنتیکی صفاتی مانند طول دانه برنج پخته شده و زمان پخت برنج گزارش نشده‌است.

برای صفت چسبندگی (ویسکوزیته VI) یک مکان ژنی که آللهایی از والد کادوس را داشت برای هر دو سال شناسایی شد. این QTL با نشانگر RM490 در کروموزوم ۱ پیوستگی داشت و به ترتیب ۷/۵ و ۵/۶ درصد از کل تنوع فنوتیپی در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ را به خود اختصاص داد. (Zhang et al. 2008). QTLهای کنترل‌کننده چسبندگی ناشاسته در برنج را طی دو سال بررسی کردند. آن‌ها ۳۴ QTL روی کروموزوم‌های ۱-۴، ۸-۶ شناسایی کردند که ۱۹ QTL مربوط به سال اول و ۱۵ QTL مربوط به سال دوم بود. از بین آن‌ها هشت QTL در هر دو سال مشترک بودند. QTL شناسایی شده در این مطالعه نیز وجود مکان ژنی کنترل‌کننده صفت ویسکوزیته روی کروموزوم شماره ۱ را تایید نمود.

برای صفت میزان جذب آب (WA) دو QTL در ۲ سال روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ شناسایی شد. بزرگ‌ترین مقدار تنوع فنوتیپی (۹ درصد) توسط *qwa1* در سال ۱۳۹۴ توجیه شد. گزارش شده در پژوهش حاضر روی کروموزوم شماره ۶ با QTL گزارش شده توسط Hosseini et al. 2012 مطابقت داشت.

برای صفت انبساط حجمی (VE) سه QTL در هر دو سال روی کروموزوم‌های ۱، ۲ و ۶ شناسایی شد. بیش‌ترین مقدار تغییرات

بنابراین QTLهای شناسایی شده روی کروموزوم‌های ۱ و ۲ در این مطالعه، نتایج آن‌ها را مورد تایید قرار می‌دهد. در مطالعه Kordrostami et al. (2015) نیز همانند مطالعه حاضر یک QTL روی کروموزوم شماره ۱ (*qAC1*) در مجاورت نشانگرهای RM1268-RM8231 شناسایی شد که ۱۶ درصد از تنوع فنوتیپی این صفت را توجیه نمود.

تنها یک QTL کوچک‌اثر برای صفت غلظت ژل روی کروموزوم شماره ۳ شناسایی شد که ۳/۴ و ۴/۲ درصد از تنوع فنوتیپی را در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ توجیه نمود. این مکان ژنی دارای اثر افزایشی مثبت در هر دو سال بود و در آن آللهایی از والد کادوس موجب افزایش قوام ژل شد. QTLهای متاثر از قوام ژل (GC) در مطالعات مختلف متفاوت می‌باشند. در پژوهشی گزارش شده است که GC تحت کنترل QTLهای بزرگ‌اثر و کوچک‌اثر قرار دارد (Huang et al 2013). QTLهای اصلی کنترل‌کننده این صفت روی کروموزوم‌های ۲، ۶ و ۷ تشخیص داده شده‌اند. مطالعات دیگر، کنترل این صفت را به مکان ژنی *wx* مرتبط می‌کند (Bao 2014). برخی محققین معتقد بودند که GC عمدتاً توسط دو QTL اصلی روی کروموزوم ۲ و ۷ کنترل می‌شود. همچنین تاکید شده‌است که GC به شدت تحت تاثیر محیط قرار می‌گیرد (Li et al 2004; Xu et al 2013).

دو QTL برای صفت دمای ژلاتینه‌شدن (GT) در این مطالعه روی کروموزوم‌های ۶ و ۱۰ شناسایی شد. *qgt10* بزرگ‌ترین بخش تنوع فنوتیپی یعنی ۵/۵ درصد را در سال ۱۳۹۳ و ۴/۷ درصد در سال ۱۳۹۴ توجیه نمود. *qgt6* آللهایی از علی کاظمی و کادوس را به ترتیب در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ داشت و *qgt10* در هر دو سال برخوردار از آللهایی از والد کادوس بود. QTL گزارش شده در این مطالعه تقریباً با QTL گزارش شده توسط Kordrostami et al. (2015) روی کروموزوم شماره ۶ مطابقت داشت. QTL پایدار کنترل‌کننده صفت دمای ژلاتینه‌شدن در مجاورت مکان ژنی *alk* در کروموزوم ۶ شناسایی شده‌است (Bao 2014). نتایج به دست آمده در توافق با نتایج سایر پژوهشگران (Tian et al. 2005; Sabouri et al. 2012) بود که به این نتیجه رسیدند که GT عمدتاً توسط مکان ژنی *alk* کنترل می‌شود. در

می‌نمایند، بازده روش MAS را بالا خواهد برد. در این مطالعه ۳ مکان ژنی در مجاورت نشانگرهای RM246، RM490 و RM10402 روی کروموزوم شماره ۱ شناسایی شد که به ترتیب کنترل صفات مقدار آمیلوز، ویسکوزیته و انبساط حجمی را عهده‌دار بودند و به‌عنوان اولین کلاستر ژنی در این جمعیت ثبت شدند. دومین کلاستر ژنی شامل ۳ مکان ژنی دیگر روی کروموزوم شماره ۲ بود که در مجاورت نشانگرهای RM380، RM270 و RM6 قرار داشتند و به ترتیب صفات مقدار آمیلوز، انبساط حجمی و مدت زمان پخت را کنترل نمودند. در مطالعه حاضر یک مکان ژنی در مجاورت نشانگر RM461 روی کروموزوم شماره ۶ شناسایی شد که به‌طور همزمان سه صفت دمای ژلاتینه‌شدن، انبساط حجمی و طول دانه پخته را کنترل نمود. این مکان ژنی نیز به‌واسطه برخورداری از اثر پلیوتروپی حائز اهمیت بوده و از نشانگر مجاور آن می‌توان در برنامه‌های اصلاحی انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

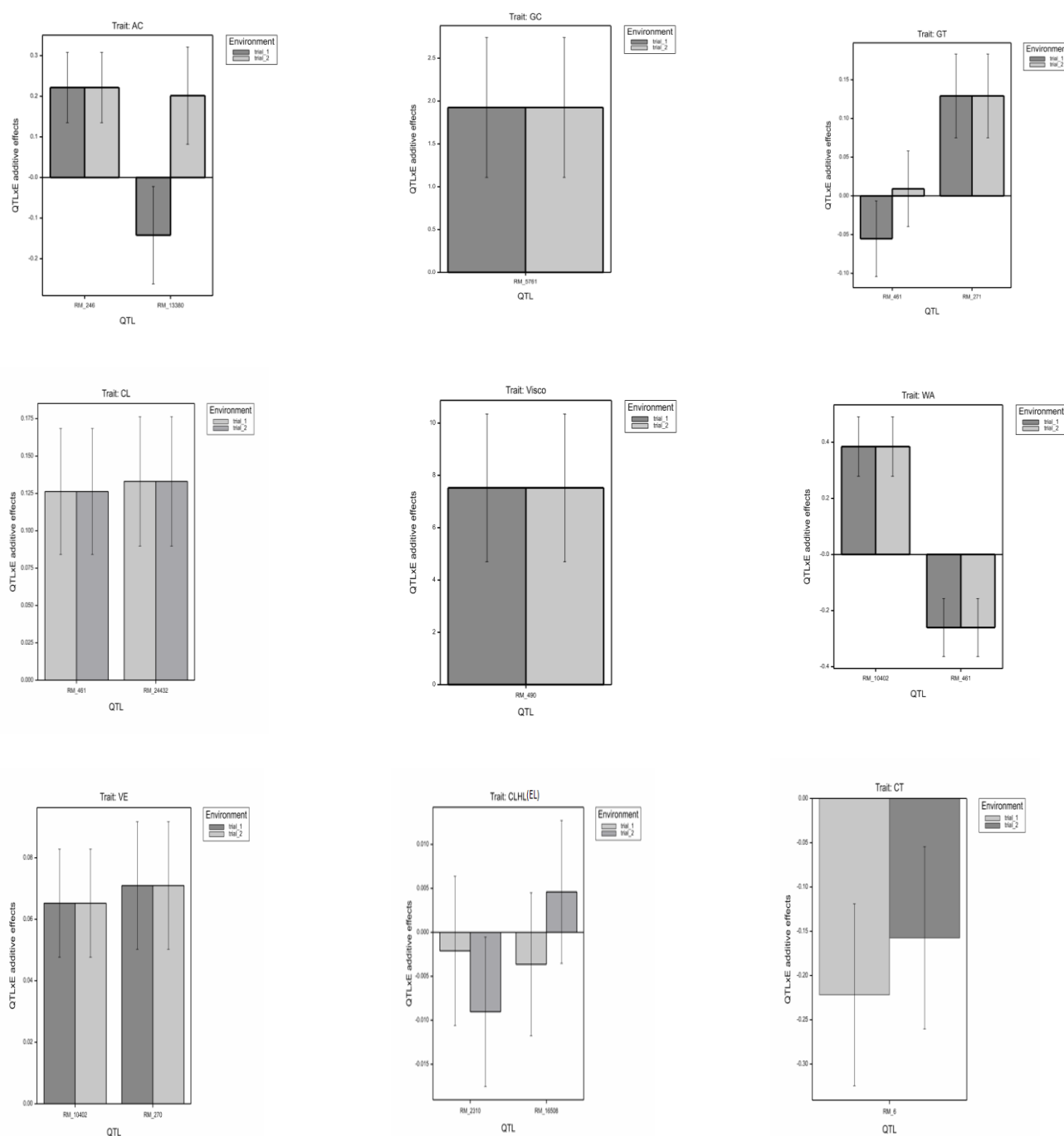
QTL‌های دارای LOD ۲ و بالاتر با اطمینان بیشتری در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار می‌گیرند زیرا سهم‌شان در توجیه تنوع فتوتیپی صفات بیشتر است (Hosseini et al. 2014; Bao 2014). در این مطالعه برای صفت طول دانه پخته دو QTL روی کروموزوم‌های ۶ و ۸ به ترتیب با LOD ۲/۵۶ و ۲/۷۷، برای صفت ویسکوزیته یک QTL روی کروموزوم ۱ با LOD ۲/۱۱، برای صفت میزان جذب آب یک QTL روی کروموزوم ۱ با LOD ۳/۵۵، برای صفت انبساط حجمی دو QTL روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ به ترتیب با LOD ۴/۷ و ۲/۷۶، برای صفت نسبت ری آمدن یک QTL روی کروموزوم ۴ با LOD ۲/۱۳ و برای صفت مدت زمان پخت یک QTL روی کروموزوم ۲ با LOD ۲/۲۴ شناسایی شد.

اثر متقابل محیط با QTL‌های کنترل‌کننده خصوصیات پخت و خوراک برنج سفید بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه با نرم‌افزار GenStat در شکل ۳ نشان داده شده‌است. بیشترین اثر متقابل QTL و محیط (QE) در صفات AC، GT، VE، EL و CT مشاهده شد. تنوع فنوتیپی بسیار کمی در برخی از صفات به دلیل اثر QE حاصل شد.

فنوتیپی (۷/۵ درصد) در سال ۱۳۹۳ توسط qve1 توجیه شد. مکان‌های ژنی qve1 و qve2 آللهایی از والد کادوس در هر دو سال داشتند. در حالی‌که برای QTL دیگر (qve6) آللهای والد علی کاظمی در هر دو سال اثر افزایشده داشت. سه ناحیه کروموزومی شناسایی شده در این پژوهش در تناقض با نتایج به‌دست آمده توسط Tian et al. (2005) بود. متفاوت بودن نوع جمعیت به‌کاررفته از دلایل اصلی عدم تطابق است. Xu et al. (2013) نیز برای VE مکان‌های ژنی دیگری روی کروموزوم‌های ۳ و ۹ شناسایی نمودند که نتایج حاصله از این مطالعه با آن مطابقت ندارد.

برای صفت نسبت افزایش طول دانه پس از پخت (نسبت ری آمدن EL) دو QTL در ۲ سال آزمایش روی کروموزوم‌های ۳ و ۴ شناسایی شد که نتایج مطالعات قبلی انجام شده را مورد تایید قرار داد (Hosseini et al. 2012; Kordrostami et al.). بیشترین مقدار تنوع فنوتیپی صفت مذکور (یک درصد) توسط qel3 در سال ۱۳۹۴ توجیه شد. مکان ژنی qel3 آللهایی از والد علی کاظمی را در هر دو سال داشت. QTL دیگر (qel4) به ترتیب برخورداری از آللهای علی کاظمی و کادوس در سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ بود.

پیشرفت‌های بزرگی در خصوص درک مبانی ژنتیکی خصوصیات مرتبط با کیفیت پخت برنج با انجام مطالعات متعدد صورت گرفته است (Aluko et al 2004; Chen et al 2012; Fan et al. 2005; Wan et al. 2004; Bao et al 2014; Guo et al. 2007; Li et al. 2018; Xu et al. 2013; Pronce et al. 2004). مطالعات اولیه نشان داد که جمعیت‌های مختلف نقشه‌یابی مانند F2، RIL، DH و غیره تحت تاثیر تجزیه QTL قرار گرفتند. دقت نقشه‌یابی ژنتیکی، تابعی از اندازه و نوع جمعیت مورد مطالعه است زیرا دقت تخمین فاصله ژنتیکی به‌طور مستقیم با این دو پارامتر مرتبط است. با این حال، یک جمعیت با تعداد زیادی از افراد ممکن است بی‌ثبات باشد، زیرا علیرغم آنکه هزینه‌ها را افزایش می‌دهد، نیاز به کار، فضا و زمان بیشتری برای نقشه‌یابی ژنتیکی دارد (Bao 2014). شناسایی کلاسترهای ژنی نیز برای برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS) مفید می‌باشند. شناسایی مکان‌های ژنی متعدد روی یک کروموزوم که هر کدام صفت خاصی را کنترل



شکل ۳- اثرات QTL های شناسایی شده با محیط (QE) در ۹ صفت مورد مطالعه طی سال های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴

متعددی بر نتایج نقشه یابی تاثیر می گذارند که از جمله می توان به نوع جمعیت، تفاوت ارزش صفات در والدین مورد مطالعه، نوترکیبی QTL های جزئی، اثرات اپیستازی و اثر متقابل QTL با محیط اشاره نمود.

به طور کلی اگرچه QTL های بزرگ اثر اغلب مهم ترین عوامل تعیین کننده کیفیت به شمار می روند، لیکن اثرات متقابل QTL های جزئی (کوچک اثر) یا حتی اثرات متقابل بین آنهایی که اثرات قابل تشخیص را با به کارگیری تجزیه تک نشانگری ندارند، ممکن است تأثیرات مهمی روی صفات مرتبط با کیفیت بگذارد. عوامل

همان‌طور که قبلاً ذکر شد، اکثر ارقام برنج محلی ایران علی‌رغم کیفیت عالی، عملکرد پایین دارند. بنابراین لازم است ژن‌های کنترل‌کننده کیفیت دانه به ارقام پرمحصول انتقال داده شود. از این رو، در مطالعه حاضر والد علی کاظمی (عملکرد پایین و کیفیت خوب) و والد کادوس (عملکرد بالا و کیفیت پایین) انتخاب شد. با توجه به اینکه اندازه جمعیت مورد مطالعه و تراکم نشانگرها، دو فاکتور مهم در مکان‌یابی QTLها می‌باشند، توصیه می‌شود که از جمعیت‌های بزرگ‌تر و تعداد نشانگرهای بیشتری برای این منظور استفاده شود تا با تهیه نقشه‌های اشباع شده، تمامی QTLهای بزرگ‌اثر و کوچک‌اثر مؤثر بر صفات مهم شناسایی شوند.

توارث خصوصیات مربوط به کیفیت پخت و خوراک برنج بسیار پیچیده‌تر از سایر صفات است. نتایج نشان می‌دهد شناسایی QTLهای کوچک‌اثر کنترل‌کننده این صفات پیچیده می‌تواند موفقیت‌آمیز باشد چراکه تلاقی والدین دارنده حتی یک QTL ولو با اثر کم، روشی نوین برای حفظ تنوع ژنتیکی خواهد بود و در مقایسه با تفاوت‌های فنوتیپی بین والدین، شانس موفقیت در شناسایی QTLهای کوچک‌اثر بیشتر را افزایش خواهد داد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که برای صفات مورد مطالعه حداقل یک QTL با اثر کوچک وجود دارد اگرچه انجام مطالعات بیشتر و استفاده از جمعیت‌های دیگر برای به‌دست آوردن نتایج دقیق‌تر ضروری است.

منابع

- Alizadeh MR, Zamani G (2007) Characteristics and processing of different varieties of rice in Iran. Pelk Press, Tehran, Iran, P. 222 (In Farsi).
- Aluko G, Martinez C, Tohme J, Castano C, Bergman C, Oard JH (2004) QTL mapping of grain quality traits from the interspecific cross *Oryza sativa* × *O. glaberrima*. Theoretical and Applied Genetics 109: 630-639.
- Bao JS (2012) Toward understanding the genetic and molecular bases of the eating and cooking qualities of rice. Available at: <https://aaccipublications.aaccnet.org/doi/pdf/10.1094/CFW-57-4-0148>
- Bao JS (2014) Genes and QTLs for rice grain quality improvement (Book chapter). Rice, Germplasm, Genetics and Improvement. pp 240-278. Available at: <https://www.intechopen.com/books/rice>
- Cagampang GB, Perez CM, Juliano BO (1973) A gel consistency test for eating quality of rice. Journal of the Science of Food 24: 1589-1594.
- Chen Y, Wang M, Ouwerkerk PB (2012) Molecular and environmental factors determining grain quality in rice. Food and Energy Security 1: 111-132.
- Fan CC, Yu XQ, Xing YZ, Xu CG, Luo LJ, 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: 1445-1452.
- Guo Y, Mu P, Liu J, Lu Y, Li Z (2007) QTL mapping and Q × E interactions of grain cooking and nutrient qualities in rice under upland and lowland environments. Journal of Genetics and Genomics 34: 420-428.
- Habibi F (2013) Experimental methods for measuring quality characteristic in rice grain. Rice Research Institute Press, Rasht, Iran, p. 27 (In Farsi).
- Hosseini M, Hoshmand S, Mohamadi S, Tarang A, Khodambashi M, Rahimsoroush H (2012) Detection of QTLs with main, epistatic and QTL × environment interaction effects for rice grain appearance quality traits using two populations of backcross inbred lines (BILs). Field Crop Research 135:97-106.
- Hosseini-Chaleshtori M, Sorkheh K (2014) Rice Quality (Aspects of Quantitative, Molecular and Genomic). Sina-Teb Press, Tehran, Iran, P. 178 (In Farsi).
- Kordrostami M, Rabiei B, Sabouri A, Sabouri H (2015) Identification of QTLs controlling cooking and milling quality traits in an F_{2,3} population of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Crop Breeding 7(16): 16-26.
- Kosambi DD (1994) The estimation of map distance from recombination values. Annals of Eugenics 12:172-175.
- Li J, Xiao J, Grandillo S, Jiang L, Wan Y, Deng Q, McCouch SR (2004) QTL detection for rice grain quality traits using an interspecific backcross population derived from cultivated Asian (*O. sativa* L.) and African (*O. glaberrima* S.) rice. Genome 47: 697-704.
- Li X, Ma W, Wang Z, Guo Y, Liu F, Wu H (2014) Study on integration of QTLs related to amylase content of rice. Journal of Northeast Agricultural University 45: 8-14.
- Little R R, HILDER GB and Dawson EH (1958) Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. Cereal Chemistry 35: 111-126.
- Manly KF, Cudmore Jr, RH, Meer JM (2001) Map Manager QTX, cross platform software for genetic mapping. Mammalian Genome 12: 930-932
- McCouch SR, Teytelman L, Xu Y, Lobos KB, Clare K, Walton M, Zhang Q (2002) Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) DNA Research 9: 199-207.

- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic acids Research* 8: 4321-4326.
- Perez CM, Juliano BO (1978) Modification of the simplified amylose test for milled rice. *Starch-Stärke* 30: 424-426.
- Ponce KS, 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* 9:868.
- Sabouri H (2009) QTL detection of rice grain quality traits by microsatellite markers using an indica rice (*Oryza sativa* L.) combination. *Journal of Genetics* 88: 81-85.
- Sabouri A, Toorchi M, Rabiei B, Aharizad S, Moumeni A, Singh RK (2010) Identification and mapping of QTLs for agronomic traits in indica-indica cross of rice (*Oryza sativa* L.) *Cereal Research Communications* 38: 317-326.
- 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.). *Aust. Journal of Crop Science* 6: 808-814.
- Temnykh S, Park WD, Ayres N, Cartinhour S, Hauck N, Lipovich L, McCOUCH SR (2000) Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.) *Theoretical and Applied Genetics* 100: 697-712.
- Tian R, Jiang GH, Shen LH, Wang LQ, He YQ (2005) Mapping quantitative trait loci underlying the cooking and eating quality of rice using a DH population. *Molecular Breeding* 15:117-124.
- VSN International (2015) GENSTAT for Windows 17th Edition. (VSN International: Hemel Hempstead, UK). Available at www.GENSTAT.co.uk
- Wan XY, Wan JM, Su CC, Wang CM, Shen WB, Li JM, Yasui H (2004) QTL detection for eating quality of cooked rice in a population of chromosome segment substitution lines. *Theoretical and Applied Genetics* 110:71-79.
- Williams VR, Wu WT, Tsai HY, Bates HG (1958) Varietal differences in amylose content of rice starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 6:47-48.
- Xu FF, Sun X, Croke H, Sun M, Bao JS (2013) Association mapping of starch physiochemical properties with starch biosynthesizing genes in waxy rice (*Oryza sativa* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:10110-10117.
- Zhang QF, Zhang YD, Zhu Z, Zhao L, Zhao QY, Xu L, Wang CL (2008) Inheritance Analysis and QTL Mapping of Rice Starch Viscosity (Rapid Visco Analyzer Profile) Characteristics. *Rice Science* 15: 186-194.