

"Research Paper

Biochemical and Molecular Screening of Different Rice Genotypes for Temperature Characteristics of Starch Gelatinization

Zeynab Yousefi¹, Khadijeh Bagheri², Mostafa Modarresi³ and Noraddin Hosseinpour Azad⁴

1- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Corresponding author: bagheri.khadijeh@znu.ac.ir)

3- Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rasht, Iran

4- Department of Plant Sciences and Medicinal Plants, Mashgin-Shahr, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili Iran

Received: 15 January, 2023

Accepted: 3 May, 2023

Extended Abstract

Introduction and Objective: Gelatinization temperature is one of the most important characteristics of determining cooking time and an important indicator of rice grain quality. Gelatinization temperature is defined as the temperature at which rice starch granules begin to irreversibly lose their crystalline nature and order. In this research, phenotypic and molecular screening of 50 different genotypes of local and improved varieties of rice was done in order to separate selective varieties of rice based on the difference in gelatinization temperature.

Material and Methods: The required seeds for the study were obtained from the collection of the Rice Research Institute of Iran, and after cultivation in the research field of the Rice Research Institute, the produced seeds were harvested and the gelatinization temperature of the rice seeds was measured based on the phenotypic test. It was done with 1/7% potassium hydroxide method and molecular evaluation was done using the marker (Alk) (from the genes controlling the gelatinization temperature) and the logistic regression model was used to analyze the correlation between genes and phenotype.

Results: Based on the phenotypic evaluation based on the biochemical trait of gelatinization temperature created for different rice samples, it was determined that out of 50 genotypes, 33 cultivars had a gelatinization temperature of 3-5 and 17 cultivars had a gelatinization temperature of 6-7 were. In the molecular evaluation, the marker (Alk) separated 33 cultivars with a gelatinization temperature of 3 to 5.

Conclusion: Potassium hydroxide method has 1/7% efficiency to differentiate genotypes with different gelatinization temperature. The marker (Alk) also has the necessary efficiency in separating genotypes with medium gelatinization temperature.

Keywords: Alk gene, ASV (alkali spreading value), Biochemical screening, Molecular screening, Potassium hydroxide, Starch gelatinization temperature



مقاله پژوهشی

غربالگری بیوشیمیایی و مولکولی ژنوتیپ‌های مختلف برنج برای صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن نشاسته

زینب یوسفی^۱، خدیجه باقری^۲، مصطفی مدرسی^۳ و نورالدین حسین پور آزاد^۴

۱- گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران

۲- گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، ایران، (نویسنده مسوول: bagheri.khadijeh@znu.ac.ir)

۳- هیأت علمی موسسه تحقیقات برنج کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رشت، ایران

۴- گروه علوم گیاهی و گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی مشکین‌شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۲/۱۳

صفحه: ۱۵۴ تا ۱۶۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: درجه حرارت ژلاتینه شدن از مهم‌ترین ویژگی تعیین زمان پخت و شاخص مهم کیفیت دانه برنج است. دمای ژلاتینه شدن به‌عنوان دمایی تعریف می‌شود که در آن گرانول‌های نشاسته برنج شروع به ازدست‌دادن غیر قابل برگشت ماهیت و نظم کریستالی خود می‌کنند. در این پژوهش به‌منظور تفکیک ارقام گزینشی برنج بر اساس تفاوت در درجه حرارت ژلاتینه شدن به غربالگری فنوتیپی و مولکولی ۵۰ ژنوتیپ مختلف واریته‌های محلی و اصلاح‌شده برنج پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: بذور موردنیاز مورد مطالعه از کلکسیون مؤسسه تحقیقات برنج کشور تهیه شده و پس از کشت در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات برنج بذور تولید شده برداشت و اندازه‌گیری صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن دانه‌های برنج بر پایه آزمون سنجش فنوتیپی با روش هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ دهم درصد و ارزیابی مولکولی با استفاده از نشانگر (Alk) (از ژن‌های کنترل‌کننده دمای ژلاتینه شدن) انجام شده و جهت تحلیل همبستگی میان ژن‌ها و فنوتیپ، از مدل رگرسیون لجستیک استفاده گردید.

یافته‌ها: بر اساس ارزیابی فنوتیپی بر پایه صفت بیوشیمیایی درجه حرارت ژلاتینه ایجاد شده برای نمونه‌های مختلف برنج، مشخص گردید از ۵۰ ژنوتیپ، ۳۳ رقم با درجه حرارت ژلاتینه شدن ۳ تا ۵ و ۱۷ مورد با درجه حرارت ژلاتینه شدن ۶-۷ بود. در ارزیابی مولکولی نشانگر (Alk) ۳۳ رقم با درجه حرارت ژلاتینه شدن ۳ تا ۵ را از هم تفکیک کرد.

نتیجه‌گیری: روش هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ دهم درصد کارایی لازم جهت متمایز نمودن ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینه شدن مختلف را دارد. نشانگر (Alk) نیز کارایی لازم در تفکیک ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط را دارد.

واژه‌های کلیدی: ارزش پخش قلیایی، دمای ژلاتینه شدن نشاسته، ژن Alk، غربالگری مولکولی، غربالگری بیوشیمیایی، هیدروکسید پتاسیم

مقدمه

برنج یکی از مهم‌ترین غلات جهان و دومین محصول راهبردی ایران است (Tarang et al., 2020). حدود ۱۱۴ کشور در سراسر جهان با کشت بیش از ۴۰۰۰۰ گونه برنج در صنعت برنج مشغول به کار هستند و حدود ۴۹۱/۴ میلیون تن برنج خام از ۱۶۰/۶ میلیون هکتار تولید می‌کنند (Datta et al., 2017). بهبود ویژگی‌های کیفیت دانه همراه با عملکرد برای هر برنامه اصلاح برنج اساسی است (Wu et al., 2015). بسیاری از این صفات کیفی ماهیت کمی با سازوکار ژنتیکی پیچیده دارند و تا حد زیادی تحت‌تأثیر ژنوتیپ، شرایط محیطی و برهمکنش‌های آن‌ها هستند (Jin et al., 2018; Wang et al., 2007). بهبود کیفیت پخت به‌دلیل وراثت چندژنی که همراه با اثرات متقابل و شدیدی با محیط می‌باشد، بسیار پیچیده است (Fiaz et al., 2019). علاوه بر آن، پیچیدگی‌های ژنتیکی، عوامل محیطی، عملیات کاشت و برداشت، دمای هوا در حین رشد دانه، میزان کود، مدیریت آبیاری، رطوبت زمان برداشت و روش‌های پخت بر کیفیت پخت تأثیر می‌گذارد (Custodio et al., 2017; Bao, 2019). این عوامل به‌همراه عدم توانایی در ارزیابی دقیق کیفیت پخت در نسل‌های اولیه لاین‌های اصلاحی تولید انواع برنج باکیفیت پخت بالا را محدود نموده‌است (Concepcion., 2020). از موضوعات مهم در برنج، بهبود کیفیت پخت و خوراک است. از عوامل اساسی در کیفیت

پخت، عطر، درجه حرارت ژلاتینه‌شدن (GT)، میزان آمیلوز^۱ (AC)، غلظت یا قوام ژل (GC)^۲ است (Dela Cruz and Khush., 2000). دمای ژلاتینه شدن عمدتاً توسط ژن ALK^۳ که آنزیم سنتاز نشاسته محلول (SSIa) را کد می‌کند، تنظیم می‌شود و چندشکلی‌ها در آن، تفاوت در دمای ژلاتینه شدن نشاسته برنج را توضیح می‌دهد (Zhou et al., 2016). ژن SSIa مسئول تغییرات درجه حرارت ژلاتینه شدن در چندین مطالعه نقشه یابی QTL شناسایی شده است (Umamoto and Aoki, 2005; Tian et al., 2005; Tan et al., 1999; He et al., 1999). مطالعات مختلف نشان داد که نشانگرهای SSIa با درجه حرارت ژلاتینه شدن مرتبط هستند. آل GC ژن SSIa معمولاً با ژلاتینه شدن بالا یا متوسط همراه است (Bao et al., 2006). نشاسته جزء اصلی ذخیره کربوهیدرات گیاهان عالی است که در پلاستیدهای سلول‌های فتوسنتزی و غیر فتوسنتزی سنتز می‌شود (Zeeman et al., 2010). هنگامی که نشاسته به‌عنوان نشاسته "نرمال" توصیف می‌شود از دو پلیمر آمیلوز و آمیلوپکتین تشکیل شده‌است که به‌نسبت تقریبی ۱ به ۳ یافت می‌شوند (Mubarak et al., 2012). نشاسته برنج در حالت اصلی خود ساختاری نیمه‌بلوری دارد که پختن نشاسته را به ماده‌ای نرم‌تر، خوراکی و ژل‌مانند تبدیل می‌کند. از آنجایی که این مسئله با زمان پخت و بافت برنج پخته شده مرتبط است، دمایی که در آن نشاسته برنج ژلاتینه می‌شود، جزء مهمی از

تجزیه حرارتی است که برای اندازه‌گیری درجه حرارت و انرژی موردنیاز برای انتقال از یک‌فاز به فاز دیگر به کار می‌رود و تابعی از دما و زمان است. چنین ارزیابی‌هایی می‌تواند اطلاعات کمی و کیفی در رابطه با تغییرات فیزیکی و شیمیایی و گرمازا بودن فرایند در اختیار ما قرار دهد. در روش لیتل تغییرات ژلاتینی شدن دانه به این روش برای انتخاب ارقام و لاین‌هایی که از نظر این معیار در محدوده متوسط (۵-۳) قرار می‌گیرند، روش سریع و مقرون به صرفه‌ای است، اما روش گرماسنجی افتراقی در بیان جزئیات و آشکار نمودن تفاوت‌های پخت بین ارقام برنج خصوصاً ارقامی که از نظر روش لیتل در یک گروه قرار می‌گیرند، مفیدتر است (Habibi et al., 2012). اصلاح دقیق یک رویکرد اصلاح نباتات است که در آن صفت فنوتیپی مورد نظر با شناسایی یک نشانگر عملکردی (FM) که مستقیماً از ناحیه ژنومی یک ژن کنترل‌کننده صفت مشتق شده‌است، انتخاب می‌شود (Conner., 2004). در دسترس بودن منابع ژنومی برای توسعه نشانگرهای عملکردی و استفاده از آنها در اصلاح دقیق از اهمیت بالایی برخوردار است (Bohra et al., 2019). چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی مانند نشانگرهای عملکردی در مقایسه با نشانگرهای تصادفی و نشانگرهای مولکولی وراثتی (GMM)^۲ در اصلاح گیاهان مفیدتر هستند. اگرچه ممکن است نشانگرهای مولکولی وراثتی در یک ژن مورد نظر وجود داشته‌باشند اما از نظر عملکردی، به صفت فنوتیپی مورد نظر مرتبط نباشند، که این نیز ممکن است منجر به انتخاب نادرست در MAS شود (Varshney et al., 2005). نشانگرهای عملکردی (FMs) نیز از موتیف‌های توالی مشخص‌شده عملکردی ایجاد شده‌اند که به دلیل پیوند کامل آنها با آلل‌های جایگاه صفت، نسبت به نشانگرهای تصادفی برتری دارند (Amom and Nongdam, 2017). با توجه به اهمیت خواص ژلاتینه شدن نشاسته در برنامه‌های تعیین کیفیت دانه برنج، در این پژوهش به ارزیابی فنوتیپی و مولکولی دمای ژلاتینی شدن ارقام مختلف برنج برای تعیین نمره ژلاتینه شدن، با روش هیدروکسید پتاسیم (پتاس ۱/۷ درصد) و نشانگر عملکردی مولکولی مرتبط با صفت درجه حرارت ژلاتینی شدن پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده متشکل از ۵۰ ژنوتیپ مختلف برنج که ژنوتیپ‌های بومی معطر شامل ۱- آبجی بوجی، ۲- اهلمی طارم، ۳- علی کاظمی، ۴- عنبربو ایلام، ۵- بی‌نام، ۶- دیلمانی، ۷- دم سفید، ۸- دم‌سیاه، ۹- دم زرد، ۱۰- غریب، ۱۱- غریب سیاه ریحانی، ۱۲- حسنی، ۱۳- حسن‌سرائی، ۱۴- هاشمی ۱۵- محمدی چپر سر، ۱۶- شاه‌پسند، ۱۷- T196، ۱۸- طارم محلی و ژنوتیپ‌های بومی غیر معطر شامل ۱- نعمت و ژنوتیپ‌های اصلاح‌شده معطر شامل ۱- آنام، ۲- فجر، ۳- قدسی، ۴- گوهر، ۵- گوهر جهش‌یافته، ۶- B115، ۷- مدرسی ۲، ۸- مدرسی ۳، ۹- مدرسی ۴، ۱۰- مدرسی ۶، ۱۱- رش، ۱۲- TH1، ۱۳- تیساه همچنین ژنوتیپ‌های اصلاح‌شده غیر معطر شامل ۱- بجار، ۲- درفک،

کیفیت خوراک برنج است. نشاسته با فعالیت چندین آنزیم سنتز می‌شود و موضوع بررسی‌های گسترده اخیر بوده است (Mubaraki et al., 2012). دمای ژلاتینه شدن به‌عنوان دمایی تعریف می‌شود که در آن گرانول‌های نشاسته برنج شروع به از دست دادن غیرقابل برگشت ماهیت کریستالی می‌کنند. این صفت خاص توسط ژن ALK کنترل می‌شود (Gao et al., 2003). گرانول‌های نشاسته در اثر دما و جذب آب متورم شده و باعث از بین رفتن ساختمان کریستالی مولکول‌های نشاسته و خارج شدن آمیلوز از گرانول می‌شود که به آن ژلاتینه شدن برنج می‌گویند. مقدار دمای ژلاتینی به نوع گرانول و آب بستگی دارد (Eliasson., 2004; Belitz et al., 2009). از عوامل مؤثر درجه حرارت ژلاتینه شدن برنج می‌توان درجه حرارت زمان پلیمریزاسیون^۱ نشاسته و میزان تابش نور خورشید را نام برد که مقدار آن را حداکثر شش درجه سانتی‌گراد تغییر می‌دهد. درجه حرارت ژلاتینه شدن ارقام برنج عموماً بین ۶۲/۵ تا ۹۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (Pourkazem., 2015). از عوامل مؤثر بر ژلاتینه و خمیر شدن نشاسته عبارتند از ۱- وجود آب ۲- مولکول‌های آمیلوپکتین که سبب افزایش دمای ژلاتینی، چسبندگی و استحکام ژل می‌شوند (Perry and Donald., 2006) و ۳- چربی‌ها به‌شکل مونو، دی و تری‌گلیسیرید می‌توانند با آمیلوز کمپلکس تشکیل دهند که اثر منفی بر تورم گرانول‌ها دارد (Karkalas et al. 1995). تاکنون روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری دمای ژلاتینه شدن رواج یافته که عبارتند از: روش تأثیر محلول هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ درصد و روش‌های نورسنجی، میکروسکوپی و پالروگرافی (Pourkazem, 2015). دمای ژلاتینه شدن برنج با مدت زمان لازم برای پخت دانه ارتباط داشته و بر اساس میزان حل شدن دانه‌های برنج در محیط قلیا و با دادن نمره در تک‌تک دانه‌ها تعیین می‌شود (Little, 1958). آزمایش قلیایی یک سنجش استاندارد برای طبقه‌بندی انواع برنج به انواع GT با نشاسته بالا، متوسط یا پایین است. ارزش پخش قلیایی (ASV) با استفاده از محلول هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ دهم درصد و مقیاس ۰-۷ نمره گذاری می‌شود (Little., 1958). مطالعات قبلی روی برنج نشان داده است که ASV پایین (۱-۲) نشان‌دهنده GT نشاسته بالا است، در حالی که ASV ۶-۷ نشان‌دهنده GT نشاسته پایین است (Bhattacharya et al., 2010; Mariotti et al., 2019; Griebel et al., 1978). حبیبی و همکاران با مقایسه میانگین داده‌های حاصل از دو روش گرما سنجی افتراقی و لیتل بیان داشت اگرچه روش لیتل به‌عنوان یک روش سریع و مقرون‌به‌صرفه برای بررسی خواص ژلاتینی شدن در محیط قلیایی و ثبت نمره است و معیاری سریع برای تفکیک و دسته‌بندی ارقام به سه گروه با درجه حرارت ژلاتینی پایین، متوسط و بالا است، اما با مشاهده تفاوت از نظر خواص ژلاتینی در حین پخت ارقام مختلف خصوصاً ارقام محلی ایرانی که بر اساس روش لیتل در گروه متوسط قرار می‌گیرند، ضرورت دارد فن دقیق‌تری برای بررسی نحوه ژلاتینی شدن و متعاقب آن پیش‌بینی نحوه پخت مورد استفاده قرار گیرد. گرماسنجی افتراقی، مبتنی بر

۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. پس از انجام واکنش PCR، آشکارسازی باندها و مشاهده باندهای حاصل از الکتروفورز، از ژل آگارز ۳ درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید، و آشکارسازی باندهای حاصله زیر نور ماوراءبنفش با استفاده از دستگاه ژل داک صورت پذیرفت. برای اطمینان از صحت نتایج، آزمایشات دو بار تکرار و حضور یا عدم حضور باندهای مرتبط با ژن‌ها به‌ترتیب با یک و صفر امتیازدهی گردید. محاسبات آماری این مطالعه با استفاده از نسخه ۲۶ نرم‌افزار IBM SPSS statistics و نسخه ۲۰۱۹ نرم‌افزار Microsoft Excel انجام شده و برای تحلیل همبستگی قابل مشاهده بین ژن‌ها و فنوتیپ‌ها، از مدل خطی تعمیم‌یافته رگرسیون لجستیک استفاده شد.

نتایج و بحث

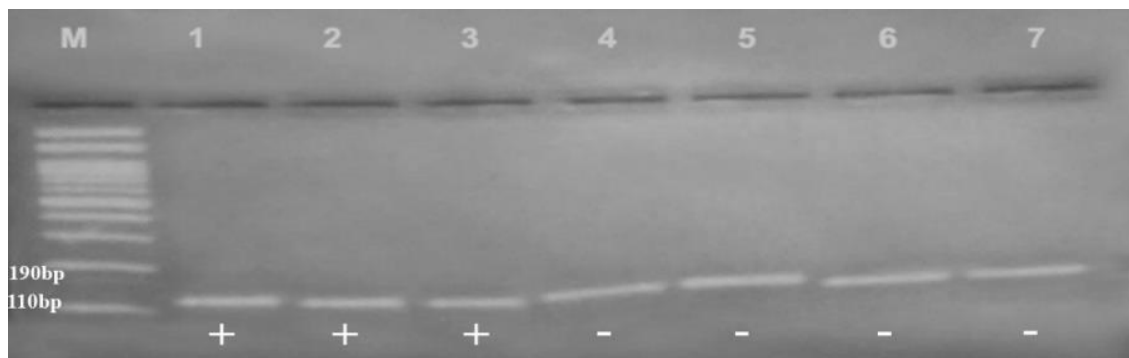
سنجش کیفی و فنوتیپی در بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش با روش هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ دهم درصد (جدول ۱) نشان داد که تفکیک ژنوتیپ‌ها از نظر درجه حرارت ژلاتینه شدن در بین ۵۰ ژنوتیپ مورد مطالعه، به‌صورت زیر است: میزان درجه حرارت ژلاتینه شدن در ۳۳ مورد بین ۳ تا ۵ و در ۱۷ مورد خارج از این حدود است. بیش از ۹۰ درصد ارقام محلی خوش کیفیت ایرانی از نوع درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط (GT; Gelatinization Temperature) هستند و ژنوتیپ‌های معطر عنبربو، هاشمی، علی‌کاملی، دمسپاه و باسمانی پاکستان در این گروه قرار دارند. نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد بررسی رمضانپور و همکاران (۲۰۱۵) با روش هیدروکسید پتاسیم نشان داد نمونه‌ها از لحاظ دمای ژلاتینی شدن در گستره بین ۳/۵ تا ۷ قرار داشته و رقم نعمت از دمای ژلاتینه شدن ۷ برخوردار بود، که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. در حقیقت نتایج هر دو تحقیق نشان از پایین بودن دمای ژلاتینی شدن در این ارقام می‌باشد. همچنین در آن پژوهش برخی ارقام مانند طارم هاشمی و کادوس، پایین‌ترین GT به‌ترتیب ۲/۰۳ و ۳/۵۰ را داشتند که با نتایج تحقیق حاضر اندکی مغایرت داشت. طبق شاخص‌های کیفیت، هر چه رتبه GT تیماری پایین‌تر باشد، دمای ژلاتینی شدن بالاتری داشته و زمان لازم برای پخت آن طولانی‌تر می‌شود و موجب سفت و سخت شدن دانه برنج پس از پخت می‌شود (Ramezanpour et al., 2015). خراسانی و همکاران درجه حرارت ژلاتینه شدن رقم سپیدرود را ۳/۵ ارزیابی کردند که با نتایج این تحقیق مغایرت داشت (Khorasani et al., 2020). صبوری و همکاران دمای ژلاتینی شدن ارقام سپیدرود و عنبربو را به‌ترتیب ۷ و ۳ تعیین کردند که تقریباً مشابه نتایج تحقیق حاضر بود. در پژوهشی دمای ژلاتینه شدن با میزان انتشار قلیایی (ASV) برنج اندازه گیری شد. پس از ۲۳ ساعت، نمرات (۱،۲) - زیاد، ۳- متوسط به زیاد، ۴، ۵- متوسط، ۶، ۷- (پایین) بر اساس مشاهده داده شد. برنج‌هایی با GT پایین به‌طور کامل متلاشی می‌شوند، برنج‌هایی با GT متوسط در تجزیه آهسته بودند. در حالی که برنج‌هایی با GT بالا تحت‌تأثیر قرار نگرفتند (Sabouri et al., 2015). در تحقیقی فنوتیپ و ارزش پخش قلیایی در

۳- فوجی مینوری، ۴- DCL، ۵- IR36، ۶- IR64، ۷- کادوس، ۸- کشوری، ۹- کوهسار، ۱۰- لاین ۷، ۱۱- لاین ۲۳، ۱۲- مدرسی ۱، ۱۳- مدرسی ۵، ۱۴- روشن M، ۱۵- صالح، ۱۶- سپیدرود، ۱۷- تنپ، ۱۸- زینت بود. که از کلکسیون مؤسسه تحقیقات برنج کشور تهیه شده و کشت گردیدند (جدول ۱). در مرحله رویشی برگ‌های جوان تمامی ژنوتیپ‌ها از گیاهچه‌های دو هفته‌ای برش داده شده و تا زمان انجام آزمایشات ژنتیکی در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. جهت انجام آزمون‌های مولکولی، استخراج DNA از نمونه‌های برگ جوان به‌روش CTAB^۲ (دویل، ۱۹۹۰) انجام شد (Doyle and Doyle., 1990). سپس برای تعیین کیفیت DNA استخراج‌شده، از نحوه تشکیل نوآرها بر روی ژل آگارز ۳ درصد در الکتروفورز به‌عنوان معیاری برای تعیین کیفیت DNA استفاده گردید. روش اسپکتروفتومتر بر پایه جذب نور UV و طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر نیز به‌عنوان روشی مکمل برای تعیین کمیت (غلظت) DNA، مورد استفاده قرار گرفت. جهت ارزیابی درجه حرارت ژلاتینه شدن با روش هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ درصد مطابق روش لیتل و همکاران ابتدا دانه‌های برنج در ظرف حاوی هیدروکسید پتاسیم به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای حدود ۳۰ درجه قرار داده شده و در مرحله بعد مقدار عددی ارزش پخش قلیایی^۱ از نمره ۱ تا ۷ برای تعیین درجه حرارت ژلاتینی شدن محاسبه شد. نشانه‌های گسترش در قلیا متشکل از متورم شدن، شکستن دانه‌ها، تشکیل هاله کامل، عدم گسترش و پخش شدن دانه‌ها است. لازم به ذکر است که دامنه دمایی و مقدار گسترش در قلیا به‌ترتیب شامل درجه حرارت پایین (۶۹-۵۵ درجه سانتی‌گراد) (۷-۶)، درجه حرارت متوسط (۷۴-۷۰ درجه سانتی‌گراد) (۵-۳)، درجه حرارت بالا (۷۹-۷۵ درجه سانتی‌گراد) (۲-۱) است. در نتیجه هر چه رتبه پایین‌تر باشد، نمونه دمای ژلاتینی شدن بالاتری دارد و زمان لازم برای پخت آن نیز طولانی‌تر می‌شود. برای غربالگری نمونه‌ها با استفاده از نشانگرهای عملکردی، از یک جفت آغازگر وابسته به درجه حرارت ژلاتینه شدن با توالی (F: ۵'-CATATGGTGCACCTCAATGCCCAG-3' و R: ۳'-TTTGGATCCGCCACCAACGACC-۵') استفاده شد (Li et al., 2017). پس از تعیین غلظت، نمونه‌های DNA برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و با استفاده از آغازگرهای نشانگرهای عملکردی شامل ۴۰ نانوگرم DNA الگو ۱۰ میلی مولار dNTPs، دو میلی مولار ۰/۲ MgCl₂ و یک واحد آنزیم Taq پلیمراز در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد. چرخه حرارتی به‌صورت چهار دقیقه و سایر مواد در دستگاه ترموسایکلر با برنامه زمانی خاص واسرشته سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، واسرشته سازی به‌مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد سپس ۳۵ چرخه به‌صورت ۱ دقیقه واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۴۰، ثانیه مرحله اتصال آغازگر بسته به دمای اتصال هر آغازگر، یک دقیقه مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه بسط نهایی در دمای

ارزش پخش دانه‌های برنج در محلول قلیایی ۱/۷ درصد هیدروکسید پتاسیم (KOH) با دمای ژلاتینه شدن همبستگی زیادی دارد. برنج با دمای ژلاتینه شدن پایین به راحتی در محلول هیدروکسید پتاسیم تجزیه شد که ارزش پخش قلیایی بالایی را نشان داد. نمونه‌های با دمای ژلاتینه شدن متوسط به‌طور نسبی و دمای ژلاتینی شدن بالا بدون تجزیه در هیدروکسید پتاسیم بودند که به ترتیب مقادیر پخش قلیایی متوسط و کم را نشان دادند (Graham., 2002). ارقام برنج با دمای ژلاتینه شدن بالا نیاز به آب و زمان پخت بیشتری نسبت به ارقام با دمای ژلاتینه شدن پایین یا متوسط دارند (Karkalas et al., 1995). آغازگر مربوط به درجه حرارت ژلاتینه شدن Alk انتظار بر این بود که نشانگر بتواند بر اساس تفاوت اندازه باند، توان توجیه فنوتیپ موردنظر را داشته باشد. بدین منظور برای اندازه‌گیری دمای ژلاتینی از روش لیتل و همکاران (1958) استفاده شد و بعد از PCR، الکتروفورز و مشاهده باندها، بر اساس اندازه باندها با نمره یک و صفر امتیازدهی شد. در نهایت مشخص گردید اندازه باند نمره ژلاتینه شدن ۳-۵ (به معنای درجه حرارت ژلاتینه شدن ۷۴-۷۰)، ۱۱۰ جفت باز، و نمره ژلاتینه شدن ۵-۷، ۱۹۰ جفت باز است. بدین ترتیب با نتایج حاصل شده می‌توان دریافت که نشانگر مورد استفاده توانسته است بین ژنوتیپ‌های با نمره ژلاتینه شدن متوسط (۳-۵) با سایرین تمایز قائل شود. درجه حرارت ژلاتینی شدن ارقام برنج عموماً بین ۶۲/۵ تا ۹۷ درجه سانتی‌گراد متغیر است و شامل درجه حرارت ژلاتینی شدن بالا (۷۴ تا ۸۰ درجه سانتی‌گراد) با نمره ژلاتینه شدن ۱-۲، درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط (۷۰ تا ۷۴ درجه سانتی‌گراد) با نمره ژلاتینه شدن ۳-۵، درجه حرارت ژلاتینه شدن کم (کمتر از ۷۰ درجه سانتی‌گراد) با نمره ژلاتینه شدن ۶-۷ (شکل ۱) (Juliano., 2010).

سورگوم و رابطه آن با ژلاتینه شدن نشاسته بررسی شد ده جهش سورگوم با فنوتیپ‌های با ارزش پخش قلیایی بالا شناسایی شد. جهش ASV طیف وسیعی از دمای ژلاتینه شدن نشاسته را به نمایش گذاشت. نمرات ASV بالا با آنتالپی‌های پایین‌تر و درجه حرارت ژلاتینه شدن بالا در ارتباط بود (Griebel et al., 2019).

نورمند و مارشال (1989) دو روش پرکاربرد برای تعیین GT عبارتند از: کالریمتری اسکن تفاضلی (DSC) و مقدار پخش قلیایی (ASV)، اگرچه DSC یک تکنیک دقیق است، اما روشی پرهزینه است و نمی‌توان از آن برای غربالگری هزاران نمونه در برنامه‌های اصلاح برنج استفاده کرد. در مقابل، روش ASV مبتنی بر تجزیه دانه‌های نشاسته موجود در هسته برنج در محلول هیدروکسید پتاسیم رقیق است (Normand and Marshall., 1989). شارما و باتاچاریا در تحقیقی قابلیت هضم قلیایی با محلول هیدروکسید پتاسیم ۱/۷ دهم درصد بررسی کردند و قابلیت هضم قلیایی ۶۰ رقم بین ۷-۱/۰۸ بود. از بین ۶۰ رقم، ۳۴ رقم با درجه حرارت ژلاتینه شدن بالا، ۱۹ رقم درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط و ۷ رقم با درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین بودند. و دریافتند اهمیت هضم قلیایی نشانه‌ای از دمای نهایی ژلاتینه شدن است (Bhattacharya et al., 1978; Sharma, and Jaiswal., 2020). چموتای و همکاران درجه حرارت ژلاتینه شدن را به ۳ گروه طبقه‌بندی کردند، امتیاز ۱-۳، ۴-۵ و ۶-۷ به ترتیب برای GT بالا، GT متوسط و GT پایین بود. هر گروه از GT با دمای مورد نیاز برای پخت برنج مطابقت داشتند (Chemutai et al., 2016). گراهام دریافت برنج با درجه حرارت ژلاتینه شدن بالا به دمای ۷۴-۷۹ درجه سانتی‌گراد، برنج با درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط به دمای ۷۴-۷۰ درجه سانتی‌گراد و برنج با درجه حرارت ژلاتینه شدن پایین به دمای کمتر از ۶۵ درجه سانتی‌گراد نیاز دارد. درجه



شکل ۱- نمونه بانددهی با نشانگر Alk. در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه روی ژل آغاز ۳ درصد علامت مثبت برای ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینه شدن ۳-۵ شامل ۱- عنبربو ایلام، ۲- بینام، ۳- حسن سرایی، M: نشانگر اندازه 100 bp و علامت منفی برای ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ۶-۷ شامل ۴- گوهر، ۵- لاین ۷، ۶- تیسو و ۷- زینت می‌باشند.

Figure 1. Bonding sample with Alk Marker. In the studied rice genotypes on 3% agarose gel, positive sign for genotypes with gelatinization temperature of 3-5 including 1- Anbarbo Ilam, 2- Binam, 3- Hassan Sarai, M: 100 bp Ladder and negative sign for genotype. Those with a temperature of 6-7 include 4- Gem, 5- Line 7, 6- Tisa and 7- Zenith.

جدول ۱- مقایسه‌ی نتایج ارزیابی فنوتیپی و نشانگرهای مولکولی برای صفت عطر در ژنوتیپ‌های برنج

Table 1. Comparison phenotyping and molecular markers results for fragrance trait in rice genotypes

Genotype	ژنوتیپ	Type	تیپ	نمره ژلاتینه شدن Gelatinization score	Alk
AbjiBooji	آبجی بوجی	local	بومی	3.92	0
Ahlami Tarom	اهلمی طارم	local	بومی	3.33	0
Ali Kazemi	علی کاظمی	local	بومی	3.75	0
Anam	آنم	improved	اصلاح شده	3.75	0
Anbarboo Ilam	عنبربو ایلام	local	بومی	4.33	0
B115	B115	improved	اصلاح شده	3.5	0
Bejar	بجار	improved	اصلاح شده	6.75	1
Binam	بی‌نام	local	بومی	4.25	0
DCL	DCL	improved	اصلاح شده	3.66	0
Deylamani	دیلمانی	local	بومی	3.42	0
Dom Sefid	دم سفید	local	بومی	4.33	0
Dom Siah	دم سیاه	local	بومی	4.56	0
Dom Zard	دم زرد	local	بومی	3.75	0
Dorfak	درفک	improved	اصلاح شده	4.17	0
Fajr	فجر	improved	اصلاح شده	7	1
Fuji minouri	فوجی مینوری	improved	اصلاح شده	5.58	1
Gharib	غریب	local	بومی	4.17	0
Gharib Siah Reyhani	غریب سیاه ریحانی	local	بومی	4.25	0
Ghodsi	قدسی	improved	اصلاح شده	4.5	0
Gohar	گوهر	improved	اصلاح شده	7	1
Gohar Mutant	گوهر جهش یافته	improved	اصلاح شده	3.5	0
Hashemi	هاشمی	local	بومی	3.33	0
Hassan Sarae	حسن سرانی	local	بومی	4.4	0
Hassani	حسنی	local	بومی	5.52	1
IR36	IR36	improved	اصلاح شده	7	1
IR64	IR64	improved	اصلاح شده	6	1
Kadoos	کادوس	improved	اصلاح شده	4.08	0
Keshvari	کشوری	improved	اصلاح شده	4.25	0
Koohsar	کوهسار	improved	اصلاح شده	4.17	0
Line 7	لاین 7	improved	اصلاح شده	7	1
Line23	لاین 23	improved	اصلاح شده	3.5	0
Modarresi 1	مدرسی 1	improved	اصلاح شده	6.5	1
Modarresi 2	مدرسی 2	improved	اصلاح شده	4.33	0
Modarresi 3	مدرسی 3	improved	اصلاح شده	7	1
Modarresi 4	مدرسی 4	improved	اصلاح شده	3.16	0
Modarresi 5	مدرسی 5	improved	اصلاح شده	4.25	0
Modarresi 6	مدرسی 6	improved	اصلاح شده	4.41	0
Mohammadi Chaparsar	محمدی چپرسر	local	بومی	4	0
Nemat	نعمت	improved	بومی	7	1
Rash	رش	improved	اصلاح شده	3.83	0
RoshanM	روشن 7	improved	اصلاح شده	7	1
Saleh	صالح	improved	اصلاح شده	7	1
Sepidrood	سپیدرود	improved	اصلاح شده	7	1
Shahpasand	شاه پسند	local	بومی	4.45	0
T196	T196	local	بومی	3.16	0
Tarom Mahalli	طارم محلی	local	بومی	4.46	0
Tetep	تتپ	improved	اصلاح شده	5.58	1
TH1	TH1	improved	اصلاح شده	4.41	0
Tisa	تیسا	improved	اصلاح شده	6.25	1
Zenit	زنیت	improved	اصلاح شده	7	1

جدول ۲- درصد صحت طبقه‌بندی الگوی رگرسیون لجستیک، متغیرهای معادله، متغیرهای بیرون از معادله، خلاصه مدل
Table 2. The classification accuracy percentage of the logistic regression model, variables in the equation, variables outside the equation, summary of the model

درصد صحت پیش‌بینی Prediction accuracy percentage	ALK		ژنوتیپ Genotype			
	6-7	3-5				
100.0	170	033	3-5			
66.0	درصد کل Overall Percentage					
	ضریب بتا Beta coefficient	خطای استاندارد standard error (S.E.)	والد Wald	درجه آزادی Df	معنی‌داری Sig.	Exp (B)
ضریب ثابت Constant	-.663	.299	4.936	1	.026	.515
متغیرهای مستقل Independent variables		نمره Score		درجه آزادی Df	معنی‌داری Sig.	
GT		50.000		1	.000	
Overall Statistics		50.000		1	.000	
مرحله Step	من‌های دو لگاریتم لایکلیهود -2 Log likelihood			ضریب R کاکس و اسنل Cox & Snell R Square	ضریب R نگلکرک Nagelkerke R Square	
1	.000			.723	1.000	

شاخص حداکثر درست نمایی (0.000^a) برازش الگوی رگرسیون لجستیک مناسب است.

در مجموع نتایج حاصل از رگرسیون لجستیک وجود ارتباط میان نشانگر و شاخص درجه حرارت ژلاتینی را نشان داد. بیانگر این است که مدل رگرسیون لجستیک از کارایی و دقت بالایی در تعیین ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینی شدن ۳-۵ از ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینی ۶-۷ برخوردار است و نشانگرهای ذکر شده را می‌توان از مهم‌ترین متغیرهای مرتبط با درجه حرارت ژلاتینه شدن دانست و از نتایج این مطالعه هم می‌توان در پروژه‌های به‌نژادی برای تشخیص ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینی شدن متوسط استفاده کرد.

اهمیت درجه حرارت ژلاتینه شدن در کیفیت پخت، تعیین دقیق درجه حرارت ژلاتینی شدن در ارزیابی کیفیت برنج لازم است؛ لذا با استفاده از روش هیدروکسید پتاسیم یک و هفت درصد می‌توان مقدار دقیق درجه حرارت ژلاتینه شدن را به‌دست‌آورد و سبب صرفه‌جویی در هزینه‌های بالای سایر روش‌ها مانند روش گرماسنجی افتراقی شد. غربالگری فنوتیپی نمونه‌های مورد مطالعه برای صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن با روش هیدروکسید پتاسیم یک و هفت دهم درصد نشان داد که این روش کارایی لازم را جهت متمایز نمودن ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینی شدن مختلف را دارد و پتانسیل لازم را جهت به‌کارگیری در پروژه‌های مختلف به‌منظور تعیین فنوتیپ و ارزیابی وضعیت ژلاتینه شدن ژنوتیپ‌های برنج را دارا می‌باشد.

ژن ALK که سنتاز نشاسته محلول (II) را رمز می‌کند مسئول تغییرات در GT برنج است (Fiaz et al., 2019). درجه حرارت ژلاتینی شدن با فعالیت آنزیمی SSSII-۳ در ALK کنترل می‌شود در نتیجه جایگزینی بارها در ALK باعث تغییرات اسید آمینه می‌شود. دما بر درجه حرارت ژلاتینی شدن تأثیر دارد و هر چه درجه حرارت در طول رشد بذر بالاتر باشد، دمای ژلاتینه شدن نشاسته حتی در غیاب SSSIIa بالاتر می‌رود، از دست دادن SSSIIa دمای ژلاتینه شدن نشاسته را حتی در دمای بالا در طول رشد بذر کاهش می‌دهد. یکی از دلایل بالا بودن دمای ژلاتینه شدن ممکن است فراوانی نسبتاً کمتر پروتئین BEIIb در دمای بالا باشد که باعث افزایش

یو ام و تانیاسیریوات (2020) برای شناسایی واریانس آلی ژن مومی و همچنین منبع سنتاز نشاسته محلول (SS) در شصت رقم برنج بومی از یک نشانگر توالی چند شکلی تقویت شده (RM190F/GBSSW2R/AccI) (CAPS) استفاده شد. در نتیجه بیش از نیمی از ارقام برنج در GT بالا و تنها ۷ رقم با GT پایین یافت شد. نشانگر RM190 هشت آلل با ژنوتیپ هم و هتروزیگوت تولید کرد. در حالی که نشانگر RM314 پنج آلل با ژنوتیپ هم و هتروزیگوت تولید و نشانگر CAPS سه گروه ژنوتیپ شامل GG، TT و GT را تولید کرد (UM and Thanyasiriwat., 2020). در مطالعه کاروناتیلاکا و همکاران (2022)، از ۵۴ رقم برنج محلی استفاده کردند و تجزیه و تحلیل ژنتیکی مبتنی بر نشانگر را برای سه صفت محتوای آمیلوز، دمای ژلاتینه شدن، و عملکرد. انجام داده و سپس تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از داده‌های کمی صفات مختلف زراعی و فیزیکیوشیمیایی برای شناسایی همبستگی و پتانسیل بهبود این صفات انجام شد. دریافتند سطح محتوای آمیلوز به طور قابل توجهی با دمای ژلاتینه شدن مرتبط است که نشان می‌دهد AC و GT همبستگی مثبت دارند. نشانگرهای DNA نشانگرهای SSIHa و Seq1-2 الگوهای تک شکلی را نشان دادند که اساس ژنتیکی گونه‌های برنج آزمایش‌شده را نشان می‌دهد. گونه‌های برنج پرمحصول موجود می‌توانند با موفقیت برای افزایش محتوای آمیلوز و در عین حال کاهش سطح دمای ژلاتینه شدن از طریق راهبردهای اصلاحی به‌کار گرفته شوند (Karunathilaka., 2022). نتایج آزمون آماری درجه حرارت ژلاتینی شدن به‌صورت زیر است:

مقدار Alk در ۳۳ مورد بین ۳ تا ۵ و در ۱۷ مورد به‌غیر از این حدود است. با توجه به مقدار درصد کل، ۶۶ درصد در فاصله ۳-۵ هستند و توسط نشانگر به‌خوبی تشخیص داده شده‌اند. در واقع معادله رگرسیون به‌صورت $\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 x$ می‌باشد که طبق جدول (۲) مقدار β_0 برابر -۰.۶۶۳ است. با توجه به مقدار p که ۰/۰۲۶ از ۵ درصد کوچک‌تر است این ضریب رگرسیون معنادار است. همچنین با توجه به مقدار p که ۰/۰۰ از ۵ درصد کوچک‌تر است ضریب ژلاتینه شدن نیز در مدل معنادار است. اعداد ۰/۷۲۳ و ۱/۰۰۰ نشان از مناسب بودن مدل رگرسیون هستند. در نتیجه با توجه به صفر بودن

ناشی از تغییر در توالی SSIIa است. اطلاعات این تحقیق توسعه نشانگرهای DNA عملکردی در انتخاب به کمک نشانگر را برای انتخاب لاین‌های برنج با کیفیت پخت مناسب به منظور شناسایی ژنوتیپ بر اساس مقادیر پخش قلیایی را تسهیل می‌کند. اهمیت درجه حرارت ژلاتینه شدن در کیفیت پخت، تعیین دقیق درجه حرارت ژلاتینی شدن در ارزیابی کیفیت برنج لازم است؛ لذا با استفاده از روش هیدروکسید پتاسیم یک و هفت درصد می‌توان مقدار دقیق درجه حرارت ژلاتینه شدن را به دست آورد و سبب صرفه جویی در هزینه‌های بالای سایر روش‌ها مانند روش گرماسنجی افتراقی شد. غربالگری فنوتیپی نمونه‌های مورد مطالعه برای صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن با روش هیدروکسید پتاسیم یک و هفت درصد نشان داد که این روش کارایی لازم را جهت متمایز نمودن ژنوتیپ‌های با درجه حرارت ژلاتینی شدن مختلف را دارد و پتانسیل لازم را جهت به کارگیری در پروژه‌های مختلف به منظور تعیین فنوتیپ و ارزیابی وضعیت ژلاتینه شدن ژنوتیپ‌های برنج را دارا است. سنجش ارزش پخش قلیایی اصلاح شده (ASV) می‌تواند برای غربالگری ژنوتیپ‌های برنج و سایر غلات مانند سورگوم با ویژگی‌های کیفیت نشاسته اصلاح شده استفاده شود. در این مطالعه، گونه گوهر جهش یافته ارزش پخش قلیایی و نمره ژلاتینه شدن ۳/۵ را نشان داد ژنوتیپ‌های اصلاح شده فجر، گوهر، لاین ۷، مدرسی ۳، روشن M، صالح، سپیدرود، زینت و ژنوتیپ بومی نعمت با نمره ۷ و درجه حرارت ژلاتینه شدن بالاتر را نشان دادند. تغییرات در ژلاتینه شدن نشاسته می‌تواند بر ساختار محصولات پخت شده و قابلیت هضم نشاسته و ویژگی‌های تغذیه‌ای تأثیر بگذارد. شناسایی ژنوتیپ‌های برنج با ویژگی‌های نشاسته اصلاح شده مزیت بزرگی برای صنایع مختلف برای توسعه واریته‌هایی با درجه حرارت ژلاتینه شدن کم و بهبود بازده انرژی خواهد بود. توسعه روش کم هزینه ASV به شناسایی ژن‌ها و ژنوتیپ‌های برنج، سورگوم و سایر غلات و بهبود ساختار و کیفیت نشاسته کمک می‌کند.

تعداد آمیلوپکتین می‌شود. دماهای متفاوت ژلاتینه شدن نشاسته آندوسپرم در اکثر ارقام برنج به دلیل پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن سنتاز نشاسته SSIIa در ارقام برنج است که به طور قابل توجهی فعالیت SSIIa را کاهش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش زنجیره‌های کوتاه آمیلوپکتین می‌شود. تنوع SNP عامل اصلی تغییر GT است. تا به امروز، حداقل سه آلل ALK مسئول تنوع GT در بین ارقام برنج شناسایی شده‌اند. آلل ALKc/SSIIai با فعالیت بالای سنتاز نشاسته محلول GT (SSIIa) IIa را کنترل می‌کند، سنتاز نشاسته محلول (SSIIa) نقش مهمی در بیوسنتز آمیلوپکتین ایفا می‌کند. سطح بیان پایین تر ALKb در مقایسه با ALKa ممکن است منجر به افزایش زنجیره‌های کوتاه آمیلوپکتین شود و بر خواص حرارتی تأثیر بگذارد. در نتیجه، عملکرد دو آلل با GT کم متفاوت است و توزیع ALKb بسیار گسترده تر از ALKa در میان زیر جمعیت‌های برنج است. در این مطالعه، تنوع فنوتیپی نمونه‌های مورد مطالعه برای صفات درجه حرارت ژلاتینه شدن و کارایی نشانگرهای عملکردی مرتبط با درجه حرارت ژلاتینه شدن (alk) در تخمین تظاهر صفت در ژرم پلاسما مورد مطالعه بررسی شد. نشانگر Alk توانست ژنوتیپ‌های با دمای ژلاتینه شدن متوسط را از هم تفکیک نماید. با توجه به اینکه بیش از ۹۰ درصد ارقام محلی خوش کیفیت ایرانی از نوع GT متوسط هستند. همچنین در ایران برنج‌های با درجه حرارت ژلاتینه شدن متوسط ترجیح داده می‌شود و ارقام معطر و خوش طعم مهم مانند عنبربو، هاشمی، علی کاظمی، دمسیاه در این گروه قرار دارند می‌تواند مورد استفاده بهمنزادگران قرار گیرد. در این تحقیق دریافتیم ۱۷ رقم دارای GT کمتر از ۷۰ درجه سانتی گراد و بقیه در گروه بالاتر از ۷۰ تا ۷۴ درجه سانتی گراد بودند. این استثناها نشان می‌دهد که عوامل مؤثر بر GT برنج پیچیده است که تحقیقات بیشتر را ایجاد می‌کند. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل تحقیق حاضر نشان داد که نشانگرهای SSIIa بسیار با صفت (GT) مرتبط هستند و تفاوت در قابلیت هضم قلیایی و ساختار ریز آمیلوپکتین بین واریته‌های بومی و اصلاح شده یا جهش یافته

منابع

- Amom, T., & Nongdam, P. (2017). The use of molecular marker methods in plants: a review. *International Journal of Current Research and Review*, 9(17), 1-7.
- Ball, S. G., & Morell, M. K. (2003). From bacterial glycogen to starch: understanding the biogenesis of the plant starch granule. *Annual review of plant biology*, 54(1), 207-233.
- Bao, J. (2019). Rice milling quality. In *Rice* (pp. 339-369). AACC International Press.
- 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.
- Bhattacharya, K. R., Sowbhagya, C. M., & Indudhara Swamy, Y. M. (1978). Importance of insoluble amylose as a determinant of rice quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(4), 359-364.
- Bhattacharya, K. R. (1979). Gelatinization temperature of rice starch and its determination. *Chemical aspects of rice grain quality*, 231-269.
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry*, 4th ed. Springer, Berlin Heidelberg.
- Bohra, A., Bharadwaj, C., Radhakrishnan, T., Singh, N. P., & Varshney, R. K. (2019). Translational genomics and molecular breeding for enhancing precision and efficiency in crop improvement programs: Some examples in legumes. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 79(Sup-01), 227-240.

- غربالگری بیوشیمیایی و مولکولی ژنوتیپ‌های مختلف برنج برای صفت درجه حرارت ژلاتینه شدن نشاسته ۱۶۲
- Chemutai, L. R., Musyoki, M. A., Kioko, W. F., Mwenda, N. S., Muriira, K. G., & Piero, N. M. (2016). Genetic diversity studies on selected rice (*Oryza sativa* L.) genotypes based on gel consistency and alkali digestion. *J Rice Res*, 4(172), 2.
- Concepcion, J. C. T., Proud, C., & Fitzgerald, M. A. (2020). Genomics and molecular markers for rice grain quality: A review. *The Future of Rice Demand: Quality Beyond Productivity*, 425-444.
- Conner, T. (2004). Precision breeding: A new genetic technique providing international opportunities for crop improvement. *Seed Quest*. Available online: <https://www.seedquest.com> (accessed on 15 April 2020).
- Custodio, M. C., Cuevas, R. P., Ynion, J., Laborte, A. G., Velasco, M. L., & Demont, M. (2019). Rice quality: How is it defined by consumers, industry, food scientists, and geneticists?. *Trends in food science & technology*, 92, 122-137.
- Datta, A., Ullah, H., & Ferdous, Z. (2017). Water management in rice. *Rice production worldwide*, 255-277.
- Cruz, N. D., & Khush, G. S. (2000). Rice grain quality evaluation procedures. *Aromatic rices*, 3, 15-28.
- Doyle, J. J. (1990). Isolation of plant DNA from faesh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Eliasson, A. C. (Ed.). (2004). *Starch in food: Structure, function and applications*. CRC press.
- Fiaz, S., Lv, S., Barman, H. N., Sahr, T., Jiao, G., Wei, X., ... & Hu, P. (2019). Analysis of genomic regions governing cooking and eating quality traits using a recombinant inbred population in rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Agric. Biol*, 22, 611-619.
- Gao, Z., Zeng, D., Cui, X., Zhou, Y., Yan, M., Huang, D., ... & Qian, Q. (2003). Map-based cloning of the ALK gene, which controls the gelatinization temperature of rice. *Science in China Series C: Life Sciences*, 46, 661-668.
- Graham, R. (2002). A proposal for IRRI to establish a grain quality and nutrition research center (No. 2169-2019-1615).
- Griebel, S., Webb, M. M., Campanella, O. H., Craig, B. A., Weil, C. F., & Tuinstra, M. R. (2019). The alkali spreading phenotype in Sorghum bicolor and its relationship to starch gelatinization. *Journal of Cereal Science*, 86, 41-47.
- Habibi., Yahiizadeh., Hosseini Chalanteri., Tadjadi Talab., & Kobri. (2012). Investigating the gelatinization properties of Iranian rice cultivars by differential calorimetry. *Cereal Research*, 2(2), 95-105 (In Persian).
- He, P., Li, S. G., Qian, Q., Ma, Y. Q., Li, J. Z., Wang, W. M., ... & Zhu, L. H. (1999). Genetic analysis of rice grain quality. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 502-508.
- Jin, F., Hua, S., Xu, H., Yang, L., Jiang, Y., Xu, Z., & Shao, X. (2018). Comparisons of plant-type properties and grain quality in filial generations of Indica× Japonica hybridization grown in different rice-growing areas of China. *International Journal of Agriculture and Biology*, 20(5), 959-965.
- 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.
- Juliano, B. O. (2010). *Grain quality of Philippine rice*. Philippine Rice Research Institute.
- Karkalas, J., Ma, S., Morrison, W. R., & Pethrick, R. A. (1995). Some factors determining the thermal properties of amylose inclusion complexes with fatty acids. *Carbohydrate Research*, 268(2), 233-247.
- Thilakarathne, B. A. A. S., Karunathilaka, K. M. H. L., Rathnayake, P. G. R. G., Udawela, U. A. K. S., & Sooriyapathirana, S. D. S. S. (2022). Assessment of Marker-trait Associations for Amylose Content, Gelatinization Temperature and Yield in Sri Lankan Rice Varieties.
- Keerthivarman, K., S. J. Hepziba, R. P. Gnanmalar and J. Ramalingam. (2019). Grain quality valuation of rice (*Oryza sativa* L.) landrace collection from Tamil Nadu. *International Journal of Chemical Studies*. 7 (3): 4125-4127.
- Khorasani, I., Fahmideh, L., Babaiyan, N., Ranjbar, G., & Najafi M. A. (2020). Investigating the yield and quality traits of some rice genotypes (*Oryza sativa* L.) (In Persian).
- 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.
- Little, R. R. (1958). Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. *Cereal Chem.*, 35, 111-126.
- Mariotti, M., Fongaro, L., & Catenacci, F. (2010). Alkali spreading value and image analysis. *Journal of Cereal Science*, 52(2), 227-235.
- Mubarak, A., Safarzaei, A., Shakuri, Sh., Heydari Majd, M. (2012). Chemistry of food carbohydrates (translation). *Publications of Zahedan University of Medical Sciences*. (In Persian).
- Normand, F. L., & Marshall, W. E. (1989). Differential scanning calorimetry of whole grain milled rice and milled rice flour. *Cereal chem*, 66(4), 317-320.
- 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.
- Perry, P. A., & Donald, A. M. (2002). The effect of sugars on the gelatinisation of starch. *Carbohydrate Polymers*, 49(2), 155-165.

- Pourkazem, A. (2015). Shalizar 2. "Collection of Rice Bachelor's Student Projects". 407 pages. In Persian.
- Ramezanpour, A., Pirdashti, H., Pirdashti, H., & Bahari Saravi, S. H. (2015). Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No: 107 pp: 8-16 Investigation of the quality traits and their relationship with grain yield in promising lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Applied Field Crops Research*, 28(107), 8-16.
- Sabouri, H., Dadras, A. R., Sabouri, A., & Katouzi, M. (2015). Identification of Quantitative Genes of Protein Content and Gelatinization Temperature in Recombinant Inbred Lines of Cross of Anbarbu× Sepidroud. (In Persian).
- Sharma, A., & Jaiswal, H. K. (2020). Heterosis for yield and grain quality parameters in basmati rice (*Oryza sativa* L.). *Electronic Journal of Plant Breeding*, 11(4), 1106-1115.
- Singh, R. K., Singh, U. S. & Kush, G. S. (2000). Aromatic rices: Rice Grain Quality Evaluation Procedures. *Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd.*, 1: 15-27.
- Tan, Y. F., Li, J. X., Yu, S. B., Xing, Y. Z., Xu, C. G., & Zhang, Q. (1999). The three important traits for cooking and eating quality of rice grains are controlled by a single locus in an elite rice hybrid, Shanyou 63. *Theoretical and Applied Genetics*, 99, 642-648.
- Tarang, A., Kordrostami, M., Shahdi Kumleh, A., Hosseini Chaleshtori, M., Forghani Saravani, A., Ghanbarzadeh, M., & Sattari, M. (2020). Study of genetic diversity in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Central and Western Asia using microsatellite markers tightly linked to important quality and yield related traits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67, 1537-1550.
- 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.
- UM, D., & Thanyasiriwat, T. (2020). Molecular Screening for Amylose Content, Gel Consistency, and Gelatinization Temperature in *Landrace Rice Varieties* (Doctoral dissertation, Kasetsart University).
- Umemoto, T., & Aoki, N. (2005). Single-nucleotide polymorphisms in rice starch synthase IIa that alter starch gelatinisation and starch association of the enzyme. *Functional plant biology*, 32(9), 763-768.
- Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. (2005). Genomics-assisted breeding for crop improvement. *Trends in plant science*, 10(12), 621-630.
- Wang, L. Q., Liu, W. J., Xu, Y., He, Y. Q., Luo, L. J., Xing, Y. Z., ... & 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.
- Wu, Y. P., Pu, C. H., Lin, H. Y., Huang, H. Y., Huang, Y. C., Hong, C. Y., ... & Lin, Y. R. (2015). Three novel alleles of FLOURY ENDOSPERM2 (FLO2) confer dull grains with low amylose content in rice. *Plant Science*, 233, 44-52.
- Zeeman, S. C., Kossmann, J., & Smith, A. M. (2010). Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annual review of plant biology*, 61, 209-234.
- Zhou, Y., Zheng, H., Wei, G., Zhou, H., Han, Y., Bai, X., ... & Han, Y. (2016). Nucleotide diversity and molecular evolution of the ALK gene in cultivated rice and its wild relatives. *Plant Molecular Biology Reporter*, 34, 923-930.