Archive of SID

"مجله علوم زراعی ایران"
جلد بیستم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷

پیش‌بینی گروه‌های آمیلوزی بالا و متوسط بر اساس خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشاسته در ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa* L.)

Prediction of high and intermediate amylose groups based on the starch physicochemical properties in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes

مهرزاد اله‌قلی پور[1]

چکیده

اله‌قلی پور، م. ۱۳۹۷. پیش‌بینی گروه‌های آمیلوزی بالا و متوسط بر اساس خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشاسته در ژنوتیپ‌های برنج (*Oryza sativa* L.). **مجله علوم زراعی ایران. ۲۰(۲): ۱۵۰-۱۳۹.**

به منظور بررسی رابطه بین میزان آمیلوز دانه، دمای ژلاتینی شدن و خصوصیات ویسکوزیتی و شناسایی شاخص‌های شناسایی گروه‌های آمیلوزی متوسط و بالا در ژنوتیپ‌های برنج، تعداد ٤٠ رقم و لاین خالص از دو گروه آمیلوز بالا و آمیلوز متوسط در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار طی دو سال ۱۳۹٤ و ۱۳۹۵ در موسسه تحقیقات برنج کشور - رشت مورد ارزیابی قرار گرفتند. خصوصیات فیزیکوشیمیایی دانه (میزان آمیلوز و دمای ژلاتینی‌شدن) و خصوصیات ویسکوزیتی شامل حداکثر چسبندگی، حداقل چسبندگی، فروریختگی، چسبندگی نهایی، پس‌روی چسبندگی و نرمی و ثبات ژل با استفاده از دستگاه رپید ویسکوآنالایزر بر حسب واحد RVU (Rapid Visco Unit) اندازه‌گیری شدند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد نشان داد که ٤٠ ژنوتیپ برنج بر اساس خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی شدن مجدداً در دو گروه طبقه‌بندی شدند. گروه اول شامل ۱۹ ژنوتیپ با محتوای آمیلوز بالا و گروه دوم شامل ۲۱ ژنوتیپ با محتوای آمیلوز متوسط بودند. طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی شدن، مشابه گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس میزان آمیلوز دانه بود. نتایج حاصل از تجزیه تابع تشخیص به روش رگرسیون گام به گام نشان داد که تنها چسبندگی نهایی و دمای ژلاتینی‌شدن نقش ۱۰۰ درصدی در تفکیک دو گروه آمیلوز بالا و متوسط داشته و با ارزش ویژه ٥٦/۳٥، موثرترین خصوصیات برای تشخیص دو گروه بودند. چسبندگی نهایی و دمای ژلاتینی‌شدن نسبت به اندازه‌گیری مستقیم آمیلوز آسان‌تر و کم‌هزینه‌تر بوده و در زمان کوتاه‌تری انجام شده و در تفکیک و انتخاب ژنوتیپ‌های جدید برای محتوای آمیلوز متوسط و آمیلوز بالا قابل استفاده است. ارزیابی خصوصیات ویسکوزیتی نشاسته و دمای ژلاتینی شدن در ترکیب با روش‌های آماری چندمتغیره، یک روش کاربردی آسان و کم هزینه محسوب می‌شود که دارای پتانسیل خوبی برای طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج است و می‌توان از این روش در برنامه‌های اصلاحی جهت دستیابی به ارقام جدید با کیفیت مناسب دانه استفاده کرد. با توجه به مدل رگرسیونی برازش شده، پیش‌بینی میزان آمیلوز متوسط تا بالا با توجه به ارزش چسبندگی نهایی در دامنه ٤۹۳/۲٥-۲۹۰/٥۰ بر حسب واحد RVU، با ضریب تبیین ۹۷ درصد امکان‌پذیر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آمیلوز، برنج، تابع تشخیص، تجزیه خوشه‌ای و خصوصیات ویسکوزیتی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۰۹/۲۲ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۰٥/۰۳ این مقاله مستخرج از پروژه تحقیقاتی مصوب موسسه تحقیقات برنج کشور با شماره ۱۰۱-۹۱-۰۴-۰۴-۲ می‌باشد.

۱- استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (مکاتبه کننده)
(پست الکترونیک: mehrzadallahgholipour@yahoo.com)

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در کنار رشد سریع جمعیت و بهبود شاخص‌های زندگی در بسیاری از کشورهای آسیایی، نیاز به ارقام جدید برنج با دارا بودن کیفیت پخت و خوراک مناسب، بیشتر احساس می‌شود. بنابراین اصلاح‌کنندگان برنج به‌دنبال تولید ارقام جدیدی هستند که دارای کیفیت پخت مناسبی بوده و تامین‌کننده نیاز تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، تجار و کسبه باشند. در سال‌های اخیر در برنامه‌های اصلاحی برنج، بهبود کیفیت پخت و خوراک یک هدف مهم محسوب می‌شود، زیرا برنج مستقیما و به صورت دانه کامل پخته و مصرف می‌شود (Pang *et al*., 2016). کیفیت پخت برنج تابع نشاسته آن است. نشاسته برنج شامل دو جزء آمیلوز و آمیلوپکتین بوده و ۹۰ درصد دانه برنج را تشکیل می‌دهد (Zhou *et al*., 2002). ویژگی‌های نشاسته مانند میزان آمیلوز و آمیلوپکتین، ویسکوزیتی، دمای ژلاتینی شدن، ثبات و قوام ژل و میزان پروتئین دانه نقش مهمی در کیفیت پخت، خوراک و نوع بافت (نرمی یا سختی پس از پخت) ارقام برنج دارد. کلیه ویژگی‌های نشاسته با درجات مختلف روی کیفیت پخت و خوراک برنج اثر دارند (Bao, 2012). میزان آمیلوز دانه از خصوصیات مهمی است که برای پیش‌بینی کیفیت پخت و خوراک برنج استفاده می‌شود، اما استفاده از آن به تنهایی تعیین کننده کیفیت پخت نیست، زیرا ارقام با میزان آمیلوز مشابه، دارای کیفیت پخت و خوراک متفاوتی هستند و میزان آمیلوز به تنهایی قابلیت تبیین تنوع در کیفیت خوراک و پخت دانه برنج را ندارد. پیشنهاد شده است که ارزیابی کیفیت پخت برنج با استفاده از ترکیبی از خصوصیات حسی، فیزیکی و شیمیایی انجام شود (Bao *et al*., 2006)، اما این فرایند معمولا هزینه‌بر بوده و مستلزم استفاده از آزمون‌گران آموزش‌دیده است. کاگامپانگ و همکاران (Cagampang *et al*., 1973) گزارش کردند که بافت برنج پخته شده را می‌توان با استفاده از خصوصیات شیمیایی و فیزیکی دانه مثل میزان آمیلوز، میزان پروتئین، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات ویسکوزیتی پیش‌بینی کرد، در حالی‌که نتایج آزمایشات نشان داده است که برنج‌های با میزان آمیلوز و پروتئین مشابه دارای کیفیت بافت متفاوتی هستند، از این‌رو خصوصیات فیزیکوشیمیایی هنوز نمی‌توانند به طور دقیق بافت برنج پخته شده را پیش‌بینی نمایند (Han and Hamaker, 2001).

خصوصیات ویسکوزیتی نشاسته معمولا بوسیله دستگاه رپید ویسکو آنالایزر اندازه‌گیری شده و از شاخص‌های مهم و اثرگذار روی خصوصیات پخت و خوراک برنج می‌باشد. خصوصیات ویسکوزیتی همزمان در زمان پخته شدن برنج اندازه‌گیری شده و یک روش ثابت شده برای ارزیابی سریع کیفیت پخت و خوراک محسوب می‌شود. در بین خصوصیات ویسکوزیتی، فروریختگی (Breakdown viscosity) که حاصل اختلاف بین حداکثر و حداقل ویسکوزیتی است، نشان دهنده مدت زمان اختلال برای شکستن گرانول‌های متورم نشاسته به قطعات کوچکتر است و هر چه این قطعات هم‌شکل‌تر باشند، نشان دهنده درجه ثبات و پایداری دانه‌های نشاسته در طول مدت کاهش دما و کیفیت بالای خوراک می‌باشد. فروریختگی دارای همبستگی معنی‌داری با قوام و ثبات ژل بوده و معمولا مقادیر بالای فروریختگی نشان دهنده قوام خوب ژل است (Han *et al*., 2001). همبستگی پایدار بین میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات ویسکوزیتی ممکن است به دلیل مشتقات حاصل از ارتباط فیزیکوشیمیایی بین این صفات باشد (Pang *et al*., 2016). پس‌روی چسبندگی (Setback viscosity) حاصل اختلاف بین چسبندگی نهایی (Final viscosity) و حداکثر چسبندگی (Peak viscosity) بوده و نشان‌دهنده سفت و سخت بودن نشاسته پس از سرد شدن است. پس‌روی چسبندگی پایین به نرمی برنج مرتبط بوده و نشان‌دهنده

www.SID.ir

Archive of SID

کیفیت حسی مناسب برنج پس از پخت می‌باشد. ارقام برنج دارای کیفیت پخت و خوراک نامرغوب معمولا دارای فروریختگی پایین، چسبندگی نهایی و پس‌روی چسبندگی بالایی می‌باشند و در مقابل، ارقام دارای کیفیت پخت و خوراک مناسب معمولا دارای فروریختگی بالا، چسبندگی نهایی و پس‌روی چسبندگی پایینی می‌باشند (Yan *et al.*, 2005). مؤلفه‌های ویسکوزیتی نشاسته دانه برنج شامل فروریختگی، پس‌روی چسبندگی و ثبات چسبندگی (Consistency viscosity)، دارای قابلیت شناسایی و تشخیص کیفیت پخت و خوراک در ارقام مختلف برنج با میزان آمیلوز مشابه هستند (Bao, 2007). به طور کلی ارقام برنج با کیفیت پخت و خوراک مناسب دارای فروریختگی بالای ۱۰۰ و پس‌روی چسبندگی پایین‌تر از ۲۵ (بر حسب واحد Rapid Visco Unit; RUV) هستند (Shu *et al.*, 1998)، بر این اساس ویسکوزیتی نشاسته مورد توجه بسیاری از اصلاح‌گران برنج برای تعیین کیفیت پخت و خوراک قرار دارد (Yan *et al.*, 2011 و He *et al.*, 2006).

دمای ژلاتینی‌شدن نیز از دیگر عوامل مهم مرتبط با کیفیت پخت و خوراک است (Juliano, 1972). این عامل معمولا بوسیله حداکثر پراکندگی دانه برنج سفید شده در محلول قلیایی رقیق شده هیدروکسید پتاسیم (۱/۷ درصد) ارزیابی می‌شود. دانه‌های برنج با دمای ژلاتینی‌شدن پایین، متوسط و بالا به ترتیب نشان‌دهنده تجزیه کامل، تجزیه ناقص و بدون اثر در محلول قلیایی رقیق شده می‌باشند (Little *et al.*, 1958). بدلیل اندازه‌گیری ساده و آسان، دمای ژلاتینی‌شدن در برنامه‌های اصلاحی برنج به طور وسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Juliano, 1985). دمای ژلاتینی‌شدن دارای همبستگی مثبت با مقدار و زمان پخت است. ارقام برنج با دمای ژلاتینی‌شدن بالا نیازمند آب و زمان پخت بیشتری نسبت به ارقامی که دارای دمای ژلاتینی پایین یا متوسط هستند، می‌باشند.

میزان آمیلوز دانه به عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای تعیین‌کننده کیفیت پخت، دارای ارتباط نزدیکی با اکثر خصوصیات ویسکوزیتی نشاسته دانه ارقام برنج می‌باشد. هر چه محتوای آمیلوز نشاسته دانه برنج بیشتر باشد، میزان شاخص‌های چسبندگی، خصوصا چسبندگی نهایی هم بیشتر شده و دانه‌ها پس از پخت سفت و خشک می‌شوند (Allahgholipour *et al.*, 2010). شناسایی ارتباط بین میزان آمیلوز دانه، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات ویسکوزیتی برای تعیین کیفیت پخت و خوراک در ارقام مختلف برنج بسیار مهم است، زیرا این عوامل دارای نقش مهمی در اصلاح کیفیت پخت برنج هستند. معمولا ارقام برنج با میزان آمیلوز بالا دارای دمای ژلاتینی شدن پایین، ارقام با میزان آمیلوز متوسط دارای دمای ژلاتینی‌شدن بالا یا متوسط و ارقام با میزان آمیلوز پایین دارای دمای ژلاتینی بالا یا پایین می‌باشند (Pang *et al.*, 2016). اگرچه ارتباط بین میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات ویسکوزیتی در برنج به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است، اما همبستگی بین آنها پایدار و با ثبات نبوده و روابط پیچیده‌ای بین آنها وجود دارد (Bao *et al.*, 2006 و Chen *et al.*, 2008 و Xu *et al.*, 2015). تحقیق حاضر به منظور بررسی رابطه بین میزان آمیلوز دانه، دمای ژلاتینی شدن و خصوصیات ویسکوزیتی و شناسایی شاخص‌های شناسایی‌کننده گروه‌های آمیلوزی متوسط و بالا در ارقام مختلف برنج انجام شد. نتایج این تحقیق امکان ارزیابی آسان و سریع ارقام جدید با کیفیت پخت مناسب را فراهم خواهد کرد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش تعداد ۴۰ رقم و لاین خالص (جدول ۱) شامل ۱۹ ژنوتیپ از گروه آمیلوز بالا (۲۷/۵-۲۵/۱ درصد) و ۲۱ ژنوتیپ از گروه آمیلوز متوسط (۲۰/۲-۱۹/۳ درصد)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- اسامی، والدین، منشاء و محتوای آمیلوز دانه ژنوتیپ‌های برنج مورد ارزیابی

Table 1. Name, parents, origin and amylose content of rice genotypes

شماره No.	ژنوتیپ‌های برنج Rice genotypes		Parents	والدین	Origin	منشاء	گروه آمیلوزی Amylose group	
1	RI1843040	--	Saleh × Hashemi	هاشمی × صالح	RRII[1]-Guilan	گیلان	High	بالا
2	RI1843056	--	Saleh × Hashemi	هاشمی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
3	RI184314	--	Saleh × Abjiboji	آبجی‌بوجی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
4	Saleh	صالح	IR39385-20 × Khazar	IR39385-20 × خزر	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
5	Sepirood	سپیدرود	[(Garmsadri × IR8) × IR28]	[(گرم‌صدری × IR8) × IR28]	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
6	RI184347	--	Saleh × Hassani	حسنی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
7	Nemat	نعمت	Amol 3 × Sangetarom	سنگ‌طارم × آمل ۳	RRII-Mazandaran	مازندران	High	بالا
8	RI1843223	--	Saleh × Mohammadi	محمدی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
9	RI1843228	--	Saleh × Mohammadi	محمدی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
10	RI1843267	--	Saleh × Mohammadi	محمدی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
11	RI1843230	--	Saleh × Mohammadi	محمدی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
12	IR36	--	Foreign cultivar	رقم خارجی	IRRI[2]-Philippines	فیلیپین	High	بالا
13	IR28	--	Foreign cultivar	رقم خارجی	IRRI-Philippines	فیلیپین	High	بالا
14	RI1843112	--	Saleh × Abjiboji	آبجی‌بوجی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
15	IR58	--	Foreign cultivar	رقم خارجی	IRRI-Philippines	فیلیپین	High	بالا
16	IR60	--	Foreign cultivar	رقم خارجی	IRRI-Philippines	فیلیپین	High	بالا
17	RI184401	--	Sepidrood × Abjiboji	آبجی‌بوجی × سپیدرود	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
18	RI1844222	--	Sepidrood × Hassansaraiei	حسن‌سرایی × سپیدرود	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
19	RI184402	--	Sepidrood × Abjiboji	آبجی‌بوجی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	High	بالا
20	Hashemi	هاشمی	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
21	Salari	سالاری	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
22	Alikazemi	علی‌کاظمی	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
23	Hasansaraiee	حسن‌سرایی	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
24	Ahlamitarom	اهلمی‌طارم	Local Cultivar	رقم محلی	Mazandaran	مازندران	Intermediate	متوسط
25	Anbarbo	عنبربو	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
26	Daylamani	دیلمانی	Local Cultivar	رقم محلی	Mazandaran	مازندران	Intermediate	متوسط
27	Domsefid	دم‌سفید	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
28	Domzard	دم‌سیاه	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
29	Tarommohali	طارم‌محلی	Local Cultivar	رقم محلی	Mazandaran	مازندران	Intermediate	متوسط
30	Taromamiri	طارم‌امیری	Local Cultivar	رقم محلی	Mazandaran	مازندران	Intermediate	متوسط
31	Binam	بینام	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
32	Domsia	دم‌سیاه	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
33	Abjiboji	آبجی‌بوجی	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
34	RI1843046	--	Saleh × Hashemi	هاشمی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
35	RI1843052	--	Saleh × Hashemi	هاشمی × صالح	RRII-Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
36	Ramezanalitarom	رمضانعلی‌طارم	Local Cultivar	رقم محلی	Mazandaran	گیلان	Intermediate	متوسط
37	RI1843510	--	Saleh × Ahlamitarom	اهلمی‌طارم × صالح	RRII-Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
38	RI1844210	--	Sepidrood × Hassansaraiei	حسن‌سرایی × سپیدرود	RRII-Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
39	Gilaneh	گیلانه	[(Saleh × Abjiboji) × Abjiboji]	{آبجی‌بوجی × (آبجی‌بوجی × صالح)}	RRII-Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط
40	Gharib	غریب	Local Cultivar	رقم محلی	Guilan	گیلان	Intermediate	متوسط

1. Rice Research Institute of Iran (RRII)
2. International Rice Research Institute (IRRI)

www.SID.ir

Archive of SID

(Allahgholipour *et al*., 2014) طی دو سال ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در مزرعه موسسه تحقیقات برنج در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به صورت تک‌نشا کشت شدند. جهت اندازه‌گیری میزان آمیلوز (Juliano, 1972)، دمای ژلاتینی‌شدن (Little *et al*., 1958) و خصوصیات ویسکوزیتی شامل حداکثر چسبندگی، حداقل چسبندگی، فروریختگی، چسبندگی نهایی، پس‌روی چسبندگی، و نرمی و ثبات ژل، از هر تکرار سه نمونه از هر ژنوتیپ (۹ نمونه برای هر ژنوتیپ در هر سال) انتخاب و خصوصیات یاد شده با استفاده از دستگاه رپید ویسکوآنالایزر (Rapid Visco Analyser; RVA-3D model, Newport Scientific, Sydney, Australia) (بر حسب واحد RVU) اندازه‌گیری شدند (Anonymous, 1995).

میانگین داده‌های حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکوشیمیایی دانه ارقام برنج در دو سال برای برآورد فروریختگی (تفاضل حداکثر و حداقل چسبندگی)، پس‌روی چسبندگی (تفاضل چسبندگی نهایی و حداکثر چسبندگی) و نرمی و ثبات ژل (تفاضل چسبندگی نهایی و حداقل چسبندگی) مورد استفاده قرار گرفتند. طبقه‌بندی ارقام برنج بر اساس خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی‌شدن با استفاده از روش حداقل واریانس وارد و تایید صحت گروه‌بندی با استفاده از تجزیه تابع تشخیص به روش رگرسیون و با استفاده از آماره ویلکس لامبدا، انجام شد. تجزیه تابع تشخیص روش مناسبی برای ساختن مدل ریاضی پیش‌بینی‌کننده اعضای هر گروه (بر اساس خصوصیات مورد ارزیابی) می‌باشد. در این روش گروه‌ها از قبل مشخص بوده و صحت و عوامل موثر در گروه‌بندی با استفاده از این روش مشخص می‌شوند (Jobson, 1992) با استفاده از تجزیه رگرسیون گام به گام، با در نظر گرفتن میزان آمیلوز به عنوان متغیر وابسته و خصوصیات فیزیکوشیمیایی موثر در گروه‌بندی به عنوان متغیرهای مستقل، نسبت به تعیین عوامل موثر در پیش‌بینی میزان آمیلوز دانه اقدام شد. تجزیه‌های آماری پس از اطمینان از توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver 16 انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد نشان داد که ۴۰ ژنوتیپ برنج مورد بررسی و انتخابی از دو گروه آمیلوزی بالا و متوسط، بر اساس خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی شدن مجدداً در دو گروه طبقه‌بندی شدند. گروه اول شامل ۱۹ ژنوتیپ آمیلوز بالا شامل ارقام نعمت، RI184402، RI843228، RI1843223، RI1843267، IR36، IR28، RI1843230، RI1844222، IR60، RI184401 ، RI1843112، IR58، RI1843056، سپیدرود، صالح، RI184347، RI1843040 و RI184314 بود که همه آنها از نظر کلیه خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی بالا بوده و تنها از نظر فروریختگی دارای ارزش کمتری نسبت به گروه آمیلوز متوسط بودند. شانزده رقم محلی ایرانی و رقم جدیدگیلانه و لاین‌های خالص اصلاح‌شده شامل RI1844210، RI1843052، RI1843510 و RI1843046 با میزان آمیلوز و دمای ژلاتینی متوسط با خصوصیات ویسکوزیتی مشابه در گروه دوم قرار گرفتند (جدول ۲). در واقع طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی شدن، مشابه گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس محتوای آمیلوز دانه بود، با این تفاوت که قرار گرفتن آنها در هر گروه بر اساس شباهت خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی شدن آنها بود. دو گروه از نظر خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشاسته دارای اختلاف معنی‌داری بوده و مستقل بودن دو گروه با آزمون کای‌اسکوئر مورد تائید قرار گرفت. با معنی‌دارشدن آماره کای‌اسکوئر (۱۴۹/۸۲) و ویلکس لامبدا (۰/۰۲) در سطح احتمال یک درصد، استقلال دو گروه با اطمینان ۹۹ درصد مورد تایید قرار گرفت، به عبارت

www.SID.ir

Archive of SID

دیگر اختلاف بین دو گروه واقعی و غیرتصادفی بود.

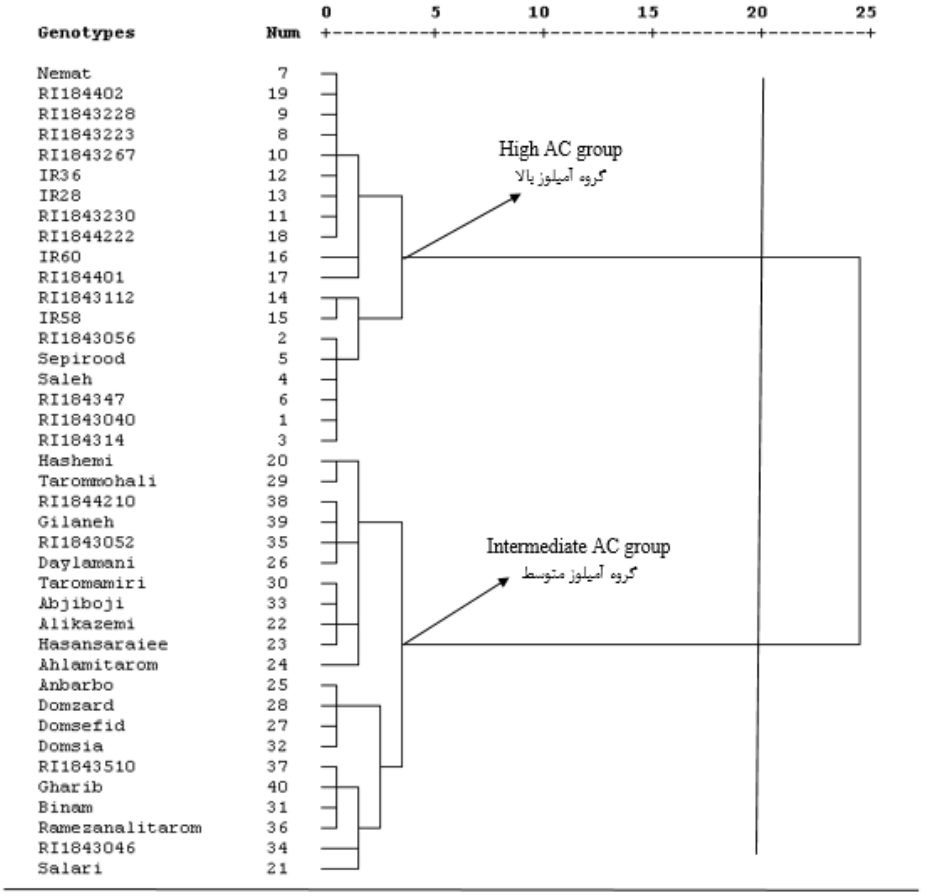
ژنوتیپ‌های گروه اول با دارا بودن میزان آمیلوز بالا، پس از پخت، دانه‌ها خشک، جدا از هم، کمی باریک و پس از سرد شدن سفت و خشک می‌شوند و بدلیل بالا بودن دامنه دمای ژلاتینی شدن به آب و زمان بیشتری برای پخت دانه‌ها نیاز است. بالا بودن مقادیر خصوصیات ویسکوزیتی مانند چسبندگی نهایی، پس‌روی چسبندگی و قوام ژل این ژنوتیپ‌ها باعث خشک و سفت شدن دانه‌ها و پایین بودن ارزش فروریختگی، باعث کاهش کیفیت خوراک پس از پخت می‌شود (جدول ۲). معمولا ارقام با میزان آمیلوز بالا، فروریختگی پایینی را دارند که منعکس‌کننده پایداری بالای دانه‌های نشاسته می‌باشد (Suwannaporn *et al.*, 2007). ارقام با فروریختگی بالا، پس‌روی چسبندگی و چسبندگی نهایی پایین تا متوسط، دارای کیفیت پخت و خوراک خوبی بوده و در مقابل ارقام نامطلوب دارای فروریختگی پایین، پس‌روی چسبندگی و چسبندگی نهایی بالایی می‌باشند (Yan *et al.*, 2011). به همین دلیل ارقام با میزان آمیلوز بالا از نظر سلیقه مصرف کنندگان ایرانی دارای کیفیت پخت و خوراک مناسبی نیستند. ژنوتیپ‌های گروه دوم با دارا بودن میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی و خصوصیات ویسکوزیتی متوسط که به طور گسترده‌ای در اغلب مناطق تولید برنج در جهان ترجیح داده می‌شوند، دارای کیفیت پخت و خوراک خوبی هستند. این نوع از ارقام به دلیل متوسط بودن دمای ژلاتینی شدن، به آب و زمان کمتری برای پخت نیاز داشته و با دارا بودن فروریختگی بالا، پس‌روی چسبندگی، قوام ژل و چسبندگی نهایی پایین‌تر نسبت به ارقام گروه اول، پس از پخت نرم با چسبندگی کمتر و جدا از هم و پس از سرد شدن نرم می‌باشند (جدول ۲). دانه‌های این نوع از ارقام بسیار باریک بوده و پس از پخت شکل خود را از دست نمی‌دهند (Juliano, 1972).

نکته قابل توجه در این گروه‌بندی این است که با استفاده از روش آماری چندمتغیره و غیرپارامتری تجزیه خوشه‌ای می‌توان نسبت به شناسایی ارقام امیدبخش کیفی برنج اقدام نمود. شناسایی ارقام دارای میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن و خصوصیات ویسکوزیتی مشابه با ارقام محلی ایرانی از طریق تجزیه خوشه‌ای، راهکار مناسبی است که می‌تواند در غربالگری لاین‌ها و اصلاح لاین‌های جدید برنج، مورد استفاده قرار گیرد. به عنوان مثال، رقم جدید گیلانه (Allahgholipour *et al.*, 2016) با میزان آمیلوز متوسط در گروهی واقع شد که از نظر خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی شدن مشابه ارقام محلی ایرانی است (شکل ۱). این رقم در دو سال گذشته بدلیل دارا بودن کیفیت پخت خوب مورد استقبال مصرف‌کنندگان و کشاورزان قرار گرفته است. بر این اساس می‌توان انتظار داشت که چهار لاین RI1844210، RI1843052، RI1843510 و RI1843046 واقع در گروه دوم با میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی شدن و خصوصیات ویسکوزیتی مشابه، همانند ارقام محلی دارای کیفیت پخت خوبی خواهند بود. الهقلی‌پور و همکاران (Allahgholipour *et al.*, 2014) با استفاده از تجزیه خوشه‌ای بر اساس عملکرد دانه و اجزای عملکرد، ۹۴ ژنوتیپ برنج شامل ارقام محلی، ارقام اصلاح شده داخلی و خارجی را در ۹ گروه با خصوصیات درون گروهی مشابه طبقه‌بندی نمودند که چهار لاین خالص بالا همراه با ارقام محلی بینام، دیلمانی، آبجی‌بوجی، حسن‌سرایی، اهلمی‌طارم و غریب در یک گروه واقع شده بودند.

نتایج حاصل از تابع تشخیص به روش رگرسیون گام به گام نشان داد که خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی‌شدن نقش ۱۰۰ درصدی در تفکیک دو گروه آمیلوز بالا و متوسط داشته و از بین خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشاسته دانه برنج، تنها دو صفت چسبندگی نهایی و دمای ژلاتینی‌شدن به ترتیب با حداقل آماره ویلکس لامبدا (** ۰/۰۲۲ و ** ۰/۰۲۲) با

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱ – طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های برنج به روش حداقل واریانس وارد بر اساس خصوصیات ویسکوزیتی و دمای ژلاتینی‌شدن

Fig.1. Classification of rice genotypes using WARD method based on viscosity characteristics and gelatinization temperature

ارزش ویژه ۵۶/۳۵ بهترین و موثرترین شاخص بوده و وارد تابع اول شدند. همبستگی کانونی دو متغیر وارد شده با تابع تشخیص اول ۰/۹۹ بود که نشان‌دهنده رابطه بالای بین متغیر وابسته و تابع تشخیص بدست‌آمده می‌باشد (جدول ۳). بالا بودن ارزش ویژه و مربع همبستگی کانونی (۹۸ درصد) نشان می‌دهد که بیشترین واریانس متغیر وابسته بوسیله تابع تشخیص توجیه می‌شود. سوان‌ناپورن و همکاران (Suwannaporn *et al*., 2007) با گروه‌بندی گروه‌های آمیلوزی با استفاده از تابع تشخیص خصوصیات ویسکوزیتی در برنج گزارش نمودند که تنها شاخص‌های چسبندگی توانایی تشخیص گروه‌های آمیلوزی را دارند. آنها دو ویژگی حداکثر چسبندگی و حداقل چسبندگی با ارزش ویژه ۳۲/۹ را بهترین شاخص شناسایی گروه‌های آمیلوزی اعلام کردند. این خصوصیات قابلیت تفکیک و پیش‌بینی ۱۰۰ درصدی ارقام با میزان آمیلوز بالا و متوسط را داشته و صحت پیش‌بینی ارقام با میزان آمیلوز پایین ۶۶/۷ درصد بود. بوریس و همکاران (Borris *et al*., 2018) نیز مدل‌های پیش‌بینی برای ارزیابی حسی کیفیت برنج با استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره مانند تجزیه به مولفه‌های اصلی و تجزیه رگرسیون لگاریتمی را معرفی کرده و

www.SID.ir

Archive of SID

اعلام نمودند که کارآیی و صحت روش‌های آماری مذکور برای برآورد نرمی برنج پس از پخت با استفاده از میزان آمیلوز، دمای ژلاتینی‌شدن و خصوصیات ویسکوزیتی حدود ۸۶ درصد می‌باشد.

بر اساس تابع تشخیص کانونی اول، مقادیر برآورد شده تابع در گروه آمیلوز بالا، مثبت و بین ۹/۳۱۵ تا ۵/۵۷۴ و در گروه آمیلوز متوسط، منفی و بین ۹/۰۲۳- تا ۵/۱۴۹- بود. بنابراین با در دست داشتن دو ویژگی چسبندگی نهایی و دمای ژلاتینی‌شدن با استفاده از تابع تشخیص کانونی می‌توان ژنوتیپ‌های ناشناخته را به یکی از گروه‌های آمیلوز بالا یا متوسط منتسب نمود. به منظور تسهیل پیش‌بینی میزان آمیلوز دانه در ژنوتیپ‌های ناشناخته برنج با استفاده از نتایج این تحقیق، متغیرهای تشخیص‌دهنده (چسبندگی نهایی و دمای ژلاتینی) به عنوان متغیرهای مستقل و میزان آمیلوز به عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام به گام نشان داد که متغیر تشخیص‌دهنده چسبندگی نهایی بهترین شاخص برای پیش‌بینی میزان آمیلوز (با ضریب تبیین تصحیح‌شده ۹۷ درصد) بود. علیرغم وجود همبستگی مثبت، بالا و معنی‌دار بین میزان آمیلوز با دو ویژگی چسبندگی نهایی (۰/۹۸۶**) و دمای ژلاتینی‌شدن (۰/۹۶۲**)، تنها چسبندگی نهایی با ضریب رگرسیون و اشتباه معیار (۰/۰۰۱ ± ۰/۰۴۰) و با عرض از مبدا ۷/۳۶۰ وارد مدل رگرسیونی گردید. ضرایب رگرسیون و عرض از مبدا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۴).

جدول۲- میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس خصوصیات فیزیکوشیمیایی دانه ژنوتیپ‌های برنج

Table 2. Mean of groups from cluster analysis based on physicochemical characteristics of grain of rice genotypes

خصوصیات فیزیکوشیمیایی Physicochemical characteristics	گروه ۱ Cluster 1 ارقام با آمیلوز بالا High AC Group	گروه ۲ Cluster 2 ارقام با آمیلوز متوسط Intermediate AC Group
دمای ژلاتینی‌شدن Gelatinization temperature (GT)	6.92±0.16	3.98±0.41
حداکثر چسبندگی Peak viscosity (PV)	326.99±17.90	268.57±14.17
حداقل چسبندگی Trough viscosity (Trough)	287.87±20.47	197.95±16.30
فروریختگی Breakdown viscosity (BDV)	39.11±10.85	70.63±16.42
چسبندگی نهایی Final viscosity (FV)	471.51±10.91	322.99±11.81
پس‌روی چسبندگی Setback viscosity (SBV)	144.52±13.43	54.42±14.96
قوام ژل Consistency viscosity (COV)	183.64±15.92	125.04±17.77
میزان آمیلوز (درصد) Amylose content (%)	26.08±0.15	20.18±0.15

خصوصیات ویسکوزیتی بر حسب واحد RVU می‌باشد Viscosity characteristics are shown in RVU units

نکته قابل توجه این است که ضریب رگرسیون جزئی استاندارد شده یا اثر مستقیم چسبندگی نهایی روی میزان آمیلوز، دقیقا برابر با میزان همبستگی دو متغیر می‌باشد که نشان دهنده رابطه دقیق و واقعی آنها است. وجود همبستگی پایدار و واقعی بین میزان آمیلوز و خصوصیات ویسکوزیتی مانند چسبندگی نهایی، ناشی از رابطه فیزیکوشیمیایی بین این ویژگی‌ها است که می‌تواند در تولید لاین‌های جدید دارای کیفیت

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- تابع تشخیص کانونی و متغیرهای تشخیص‌دهنده خصوصیات فیزیکوشیمیایی دانه ژنوتیپ‌های برنج

Table 3. Canonical discriminant function and discriminator variables of physicochemical characteristics of grain of rice genotypes

مرحله Step	متغیر Variable	ویلکس لامبدا Wilks Lambda
1	چسبندگی نهایی Final viscosity (FV)	0.022**
2	دمای ژلاتینی‌شدن Gelatinization temperature (GT)	0.017**
تابع تشخیص کانونی اول	Dis 1 = -35.224 + 1.482 GT + 0.069 FV	
ضریب همبستگی کانونی = ۰/۹۹	Canonical correlation =0.99	

پخت مناسب، مورد استفاده اصلاح گران برنج قرار گیرد (Pang *et al.*, 2016). با وجود همبستگی بالا و معنی‌دار بین دمای ژلاتینی شدن و میزان آمیلوز (۰/۹۶۲)، مقدار اثر مستقیم دمای ژلاتینی شدن روی میزان آمیلوز ۰/۰۲۰ بود. این موضوع نشان می‌دهد که رابطه بین دو متغیر تصادفی بوده و یا از طریق تاثیر سایر متغیرها به شکل غیرمستقیم، باعث ایجاد رابطه با میزان آمیلوز می‌شود، بنابراین مدل رگرسیونی برازش شده خطی برای پیش‌بینی میزان آمیلوز در دامنه ۲۷/۵ تا ۱۹/۳ درصد با استفاده از شاخص چسبندگی نهایی با دامنه ۴۹۳/۲۵ تا ۲۹۰/۵۰ بر حسب واحد RVU با ضریب تبیین ۹۷ درصد، امکان‌پذیر و به صورت رابطه ۱ می‌باشد:

Amylose Content (AC) = 7.360 + 0.040 Final viscosity (FV) R^2=0.97 (رابطه ۱)

جدول ۴ – تجزیه رگرسیون گام به گام برای پیش‌بینی گروه‌های آمیلوزی بالا و متوسط با استفاده از شاخص چسبندگی نهایی در ژنوتیپ‌های برنج

Table 4. Stepwise regression analysis of final viscosity and gelatinization temperature for prediction of amylose content of rice genotypes

مدل Model	ضرایب غیراستاندارد Unstandardized coefficients: ضریب رگرسیون B	Unstandardized coefficients: اشباه معیار Std. Error	ضرایب استاندارد Standardized coefficients: اثر مستقیم Beta	آزمون T T-test	ضریب تبیین تصحیح‌شده Adjusted R^2	ضرایب استاندارد Standardized coefficients: Lower bound	Upper bound
عرض از مبدأ Constant	7.360	0.434	--	16.953**	--	6.481	8.239
چسبندگی نهایی FV	0.040	0.001	0.986	36.621**	97%	0.037	0.042

**: Significant at 1% probability level **: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

نتیجه‌گیری

ارزیابی و برآورد خصوصیات ویسکوزیتی نشاسته و دمای ژلاتینی شدن دانه برنج در ترکیب با روش‌های آماری چندمتغیره (تجزیه خوشه‌ای، تجزیه تابع تشخیص و تجزیه رگرسیون) به عنوان یک روش کاربردی آسان و کم هزینه برای طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های

www.SID.ir

Archive of SID

برنج دارای مزیت‌های مناسبی بوده و می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی جهت تولید ارقام با میزان آمیلوز متوسط، منطبق با سلیقه و ذائقه مصرف‌کنندگان ایرانی، مورد استفاده قرار گیرد. یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که چسبندگی نهایی و دمای ژلاتینی‌شدن می‌توانند به عنوان شاخص‌های تفکیک‌کننده گروه‌های آمیلوزی متوسط تا بالا در برنج مورد استفاده قرار گیرند که نسبت به اندازه‌گیری مستقیم میزان آمیلوز دانه آسان‌تر، کم‌هزینه‌تر بوده و در زمان کوتاه‌تری (۱۲ دقیقه) برآورد می‌شوند. با توجه به مدل رگرسیونی برازش شده، پیش‌بینی میزان آمیلوز دانه متوسط تا بالا (۲۷/۵ تا ۱۹/۳ درصد) در برنج با توجه به ارزش چسبندگی نهایی در دامنه ۴۹۳/۲۵ تا ۲۹۰/۵۰ بر حسب واحد RVU، امکان‌پذیر است.

References منابع مورد استفاده

Allahgholipour, M., B. Rabiei, A. A. Ebadi, M. Hossieni and M. Yekta. 2010. Starch viscosity properties: New criteria for assessment of cooking quality of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. Iran. J. Crop Sci. 12 (2):140-151. (In Persian with English abstract).

Allahgholipour, M., A. A. Shokofeh, M. Yekta, H. Shafiei-Sabet, M. Mohammadi and A. Lotfi. 2014. Improvement of rice cultivars for yield and quality characters through participatory breeding program. Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research Extension Education Organization, Rasht. Iran. (In Persian with English abstract).

Allahgholipour, M., M. Kavousi, F. Padasht, F. Majidi, M. R. Alizadeh, F. Alinia and A. A. Shokofeh. 2016. Gilaneh: A new rice cultivar with origin of Iranian landrace varieties. Rice Research Institute of Iran, Agricultural Research Extension Education Organization, Rasht. Iran. (In Persian with English abstract).

Anonymous. 1995. Approved methods for the AACC (9th Ed.) Methods 61-02 for RVA. The American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, USA.

Bao, J. S. 2007. Progress in studies on inheritance and improvement of rice starch quality. Mol. Plant Breed. 5 (6): 1-20.

Bao, J. S. 2012. Toward understanding the genetic and molecular bases of the eating and cooking qualities of rice. C. F. World. 57(4): 148-156.

Bao, J., S. Shen, M. Sun and H. Corke. 2006. Analysis of genotypic diversity in the starch physicochemical properties of non-waxy rice: apparent amylose content, pasting viscosity and gel texture. Starch, 58(6): 259-267.

Borris, R. N., P. Z. Bassinello, E. S. Rios, S. N. Koakuzu and R. N. Carvalho. 2018. Prediction models of rice cooking quality. Cereal Chem. 1-9. (wileyonlinelibrary.com/journal/cche).

Cagampang, G. B., C. M. Perez and B. O. Juliano. 1973. A gel consistency test for early quality of rice. J. Sci. Food Agric. 24: 1589-1594.

Chen, M. H., C. J. Bergman, S. R. M. Pinson and R. G. Fjellstrom. 2008. Waxy gene haplotypes: Associations with pasting properties in an international rice germplasm collection. J. Cereal Sci. 48(3): 781-788.

Han, X. Z. and B. R. Hamaker. 2001. Amylopectin fine structure and rice starch paste breakdown. J. Cereal

www.SID.ir

Archive of SID

Sci. 34 (3): 279-284.

He, Y., Y. Han, L. Jiang, C. Xu, J. Lu and M. Xu. 2006. Functional analysis of starch synthesis genes in determining rice eating and cooking qualities. Mol. Breed. 18(4): 277–290.

Jobson, J. D. 1992. Applied multivariate data analysis. Vol. II. Categorical and multivariate methods. Springer-Verlag, New York. USA.

Juliano, B. 1985. Criteria and test for rice grain quality. Rice chemistry and technology. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists (AACC).

Juliano, B. O. 1972. Physiochemical properties of starch and protein in relation to grain quality and nutritional value of rice. Rice Breeding. Los Banos, Manila, Philippines: International Rice Research Institute (IRRI).

Little, R. R. and G. B. Hilder and E. H. Dawson.1958. Differential effect of dilute alkali on 25 varieties of milled white rice. Cereal Chem. 35: 111-126.

Pang, Y., J. Ali, X. Wang, N. J. Franje, J. E. Revilleza, J. Xu and Z. Li. 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): 1-14.

Shu, Q., D. Wu, Y. Xia and M. Gao. 1998. Relationship between RVA profile character and eating quality in rice (*Oryza sativa* L.). Sci. Agric. Sinica. 31(3): 25–29.

Suwannaporn, P., S. Pitiphunpong and S. Champangern. 2007. Classification of rice amylose content by discriminant analysis of physicochemical properties. Starch, 59: 1-7.

Xu, F., C. Sun, Y. Huang, Y. Chen, C. Tong and J. Bao. 2015. QTL mapping for rice grain quality: a strategy to detect more QTLs within sub-populations. Mol. Breed. 35(4): 1-11.

Yan, C. J., X. Li, R. Zhang, J. M. Sui, G. H. Liang, X. P. Shen, S. H. Gu and M. H. Gu. 2005. Performance and inheritance of rice starch RVA profile characteristics. Rice Sci. 12 (1): 39-47.

Yan, C. J., Z. X. Tian, Y. W. Fang, Y. C. Yang, J. A. Li, S. Y. Zeng, S. L. Gu, C. W. Xu, S. Z. Tang and M. H. Gu. 2011. Genetic analysis of starch paste viscosity parameters in glutinous rice (*Oryza sativa* L.). Theor. Appl. Genet. 122(1): 63–76.

Zhou, Z. K., K. Robards, S. Helliwell and C. Blanchard. 2002. Composition and functional properties of rice. Int. J. Food Sci. Tech. 37(8): 849-868.

www.SID.ir

Archive of SID

Prediction of high and intermediate amylose groups based on the starch physicochemical properties in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes

Allahgholipour, M.

ABSTRACT

Allahgholipour, M. 2018. Prediction of high and intermediate amylose groups based on the starch physicochemical properties in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes**. Iranian Journal of Crop Sciences. 19(2): 139-150. (In Persian).**

In order to investigate the relationship among amylose content, gelatinization temperature and paste viscosity properties and identifying the discriminator parameters of intermediate and high amylose groups in rice genotypes, 40 pure lines and cultivars from two groups of high and medium amylose content were evaluated in a randomized complete block design with three replications at Rice Research Institute of Iran during 2015 and 2016. Physicochemical characteristics of grain (amylose content, gelatinization temperature) and paste viscosity properties including peak viscosity, trough viscosity, breakdown viscosity, final viscosity, setback viscosity and consistency viscosity were measured by Rapid Visco Analyser in RVU unit. Results of cluster analysis with WARD method showed that all selected rice genotypes from high and intermediate amylose groups were classified into two groups based on paste viscosity characteristics and gelatinization temperature. The first group consisted of 19 genotypes with high amylose content and the second group included 21 genotypes with intermediate amylose content. In fact, the classification of the genotypes based on the viscosity parameters and gelatinization temperature was similar to the classification of the cultivars based on the amylose content of grain. Discriminant function analysis showed that only the final viscosity and gelatinization temperature completely (100%) separate the high and intermediate amylose groups and identified as the best and most effective discriminators (with an eigenvalue of 56.35) that are easier, less cost and time consuming, compared to direct measurement of amylose content of grain. Evaluation of starch viscosity characteristics and gelatinization temperature of rice grain in combination with multivariate statistical methods may be considered as an easier and less costly method suitable for the classification of rice genotypes and may be used in breeding programs to identify good grain quality rice cultivars. According to the fitted regression model, it is possible to predict the intermediate to high amylose groups of rice genotypes in regard to final viscosity value between 290.50 and 493.25 RVU with an adjusted R square of 97%.

Key words: Amylose, Cluster analysis, Discriminant function, Rice and Viscosity properties.

Received: December, 2017 Accepted: July, 2018

1-Assistant Prof., Rice Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rasht, Iran (Corresponding author) (Email: mehrzadallahgholipour@yahoo.com)

www.SID.ir