

qGW، یک QTL پایدار و بزرگ اثر برای افزایش وزن دانه برنج (*Oryza sativa* L.)

محمد رضا جعفرزاده رزمی^۱، سعید نواب پور^۲، حسین صبوری^{۳*} و سیده ساناز رمضان پور^۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

۳- دانشیار، گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبدکاووس، گنبد کاووس

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۱)

چکیده

به منظور تجزیه ژنتیکی صفات زراعی در برنج، آزمایشی با ۱۱۶ رگه خویش آمیخته نو ترکیب F9 حاصل از تلاقی ارقام اهلمی طارم × سپیدرود در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس با سه تکرار در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ اجرا شد. نقشه پیوستگی جمعیت با ۸۰ نشانگر SSR، ۲۸ آلل چندشکل iPBS (۷۹ آلل چند شکل)، ۷ نشانگر IRAP (۱۷ آلل) و ۲۶ نشانگر ISSR (۷۰ آلل) تهیه شد که ۱۲۷۵/۴ سانتی مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد. تجزیه QTL به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) انجام شد و در مجموع دو سال، پانزده QTL برای صفات مورد مطالعه مکان‌یابی شد. اثر افزایشی QTL های ردیابی شده بین ۶۷۲۵ گرم برای وزن دانه تا ۸۵/۶۲۶- گرم برای وزن دانه متغیر بود. واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط این QTL ها نیز از ۱۱/۳ تا ۲۰ درصد متغیر بود. بیشترین میزان توجیه، مربوط به QTL وزن دانه در سال اول آزمایش بود. از بین QTL های ردیابی شده، qGW های روی کروموزوم یک به عنوان QTL های پایدار و بزرگ اثر برای افزایش وزن دانه برنج (*Oryza sativa* L.) شناسایی شد که پس از تعیین اعتبار می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب به کمک نشانگر مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: برنج، نشانگرهای مولکولی، نقشه لینکاژی، وزن دانه، وزن ساقه، QTL

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: hossein.sabouri@gonbad.ac.ir

مقدمه

برنج یکی از مهم‌ترین غلات و مواد غذایی برای بیش از نیمی از مردم جهان (Courtois *et al.*, 2009) و غذای اصلی و منبع تأمین کالری برای حدود یک‌سوم از آنهاست (Xu *et al.*, 2015). افزایش عملکرد دانه همواره یکی از اهداف اصلی برنامه‌های اصلاحی برنج بوده که با معرفی ارقام نیمه‌پاکوتاه آسیایی از سال ۱۹۶۰ تا حدودی تأمین شده است. اما به نظر می‌رسد که با وجود اطلاعات محدود در زمینه صفات مرتبط، نیل به عملکرد بالاتر با کمک روش‌های کلاسیک بسیار مشکل باشد (Li *et al.*, 2006). کاربرد روش‌های انتخاب به کمک نشانگر (MAS) راه‌حل مناسبی برای برون‌رفت از این تنگنا خواهد بود که مستلزم شناسایی QTL‌های جدید برای عملکرد دانه و صفات مرتبط با آن است (Xu *et al.*, 2015). وزن دانه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای عملکرد، نقش مهمی در ایجاد عملکرد دانه برنج ایفا می‌کند. به‌طوری که افزایش وزن هزاردانه منجر به افزایش عملکرد می‌گردد (Bai *et al.*, 2010). این صفت از طریق تقسیم سلولی کنترل می‌شود (Xing and Zhang, 2010). مکان‌یابی QTL‌هایی که با این صفت و صفات مرتبط با شکل و مورفولوژی دانه که رابطه علت و معلولی با وزن دانه دارند بسیار حائز اهمیت است. GS3 و qGL3 اثر افزایشی منفی روی تقسیم‌سلولی در گلوم دارند. بنابراین کاهش فعالیت آنها عملکرد دانه را افزایش می‌دهد (Fan *et al.*, 2006; Qi *et al.*, 2012). در اندام‌های مخزن آل‌های tgw6 با تأثیر روی زمان انتقال مواد، عرضه IAA برای سلول‌ها و در نتیجه مقدار تقسیم‌سلولی را کنترل می‌نماید و بدین وسیله با کنترل تعداد نهایی سلول‌ها طول دانه را کنترل می‌نمایند (Ishimaru *et al.*, 2013). GS6 و GW5 (qsw5)، Gw2، اثر کنترلی منفی روی عرض دانه دارند (Song *et al.*, 2007; Shomura *et al.*, 2008). در مقابل Gs5 و Gw8 اثر کنترلی مثبت روی این صفت دارند (Li *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012). GIF1 ژن دیگری است که انتقال مواد کربنی از دیواره سلولی در جهت معکوس غلظت در

طول زمان پر شدن دانه را کنترل می‌کند (Wang *et al.*, 2008). پژوهشگران دیگری با تجزیه QTL در جمعیت‌های F2 و F3 حاصل از تلاقی یک موتانت طبیعی (sgw) با وزن دانه کم و رقم هندی ۹۳۱۱ با وزن دانه زیاد دریافتند که یک QTL بزرگ‌اثر روی بازوی کوچک کروموزوم ۷ با وزن دانه در ارتباط است. تجزیه لاین‌های ایزوژن نزدیک به qsgw7 (NIL qsgw7) نشان داد که طول، عرض و حجم دانه در این لاین‌ها به‌طور معنی‌داری کمتر از ۹۳۱۱ است. این پژوهشگران از نتایج به‌دست آمده، استنباط کردند که ژن qsgw7 ممکن است که ژن جدیدی باشد که روی وزن هزار دانه و شکل دانه به‌ویژه چاقی آن اثر می‌گذارد (Bian *et al.*, 2013). هدف پژوهش حاضر تهیه نقشه پیوستگی نشانگرهای SSR، *i*PBS و ISSR و IRAP در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب نسل F9 حاصل از تلاقی رقم‌های اهلمی طارم × سپیدرود بود. هم‌چنین از اهداف دیگر این پژوهش، تعیین موقعیت کروموزومی QTL‌های کنترل‌کننده صفات زراعی، برآورد سهم هر یک از QTL‌های شناسایی شده در تبیین تنوع فنوتیپی صفات مورد مطالعه و نیز شناسایی نشانگرهای پیوسته با QTL‌های بزرگ اثر و پایدار برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی آینده بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه بذره‌های لاین‌های F9 (۱۶ لاین) به همراه والدین طی دو سال زراعی ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس با طول جغرافیایی ۵۵ درجه و ۱۲ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۶ دقیقه شمالی کشت شدند. از صفات برتر والد اهلمی طارم می‌توان عملکرد کمتر و حساس به ورس و والد سپیدرود عملکرد بالاتر و مقاوم به ورس اشاره کرد (Allagholipor and Mohamadsalehi, 2015). هر تکرار به طول یک متر در دو ردیف و فاصله بین ردیف ۲۰ سانتی‌متر بود. صفات زراعی شامل وزن بوته، ارتفاع

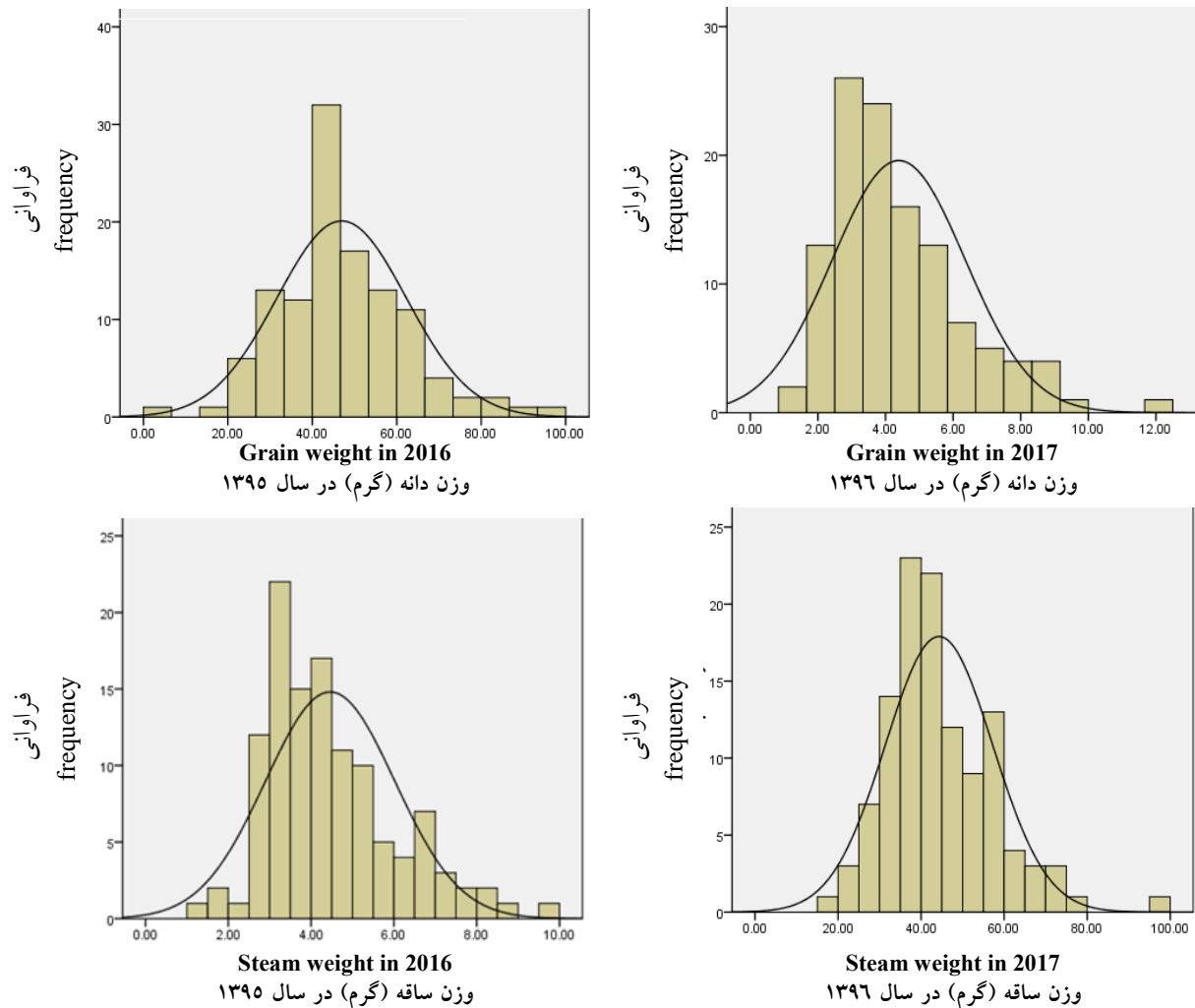
اثرات آن‌ها، از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) استفاده گردید و نقطه‌ای که دارای بالاترین مقدار LOD بود به‌عنوان ناحیه با بیشترین احتمال وجود QTL شناسایی شد (Liu, 1998; Rabiei and Sabouri, 2008). در کلیه موارد از آزمون جایگشت و Resampling. ۱۰۰۰۰ استفاده شد و برای هر پایش ۵/۰ سانتی‌مورگان در نظر گرفته شد. جهت تهیه نقشه ژنتیکی از اسکورهای A (برای وجود باند شبیه والد اهلمی طارم) و B (برای وجود باند شبیه والد اسپیدرود) در نشانگرهای ریزماهواره استفاده شد. در مورد نشانگرهای ISSR، aPBS و IRAP از اسکورهای ۱ (برای وجود باند) و ۳ (برای عدم وجود باند) در مواقعی که باند در والد اول تکثیر یافته بود، استفاده شد. هم‌چنین در مورد نشانگرهای ISSR، aPBS و IRAP از اسکورهای ۲ (برای وجود باند) و ۴ (برای عدم وجود باند) در مواقعی که باند در والد دوم تکثیر یافته بود استفاده شد. خاطر نشان می‌شود که انکور کردن نشانگرهای تصادفی به نشانگرهای ریزماهواره برای کروموزوم‌ها جداگانه انجام شد.

نتایج و بحث

برای تهیه نقشه پیوستگی، از اطلاعات ۸۰ نشانگر SSR، ۲۸ نشانگر iPBS (۷۹ آلل چندشکل)، ۷ نشانگر IRAP (۱۷ آلل) و ۲۶ نشانگر ISSR (۷۰ آلل) استفاده شد. نقشه حاصل، ۱۲۷۵/۴ سانتی‌مورگان از ژنوم برنج را پوشش داد. میانگین فاصله بین نشانگرها، ۵/۱۸۴ سانتی‌مورگان برآورد شد و از این نظر برای مکان‌یابی مناسب تشخیص داده شد (شکل ۲).

برای بررسی نرمال بودن داده‌ها، چولگی و کشیدگی آن‌ها محاسبه شد که مطابق آن کلیه داده‌ها نرمال بودند (شکل ۱). به‌منظور بالا بردن دقت نتایج از روش حداکثر درست‌نمایی برای کلیه محاسبات QTL استفاده شد. بررسی فنوتیپی صفات مورد مطالعه در لاین‌های خویش آمیخته F9 نشان داد که این صفات تغییرات کمی و پیوسته دارند.

بوته، تعداد پنجه، تعداد پنجه بارور، مساحت برگ پرچم، طول خروج خوشه از غلاف، قطر ساقه، وزن ساقه، طول خوشه اصلی، وزن خوشه اصلی، تعداد دانه پر در خوشه اصلی، تعداد دانه پوک در خوشه اصلی، وزن دانه پر در خوشه اصلی، وزن دانه پوک در خوشه اصلی، تعداد خوشچه اولیه در خوشه اصلی، تعداد خوشچه ثانویه در خوشه اصلی و وزن ۱۰۰ دانه بودند که در دو سال زراعی در نسل F9 اندازه‌گیری شدند. ثبت ارزش فنوتیپی برای کلیه صفات براساس واحد آزمایشی روی ۵ بوته تصادفی از هر واحد آزمایشی بود که از میانگین سه تکرار آن‌ها در تجزیه مکان‌یابی استفاده شد. جهت اجرای تجزیه و تحلیل آماری صفات فنوتیپی از نرم‌افزار SPSS 23 استفاده شد. برای استخراج DNA ژنومی نمونه برگی از ۳ بوته تصادفی از هر خانواده F9 و والدین تهیه و DNA با روش CTAB تغییر یافته استخراج گردید (Saghai et al., 1994). کیفیت DNA استخراج شده با انجام الکتروفورز با ژل آگارز ۰/۸ درصد تعیین شد. برای ظهور و جداسازی باندها از ژل آگارز ۱/۵ درصد و ژل آکریل‌آمید ۶ درصد استفاده شد. از بین ۳۶۰ نشانگر مورد بررسی، ۸۰ نشانگر SSR برای والدین چندشکلی نشان داده و جهت تعیین ژنوتیپ افراد جمعیت استفاده شدند. برای اشباع نقشه حاصل از نشانگرهای SSR، از ۲۸ نشانگر iPBS (۷۹ آلل چندشکل) و ۷ نشانگر IRAP (۱۷ آلل) و ۲۶ نشانگر ISSR (۷۰ آلل) استفاده شد. معیار انتخاب آغازگرها، میزان اطلاعات چندشکل (PIC) و چندشکلی مشاهده شده در مطالعات قبلی بود (Basten et al., 2001). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز در دستگاه ترموسایکلر مدل iCycler (BIORAD) ساخت کشور آمریکا)، با بلوک ۹۶ تایی برای تیوب‌های PCR به حجم ۰/۲ میلی‌لیتر استفاده شد. برای تهیه نقشه ژنتیکی از نرم‌افزار Map Manager QTX 17 (Manly and Olson, 1999) استفاده شد. فواصل نشانگری در این نقشه نیز براساس تابع کوزامبی (Kosambi, 1994) محاسبه گردید. در نهایت برای پیدا کردن QTLها از QGENE (Nelson, 1997) استفاده شد. برای تعیین QTLها و برآورد اندازه



شکل ۱- توزیع فراوانی صفات در لاین‌های نوترکیب خویش آمیخته F9 حاصل از تلاقی بین اهلمی طارم × سپید رود
Figure 1. Distribution of traits frequencies in F9 rice RILs derived from Ahalamitarom × Sepidroud cross

همکاران (Rabiei *et al.*, 2013)، شیخ‌پورآهندانی و همکاران (Sheykhpour Ahandani *et al.*, 2013) و احمدی‌زاده و همکاران (Ahmadizadeh *et al.*, 2017) نیز پدیده تفکیک متجاوز را در صفات مختلف در گیاه برنج از جمله عملکرد بیولوژیک و وزن دانه گزارش کرده‌اند. این نتیجه می‌تواند به‌خاطر ماهیت چندژنی بودن کنترل این صفات و تجمع آلل‌های مطلوب از هر دو والد، ایستازی، اثر متقابل ژنوتیپ با محیط و جهش در طول فرآیند کشت‌بافت برای تولید جمعیت هاپلوئید مضاعف شده باشد (Tian *et al.*, 2005; Sheykhpour Ahandani *et al.*, 2013). تجزیه همبستگی بین صفات نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین وزن ساقه و وزن دانه وجود ندارد.

برای هر دو صفت وزن ساقه و وزن دانه ارزش‌های بیشتر از والد دارای حداکثر مقدار صفت و کمتر از والد دارای حداقل صفت دیده شد که حاکی از وجود تفکیک متجاوز در وراثت آن‌هاست. این نتیجه احتمالاً به‌خاطر ماهیت چندژنی بودن کنترل صفات مربوطه و تجمع آلل‌های مطلوب از هر دو والد در جمعیت RILها می‌باشد. کاوون و همکاران (Kwon *et al.*, 2008)، موافق و همکاران (Movafegh *et al.*, 2009)، احمدی و همکاران (Ahmadi *et al.*, 2009)، فتوکیان و همکاران (Fotokian *et al.*, 2009)، صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2011)، صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2012)، عبادی و همکاران (Ebadi *et al.*, 2013)، صبوری و کاتوزی (Sabouri and Katouzi, 2014)، ربیعی و

درصد از واریانس فنوتیپی صفت را توجیه کرد. اثر افزایشی این QTL برابر ۸/۵۶۳- بود که جهت منفی آن نشان می‌دهد که آلل افزایش‌دهنده از والد سپیدرود به نتاج منتقل شده است (جدول ۱). در حالی که در سال دوم برای این صفت QTLی ردیابی نشد. تفرق صفات و تغییرات شرایط محیطی (آب و هوا) از دلایل عدم پایداری QTLهای شناسایی شده بیان شده است (Kaviani Charati et al., 2016).

در مجموع دو سال آزمایش، QTLهای متعددی برای صفات مورد بررسی ثبت شد؛ ولی چون LOD آنها اندکی کمتر از ۳ بود، در این مقاله مورد بحث قرار نگرفت. در این میان دوازده QTL که کنترل دو صفت وزن ساقه و وزن دانه را به‌عهده داشتند، به‌عنوان QTLهای تاثیرگذار و مهم شناسایی شدند. برای وزن ساقه در سال اول آزمایش فقط یک QTL بزرگ‌اثر روی کروموزوم هشت (2015) qSHW-8 در فاصله (iPBS2221-1800- RM337) مکان‌یابی شد که ۱۲/۴

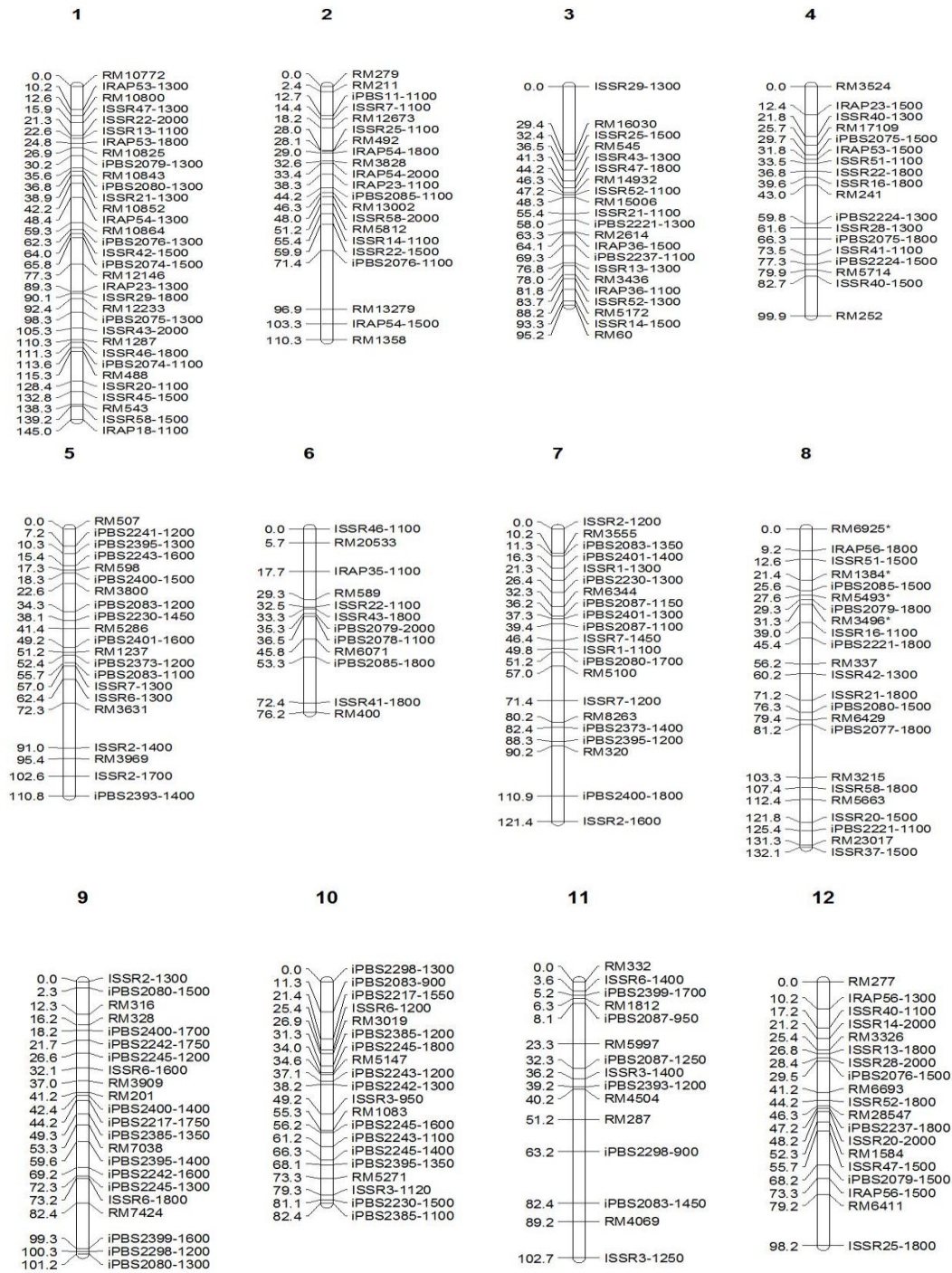
جدول ۱- مکان‌های ردیابی شده برای صفات زراعی در جمعیت F9 اهلمی طارم × سپیدرود

Table 1. QTLs identified for agronomical traits in RILs derived from Ahlamitarom × Sepidroud cross

| صفات Traits | QTL | کروموزوم Chromosome | نشانه‌های مجاور Flanking markers | نقطه اوج Position (cM) | اثر افزایشی Additive effect | اثر F افزایشی F-Additive effect | واریانس بیان‌شده Explaining facto | جهت آلل Allele direction | |
|--------------------------|---------------|------------------------|---|---------------------------------|--------------------------------------|--|--|-----------------------------------|---------------------------|
| 1395 (2016) | | | | | | | | | |
| وزن ساقه Stem weight | qSHW-8 (2015) | 8 | iPBS2221-1800- RM337 | 56 | 3.342 | -8.563 | 16.176 | 12.4 | سپیدرود Sepidroud |
| وزن دانه Grain weight | qGW-1a (2015) | 1 | RM10772- IRAP53-1300 | 10 | 4.871 | 0.841 | 24.322 | 17.6 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-1b (2015) | 1 | RM10825-iPBS2079-1300 | 30 | 5.605 | 0.928 | 28.412 | 20 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-1c(2015) | 1 | RM10852-IRAP54-1300 | 44 | 4.405 | 1.046 | 21.783 | 16 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-1d (2015) | 1 | ISSR43-2000-RM1287 | 110 | 4.158 | 0.86 | 20.459 | 15.2 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-3 (2015) | 3 | ISSR52-1300-RM5172 | 84 | 3.772 | 0.799 | 18.416 | 13.9 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-6 (2015) | 6 | ISSR43-1800-iPBS2079-2000 | 34 | 3.345 | 1.427 | 16.188 | 12.4 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-12 (2015) | 12 | iPBS2076-1500-RM6693 | 40 | 3.741 | 6.725 | 18.252 | 13.8 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| 1396 (2017) | | | | | | | | | |
| وزن دانه Grain weight | qGW-1a (2016) | 1 | IRAP53-1300-RM10800 | 12 | 4.043 | 1.986 | 19.847 | 14.8 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-1b (2016) | 1 | RM10825-iPBS2079-1300 | 30 | 3.894 | 0.532 | 19.06 | 14.3 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-1c(2016) | 1 | RM10852-IRAP54-1300 | 44 | 3.445 | 0.631 | 16.706 | 12.8 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-1d (2016) | 1 | ISSR43-2000-RM1287 | 108 | 3.264 | 0.615 | 15.773 | 12.2 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-8a (2016) | 8 | ISSR16-1100-iPBS2221-1800 | 42 | 3.068 | 0.687 | 14.767 | 11.5 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-8a (2016) | 8 | iPBS2221-1800-RM337 | 54 | 3.068 | 1.6 | 14.766 | 11.5 | اهلمی طارم Ahlamitarom |
| | qGW-8a (2016) | 8 | iPBS2080-1500-RM6429 | 78 | 3.035 | 0.67 | 14.596 | 11.3 | اهلمی طارم Ahlamitarom |

علامت منفی اثر افزایشی نشان‌دهنده این است که آلل انتقال یافته از والدی که دارای ارزش کمتر برای آن صفت است منتقل شده است.

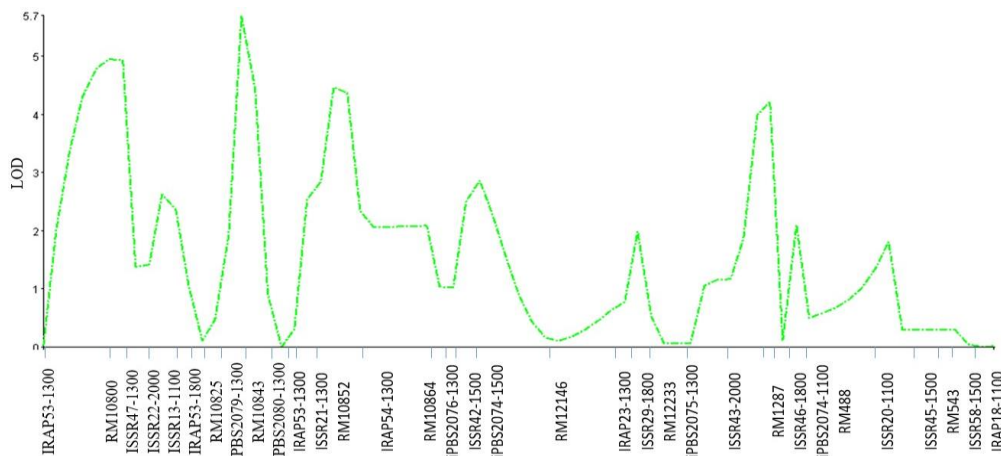
Negative sign of additive effect indicates that alleles transmitted from parent with lower values for the trait of interest.



شکل ۲- نقشه پیوستگی نشانگرهای SSR، iPBS، ISSR و IRAP در لاین‌های نوترکیب خویش آمیخته F9 حاصل از تلاقی

اهلمی طارم × سپیدرود

Figure 2. Linkage map produced by SSR, iPBS, ISSR and IRAP markers in F9 RIL individuals derived from the cross between Ahalamitarom × Sepidroud



شکل ۳- QTL‌های شناسایی شده مربوط به وزن دانه روی کروموزوم شماره یک سال ۱۳۹۵
Figure 3. Detected QTLs for grain weight on chromosome 1 in 2016

سال آزمایش، پایداری داشتند. احمدی‌زاده و همکاران (Ahmadizadeh *et al.*, 2017) برای وزن دانه دو QTL یکی در فاصله نشانگرهای ۳۱۱۷۱۸۴-۲۹۷۶۹۰۴ روی بازوی بلند کروموزوم ۳ و دیگری در فاصله ۷۹۷۶۹۰۴-۹۶۲۸۸۲ روی بازوی بلند کروموزوم ۷ شناسایی کردند. صبوری و همکاران (Sabouri *et al.*, 2012) با استفاده از ۱۹۲ بوته از جمعیت F2 حاصل از تلاقی ارقام شاه‌پسند و IR28 برخی از صفات مرتبط با تحمل به خشکی را در برنج به کمک نشانگر ریزوماهواره مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی سه مکان‌ژنی کمی برای وزن دانه روی کروموزوم‌های یک و شش شناسایی شدند. که در هر سه مورد آل‌های شاه‌پسند باعث افزایش وزن دانه شدند. این مکان‌های ژنی در مجموع بیش از ۲۰ درصد از تنوع فنوتیپی موجود در این صفت را توجیه نمودند. در جمعیت F2 حاصل از تلاقی بینام و کادوس، یک QTL بزرگ اثر روی کروموزوم سه برای وزن دانه شناسایی شد که به‌تنهایی ۱۸ درصد از کل واریانس فنوتیپی را توجیه کرد واز نشانگر RM60 به اندازه ۳ سانتی‌مورگان فاصله داشت (Rabiei *et al.*, 2013). مشاهدات مک‌کوچ و همکاران (Mc Couch *et al.*, 2002) و تامسون و همکاران (Thomson *et al.*, 2003) با نتایج این تحقیق مشابهت داشت.

در صورتی که یک QTL نسبت به QTL‌های شناسایی شده دیگر برای یک صفت، واریانس فنوتیپی بیشتری را کنترل کند و مقیاس LOD بیشتری داشته باشد، بهتر است که آن را به‌عنوان یک ژن بزرگ اثر اصلی کنترل‌کننده آن صفت در نظر گرفت

در پژوهش حاضر از آن‌جایی‌که مواد گیاهی، لاین‌های نوترکیب خویش‌آمیخته نسل ۹ بودند، به‌نظر می‌رسد که سهم تفرق صفات ناچیز بوده و دلیل عمده برای عدم پایداری برخی QTL‌ها تفاوت شرایط آب و هوایی در دو سال آزمایش باشد. نی و همکاران (Ni *et al.*, 1998) در پژوهشی روی جمعیت لاین‌های نوترکیب خالص حاصل از تلاقی IR20 و IR55178-3B-9-3 توانستند چهار QTL برای وزن خشک ساقه روی کروموزوم‌های ۱ و ۶ و ۹ و ۱۲ شناسایی کنند. برای صفت وزن دانه در سال اول، در مجموع هفت QTL شناسایی شد. چهار مورد آن روی کروموزوم یک در فاصله‌های RM10772-IRAP53-1300، RM10825-IPBS2079-1300، RM10852-IRAP54-1300 و RM1287-ISSR43-2000 قرار داشتند که مجموعاً ۶۸٪ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را شامل می‌شوند. اثر افزایشی این چهار QTL مثبت و روی هم ۳/۶۷۵ گرم بود. علاوه بر آن سه QTL دیگر به‌ترتیب روی کروموزوم-های ۳، ۶ و ۱۲ با LOD مساوی ۳/۷۷۲، ۳/۳۴۵ و ۳/۷۴۱ در موقعیت‌های ۸۴، ۳۴ و ۴۰ سانتی‌مورگان نقشه با اثرات افزایشی ۰/۷۹۹، ۱/۴۲۷ و ۶/۷۲۵ شناسایی شد که ۱۳/۹، ۱۲/۴ و ۱۳/۸ درصد از واریانس فنوتیپی را شامل شدند.

در سال دوم نیز در مجموع هفت QTL برای صفت وزن دانه پیدا شد که چهار QTL روی کروموزوم یک بود. سه مورد از این QTL‌ها (qSW-1b (2016)، qSW-1c (2016) و qSW-1d (2016)) مشابه QTL‌های شناسایی شده در سال اول آزمایش بودند. QTL‌های مذکور علیرغم تفاوت‌های آب و هوایی در دو

RM10825 - iPBS2079-1300 به ترتیب با تبیین ۲۰، ۱۴/۸ و ۱۴/۳ درصد از تنوع فنوتیپی، چنین ویژگی را داشتند؛ بنابراین می‌توان از آن‌ها در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر در پروژه‌های اصلاحی استفاده نمود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری، دانشگاه گنبد کاووس و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان بابت حمایت‌های مالی و معنوی تشکر و قدردانی می‌گردد.

(Lin *et al.*, 2004). در بیشتر منابع مقدار واریانس فنوتیپی برای یک ژن بزرگ اثر را ۲۰ درصد عنوان کرده‌اند، اما برخی منابع مقدار درصد توجیه برای یک ژن بزرگ اثر را کمتر از این مقدار نیز می‌دانند به شرطی که تعداد QTL‌های کمتری برای آن صفت ردیابی شده باشد.

مکان ژنی (2015) qGW-1b در فاصله RM10825- iPBS2079-1300 در سال اول و مکان‌های ژنی (2016) qGW-1a در فاصله IRAP53-1300- RM10800 و (2016) qGW-1b در فاصله

References

- Ahmadi, J., Fotukian, M.H. and Fabriki Urang, S. (2009). Study of the association between microsatellite markers (SSRs) and yield components QTLs in rice (*Oryza sativa* L.). *Modern Genetics*, **3(4)**: 45-55 (In Persian).
- Ahmadizadeh, M., Babaeian-Jelodar, N., Mohammadi-Nejad, G.H., Bagheri, N. and Singh, R.K. (2017). Identification of QTLs for rice yield and yield-related traits using high density SNPs linkage map. *Journal of Agricultural Biotechnology*, **9(3)**: 1-24 (In Persian).
- Allagholipor, M. and Mohamadsalehi, M.S. (2015). *Characteristics of Some Local Rice Cultivars in Guilan Province conditions*. Ministry of Jihad-Agriculture, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Rice Research Institute of Iran. Tehran, IR (In Persian).
- Bai, X., Luo, L., Yan, W., Kovi, M.R., Zhan, W. and Xing, Y. (2010). Genetic dissection of rice grain shape using a recombinant inbred line population derived from two contrasting parents and fine mapping a pleiotropic quantitative trait locus qGL7. *BMC Genetics*, **11**: 1-16.
- Basten, C.J., Weir, B.S. and Zeng, Z.B. (2001). *QTL Cartographer: A Reference Manual and Tutorial for QTL Mapping*. North Carolina State University Press, Rilegley, North Carolina, USA.
- Bian, J.M., He, H.H., Li, C.J., Shi, H., Zhu, C.L., Peng, X.S., Fu, J.R., He, X.P., Chen, X.R., Hu, L.F. and Ouyang, L.J. (2013). Identification and validation of a new grain weight QTL in rice. *Genetics Molecular Research*, **12(4)**: 5623-5633.
- Courtois, B., Ahmadi, N., Khowaja, F., Price, A.H., Rami, J.F., Frouin, J., Hamelin, C.H. and Ruiz, M. (2009). Rice root genetic architecture: meta-analysis from a drought QTL database. *Rice*, **2**: 115-128.
- Ebadi, A.A., Farshadfar, E. and Rabiei, B. (2013). Analysis of quantitative trait loci for rice cooking and eating quality based on an Iranian RILs population. *Crop Biotechnology*, **3(2)**: 59-72 (In Persian).
- Fan, C., Xing, Y., Mao, H., Lu, T., Han, B. and Xu, C. (2006). GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theoretical and Applied Genetics*, **112**: 1164-1171.
- Fotokian, M.H., Ahmadi, G., Amiri Oghan, H., Sadatnori, A., Najji, A.M., Mohammadinejad, G., Mohaddes, A. and Agahi, K. (2009). Introduction of quantitative trait loci related to plant height, number of tiller and flag leaf length and width in rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite markers. *Iranian Journal of Biology*, **23(2)**: 488-497 (In Persian).
- Ishimaru, K., Hirotsu, N., Madoka, Y., Murakami, N., Hara, N. and Onodera, H. (2013). Loss of V function of the IAAGlucose hydrolase gene TGW6 enhances rice grain weight and increases yield. *Nature Genetics*, **45**: 707-711.
- Kaviani Charati, A., Sabouri, H., Fallahi, H.A. and Jorjani, E. (2016). QTL mapping of spike characteristics in barley using F3 and F4 families derived from Badia × Komino cross. *Plant Genetic Researches*, **3(1)**: 13-28 (In Persian).
- Kosambi, D.D. (1944). The estimation of map distances from recombination values. *Annual Eugen*, **12**: 172-175.
- Kwon, S.J., Cho, Y.C., Kwon, S.W., Oh, C.S., Suh, J.P., Shin, Y.S., Kim, Y.J., Holligan, D., Wessler, S.R., Hwang, H.G. and Ahn, S.N. (2008). QTL mapping of agronomic traits using an RIL population derived from a cross between temperate japonica cultivars in rice (*Oryza sativa* L.). *Breeding Science*, **58**: 271-279.

- Li, S.B., Zhang, Z.H., Hu, Y., Li, C.Y., Jiang, X., Mao, T., Li, Y.S. and Zhu, Y.G.** (2006). Genetic dissection of developmental behavior of crop growth rate and its relationships with yield and yield related traits in rice. *Plant Science*, **170**: 911-917.
- Li, Y., Fan, C., Xing, Y., Jiang, Y., Luo, L. and Sun, L.** (2011). Natural variation in GS5 plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nature Genetics*, **43**: 1266-1269.
- Lin, H.X., Zhu, M.Z., Yano, M., Gao, J.P., Liang, Z.W., Su, W.A., Hu, X.H., Ren, Z.H. and Chao, D.Y.** (2004). QTLs for Na and K uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theoretical and Applied Genetics*, **108**: 253-260.
- Liu, B.H.** (1998). *Statistical Genomics; Linkage, Mapping and QTL Analysis*. CRC Press, Florida, USA.
- Manly, K.F. and Olson, J.M.** (1999). Overview of QTL mapping software an introduction to map manager QT. *Mammalian Genome*, **10**: 327-334.
- Mc Couch, S.R., Teytelman, L., Xu, Y., Lobos, K., Clare, K. and Walton, M.** (2002). Development of 2243 new SSR markers for rice by the international rice microsatellite initiative. *Proceeding of the First International Rice Congress*, Shanghai, China.
- Movafegh, S., Rabiee, B., Zare Feizabadi, A. and Taheri, G.** (2009). Mapping QTLs controlling yield in two Iranian rice cultivars-F₂ populations. *Iranian Journal of Agricultural Research*, **7(2)**: 673-683 (In Persian).
- Nelson, J.C.** (1997). QGENE: software for marker-based genomic analysis and breeding. *Molecular Breeding*, **3(3)**: 239-245.
- Ni, J.J., Wu, P., Senadhira, D. and Huang, N.** (1998). Mapping QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, **97**: 1361-1369.
- Qi, P., Lin, Y., Song, X., Shen, J., Huang, W. and Shan, J.** (2012). The novel quantitative trait locus GL3. 1 controls rice grain size and yield by regulating Cyclin-T1;3. *Cell Research*, **22**: 1666-1680.
- Rabiei, B. and Sabouri, H.** (2008). *Mapping Genes Controlling Quantitative Traits*. University of Guilan Press, Guila, IR (In Persian).
- Rabiei, B., Masaeli, M. and Torang, A.R.** (2013). Identification Loci for controlling of seed yield and yield components of rice. *Iranian Journal of Crop Science*, **44(2)**: 293-304 (In Persian).
- Sabouri, H. and Katouzi, M.** (2014). Detection of chromosomal regions controlling drought osmotic stress in rice. *Journal of Agricultural Biotechnology*, **6(2)**: 91-100 (In Persian).
- Sabouri, H., Katouzi, M. and Khataminejad, R.** (2011). Role of 1 and 6 chromosomes in genetic control of farm traits in rice. *Modern science of Sustainable Agriculture*, **7(3)**: 29-35 (In Persian).
- Sabouri, H., Sabouri, A. and Khataminejad, R.** (2012). QTL locating of some traits related to drought tolerance in rice. *Production and Processing of Agricultural and Horticultural Products*, **2(4)**: 1-11 (In Persian).
- Saghai Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q. and Allard, R.W.** (1994). Extraordinarily polymorphic microsatellites DNA in barely species diversity, chromosomal location, and population dynamics. *Proceeding of National Academy Science USA*, **91**: 5466-5570.
- Sheykhpour Ahandani, M., Rabiee, B. and Shirzadian Khoramabad, R.** (2013). Identification of QTLs linked to plant height and maturity time in rice. *Iranian Journal of Crop Sciences*, **15(2)**: 107-120 (In Persian).
- Shomura, A., Izawa, T., Ebana, K., Ebitani, T., Kanegae, H. and Konishi, S.** (2008). Deletion in a gene associated with grain size increased yields during rice domestication. *Nature Genetics*, **40**: 1023-1028.
- Song, X.J., Huang, W., Shi, M., Zhu, M.Z. and Lin, H.X.** (2007). A QTL for rice grain width and weight encodes a previously unknown RING-type E3 ubiquitin ligase. *Nature Genetics*, **39**: 623-630.
- Thomson, M.J., Tai, T.H., McClung, A.M., Lai, X.H., Hinga, M.E., Lobos, K.B., Xu, Y., Martinez, C.P. and McCouch, S.R.** (2003). Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson. *Theoretical and Applied Genetics*, **107**: 479-493.
- Tian, R., Jiang, G.H., Shen, L.H., Wang, L.Q. and 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.
- Wang, E., Wang, J., Zhu, X., Hao, W., Wang, L. and Li, Q.** (2008). Control of rice grain-filling and yield by a gene with a potential signature of domestication. *Nature Genetics*, **40**: 1370-1374.
- Wang, S., Wu, K., Yuan, Q., Liu, X., Liu, Z. and Lin, X.** (2012). Control of grain size, shape and quality by OsSPL16 in rice. *Nature Genetics*, **44**: 950-954.
- Xing, Y. and Zhang, Q.** (2010). Genetic and molecular bases of rice yield. *Annual Review Plant Biology*, **61**: 421-442.
- Xu, F., Sun, X., Chen, Y., Huang, Y., Tong, C. and Bao, J.** (2015). Rapid identification of major QTLs associated with rice grain weight and their utilization. *PLoS ONE*, **10(3)**: e0122206.

qGW, a Stable and Major QTL for Increasing of Grain Weight in Rice (*Oryza sativa* L.)

Mohammad Reza Jafarzadeh Razmi¹, Saeed Navabpour², Hossein Sabouri^{3,*}
and Seyedeh Sanaz Ramazanpour²

- 1- Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- 3- Associate Professor, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Gonbad Kavous, Iran

(Received: October 7, 2019 – Accepted: January 11, 2020)

Abstract

In order to analyze the genetic components of agronomic traits among 116 F₉ recombinant lines derived from crosses of Ahlmitarom × Sepidroud rice cultivars, an experiment was conducted as a randomized complete block design in research farm of Gonbad Kavous University of Agriculture with three replications in 2016 and 2017. Genetic linkage map provided with 80 SSR markers, 28 iPBS Markers (79 polymorphic alleles), 7 IRAP markers (17 polymorphic alleles) and 26 ISSR markers (70 polymorphic alleles), which covered 1275.4 cM of the rice genome. QTL analysis was performed by Composite Interval Mapping. In two years, 15 QTLs detected for the studied traits. The additive effect varied from 6.725 g for grain weight up to -85.626 g for grain weight. Also, R² for the detected QTLs explained from 11.3% to 20% of the total variation. The highest R² was related to grain weight in the first year of experiment. Among the detected QTLs, qGWs on chromosome 1, were found to be stable and large effector QTLs for rice (*Oryza sativa* L.) grain weight, and can be used in marker-assisted breeding and selection programs after validation.

Keywords: Rice, Molecular markers, Linkage map, Grain weight, Shoot weight, QTL

*Corresponding Author, E-mail: hossein.sabouri@gonbad.ac.ir