

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده عملکرد دانه و صفات مرتبط با خصوصیات دانه در ژنوم آفتابگردان

Mapping Genes Controlling Seed Yield and Traits Associated with Seed Characteristics in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Genome

نادر عبیوض‌نژاد^۱، حافظ^۱، رضا درویش‌زاده^{۲*}، ایرج برنوسی^۳، محمد مقدم^۴، هاشم هادی^۵ و مهدی رحیمی^۶

تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۹/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۱۲

چکیده

یکی از روش‌های نوین برای اصلاح گیاهان و تولید ارقام جدید مشخص‌نمودن ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی با استفاده از نشانگرهای DNA به‌منظور استفاده در گزینش به‌کمک نشانگر است. در این مطالعه، جمعیت ژنتیکی شامل ۷۰ لاین خویش آمیخته نو ترکیب حاصل از تلاقی لاین PAC2 (والد مادری) و لاین RH266 (والد پدری) با هدف شناسایی مکان‌های ژنی (QTL‌های) مرتبط با عملکرد دانه و صفات مرتبط با خصوصیات دانه از قبیل طول، عرض و قطر دانه، وزن صد دانه و درصد پوسته و درصد مغز دانه در آفتابگردان، در قالب طرح لاتیس مستطیل در دو تکرار کشت گردیدند. نتایج تجزیه واریانس طرح لاتیس اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها برای تمامی صفات مورد مطالعه نشان داد. برای شناسایی QTL‌ها، از یک نقشه پیوستگی با ۲۱۰ نشانگر SSR و ۱۱ نشانگر SNP با درجه اشباع یک نشانگر در ۷/۴۴ سانتی‌مورگان استفاده شد. نتایج مکان‌یابی ژنی نشان داد که ۳۱ QTL در کنترل ژنتیکی صفات مورد مطالعه نقش دارند. ۵۴ درصد QTL‌های شناسایی شده برای صفات مورد بررسی هم مکان بودند. درصد تغییرات فنوتیپی توجیه‌شده توسط QTL‌های شناسایی شده بین ۰/۰۵ الی ۶۴/۱۳ درصد متغیر بود. نشانگر ORS169 با ژن‌های کنترل‌کننده عملکرد تک‌بوته و قطر دانه پیوسته بود. شناسایی QTL‌های هم مکان می‌تواند باعث افزایش کارایی انتخاب به‌کمک نشانگر و پیشبرد برنامه‌های اصلاحی شود.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان روغنی، لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب، نقشه پیوستگی، شناسایی QTL

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه

۲ و ۳. دانشیاران گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه

۴. استاد گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز

۵. استادیار گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ارومیه

۶. مربی هنرستان کشاورزی شهید دکتر بهشتی ارومیه، ارومیه

Email: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

* نویسنده مسوول

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) گیاهی یک‌ساله از خانواده Compositae بوده و خاستگاه اولیه آن آمریکای مرکزی می‌باشد. این گیاه یکی از مهم‌ترین منابع روغن نباتی در جهان است سیلر و جان (Seiler and Jan, 2010). صفات مهم زراعی که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شوند صفات کمی نامیده می‌شوند. بخش‌هایی از ژنوم که در برگیرنده ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی هستند را QTL می‌نامند/اسینگتن و همکاران (Eathington et al., 2007). یکی از روش‌های نوین برای اصلاح گیاهان و تولید ارقام جدید مشخص نمودن ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی با استفاده از نشانگرهای DNA به‌منظور استفاده در گزینش به کمک نشانگر است. نقشه پیوستگی ژنتیکی امکان انتخاب مستقیم ژن‌های مطلوب از طریق پیوستگی آنها با نشانگرهای مولکولی را فراهم آورده است. مکان‌یابی QTLها از طریق ارتباط دادن بین ارزش‌های صفات کمی در افراد حاصل از تلاقی‌ها در نسل‌های در حال تفرق و ارزش‌های ژنوتیپی افراد با استفاده از روش‌های بیومتریک است. در حقیقت تجزیه QTL مبتنی بر جستجوی سیستماتیک نامتعادلی پیوستگی در بین مکان‌های QTL و جایگاه نشانگرها است. اگر محل QTL در روی نقشه کروموزومی تعیین شود و پیوستگی آنها با نشانگرهای مولکولی به اثبات برسد، در این صورت می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی انتخاب را براساس نشانگرها انجام داد کلارد و همکاران (Collard et al., 2005).

چندین نقشه پیوستگی در آفتابگردان و با استفاده از جمعیت‌های مختلف (Hu, 2010) و به‌ویژه لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب تانگ و همکاران، پورمحمدکیانی و همکاران (Tang et al., 2002; Poormohammad Kiani et al., 2007a) برای بررسی صفات کمی پورمحمدکیانی و صرافی (Poormohammad Kiani and Sarrafi, 2010) و کیفی هان و ویکهورست (Hahn and Wieckhorst, 2010) تهیه شده است. لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب جمعیت‌های پایداری هستند که مقدار بذری زیادی از هر لاین را می‌توان به‌دست آورد و ارزیابی فنوتیپی را در قالب طرح آزمایشی به‌صورت تکراردار انجام داد که در این صورت اثر محیط به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. این لاین‌ها تقریباً خالص‌اند، به‌طوری‌که بین لاین‌ها واریانس زیاد و درون لاین‌ها کم است. مطالعات بسیاری در مورد تعیین جایگاه‌های ژنی صفات مربوط به رشد و نمو و صفاتی که از نظر زراعی مهم می‌باشند مثل کمیت و کیفیت روغن مکرانی و همکاران، پرز-ویچ و همکاران

(Mokrani et al., 2002; Prez-Vich et al., 2002, 2004a) زمان گلدهی و پاسخ به فتوپریود لئون و همکاران (Leon et al., 2001)، مقاومت به سرما آلین و همکاران (Allinne et al., 2009)، مقاومت به خشکی پورمحمدکیانی و همکاران، عبدی و همکاران (Poormohammad Kiani et al., 2007a, b, 2008, 2012, 2013)، مقاومت به انگل گل جالیز پرز-ویچ و همکاران (Prez-Vich et al., 2004b)، جنین‌زایی سوماتیکی فلورس بریوس و همکاران (Flores Berrios et al., 2000)، مقاومت به بیماری *Diaporthe helianthi* برت و همکاران (Bert et al., 2002)، بیماری *Sclerotinia sclerotiorum* مستریس و همکاران، میکیک و همکاران، برت و همکاران، داور و همکاران (Mestries et al., 1998; Micic et al., 2004; Bert et al., 2002, 2004; Davar et al., 2010)، بیماری ساقه سیاه فوما رشید الشعرائی و همکاران، برت و همکاران، درویش‌زاده و همکاران (Rachid Al-Chaarani et al., 2007)، بیماری *Plasmopara halstedii* رشید الشعرائی و همکاران (Rachid Al-Chaarani et al., 2002) با استفاده از جمعیت لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب در آفتابگردان صورت گرفته است. برای نمونه در مطالعات عبدی و همکاران (Abdi et al., 2012) با استفاده از نقشه پیوستگی PAC2 × RHA266، ۹، ۱۳، ۱۴، ۱۶ و ۱۷ شناسایی شد، که ۵ QTL در شرایط آبیاری نرمال و ۴ QTL دیگر در شرایط آبیاری محدود صفت را کنترل می‌کنند. درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط QTL های شناسایی‌شده بین ۰/۴ تا ۹/۸۵٪ بود. از بین QTL‌های مربوط به عملکرد دانه ۳ QTL بر روی گروه‌های پیوستگی ۱۲، ۱۳ و ۱۷ هم‌مکان بودند. مهم‌ترین QTL برای عملکرد دانه بر روی گروه پیوستگی ۱۴ قرار داشت و ۹/۸۵٪ از تغییرات فنوتیپی صفت را کنترل می‌کرد و آلل مثبت از والد RHA266 بود.

در مطالعه حاضر تجزیه ژنتیکی عملکرد دانه و خصوصیات مرتبط با دانه در جمعیت لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی دو لاین آفتابگردان دانه روغنی شامل PAC2 (والد مادری) و RH266 (والد پدری) انجام گرفته و جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده صفات مورد بررسی در ژنوم آفتابگردان شناسایی شده است.

مواد و روش‌ها

در سال زراعی ۱۳۹۰، ۷۰ لاین خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان (نسل F9) حاصل از تلاقی دو لاین PAC2 (والد مادری) و RH266 (والد پدری) به همراه والدین در مزرعه پژوهشی هنرستان کشاورزی ارومیه در قالب طرح لاتیس مستطیل و در دو تکرار کشت گردیدند. هر تکرار شامل ۹ بلوک ناقص بود. هر بلوک ناقص به ۸ کرت زراعی تقسیم و در هر کرت سه ردیف به طول سه متر با فاصله ردیف ۶۵ سانتی-متر و فاصله بین بوته‌ها ۲۵ سانتی-متر با تراکم ۶ بوته در مترمربع در نظر گرفته شد. کاشت به صورت جوی و پشته بعد از آبیاری اولیه (هیرم کاری) انجام گرفت. آبیاری به صورت معمول منطقه هر ۷ تا ۱۰ روز یک بار انجام می‌گرفت. پس از استقرار گیاهان در مرحله ۴ برگی عملیات تنک جهت تنظیم تراکم مورد نظر صورت گرفت. مبارزه با علف‌های هرز به صورت مکانیکی و چندین بار انجام شد. بعد از رسیدن گیاهان به مرحله ۸ برگی به مقدار ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به صورت سرک بین ردیف‌ها پخش شد و بلافاصله آبیاری انجام گرفت. در جریان دوره رشد رویشی و زایشی هیچ‌گونه آفت و یا بیماری خاصی مشاهده نگردید. جهت جلوگیری از خسارت گنجشک در مرحله تشکیل و پرشدن دانه، طبق‌ها توسط پاکت پوشانده شدند. برداشت در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک انجام گرفت. از هر کدام از ۵ بوته در خط وسطی ۱۰ عدد دانه به‌طور تصادفی انتخاب و میانگین طول، عرض و قطر دانه، و همچنین میانگین وزن پوسته و مغز دانه اندازه‌گیری گردید. در این مطالعه میانگین عملکرد تک‌بوته و وزن صد دانه نیز اندازه‌گیری شد.

شناسایی داده‌های (پرت و آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی مطابق روش شاپیرو و ویلک (Shapiro and Wilk, 1965) در نرم‌افزار SAS (UNIVARIATE PROC) انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها براساس مدل طرح لاتیس مستطیل ۸×۹ با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹.۲ (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) انجام گرفت. آماره‌های توصیفی و همبستگی فنوتیپی بین صفات مورد مطالعه در نرم‌افزار SAS تعیین گردید. برای شناسایی جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده صفات مذکور، از نقشه پیوستگی توسعه‌یافته توسط حدادی و همکاران (Haddadi et al., 2012) و عموزاده و همکاران (Amouzadeh et al., 2013) استفاده شد. انگشت‌نگاری افراد جمعیت ژنتیکی در این نقشه با کمک مارکرهای SSR و SNP بر روی ژل آگارز انجام گرفته است. این نقشه ژنی شامل ۲۱۰ نشانگر SSR و ۱۱ نشانگر SNP روی ۱۷

گروه پیوستگی برابر با تعداد کروموزوم‌های ژنوم هاپلوئید آفتابگردان می‌باشد. شماره هر گروه پیوسته براساس نقشه مرجع آفتابگردان شماره‌گذاری شده است *تانگ* و همکاران (Tang et al., 2002). کل طول نقشه ۱/۱۶۳۵ سانتی‌مورگان با میانگین تراکم یک نشانگر در هر ۷/۴۴ سانتی‌مورگان است. نواحی کروموزومی کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه با روش نقشه‌یابی فاصله‌ای در نرم‌افزار Windows QTL Cartographer نسخه ۲.۵ و ارزش میانگین تکرارهای صفات شناسایی شدند *وانگ* و همکاران (Wang et al., 2011). ژنوم در فاصله‌های ۲ سانتی‌مورگان با اندازه پنجره ۱۵ سانتی‌مورگان مورد کاوش قرار گرفت. سطح آستانه یا LOD برای شناسایی QTL‌های معنی‌دار از طریق آزمون جایگشت (n=1000) توسط نرم‌افزار QTL Cartographer تعیین شد *چورچیل* و *دورج* (Churchill and Doerge, 1994). از موقعیت پیک QTL جهت تخمین درصد واریانس فنوتیپی توجیه‌شده توسط آن (R^2) که با QTL Cartographer به‌دست می‌آید، استفاده شد *باستن* و همکاران (Basten et al., 2002). برای رسم گروه‌های پیوستگی و نشان دادن موقعیت QTL‌های صفات مورد مطالعه در گروه‌های پیوستگی از نرم‌افزار MapChart (<http://www.wageningenur.nl/en/show/Mapchart.htm>) استفاده شد.

نتایج و بحث

توزیع اشتباهات آزمایشی تمامی صفات مورد مطالعه به غیر از صفت عملکرد دانه نرمال بودند. تجزیه واریانس نشان داد اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد بررسی وجود دارد (جدول ۱)، که بیانگر وجود تنوع لازم برای تجزیه QTL در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب مورد مطالعه می‌باشد. تفاوت بین میانگین لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب (RILs) و میانگین والدین برای صفات مطالعه شده معنی‌دار نبود (جدول ۲) که نشان می‌دهد جمعیت RILs مورد استفاده برای این مطالعه، مجموعه کاملی از تمامی لاین‌های نو ترکیب ممکن از تلاقی PAC×RHA266 می‌باشد *درویش زاده* و همکاران (2007)، *حدادی* و همکاران (Haddadi et al., 2012). تفاوت بین میانگین ۱۰٪ از بهترین RILها و میانگین والدین (بازده ژنتیکی) برای بیشتر صفات معنی‌دار بود (جدول ۲). در بررسی توزیع فراوانی RILها و والدین برای هر یک از صفات مورد مطالعه، برای بیش‌تر صفات تفکیک متجاوز مشاهده گردید (شکل ۱). این نتیجه احتمالاً به‌خاطر ماهیت چندژنی بودن کنترل صفات مربوطه و تجمع آلل‌های مطلوب

از هر دو والد در جمعیت RILها می‌باشد. در مطالعاتی که توسط رشید الشعرائی و همکاران (Rachid Al-Chaarani *et al.*, 2004) و پورمحمدکیانی و همکاران (Poormohammad *et al.*, 2007a) در آفتابگردان انجام گرفته تفکیک متجاوز و تنوع برای صفات آگرو-مورفولوژیک و صفات مربوط به روابط آبی مشاهده شده است.

در این مطالعه، ضریب همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات مشاهده گردید (جدول ۳). بالاترین همبستگی بین عرض دانه و وزن صد دانه (۰/۹۰۰)، قطر دانه و عرض دانه (۰/۹۰۸) و بین عرض دانه و عملکرد دانه (۰/۶۶) مشاهده شد. اثرات پلیوتروپی چندین QTL یا ژن‌هایی با پیوستگی نزدیک، می‌تواند از دلایل اصلی همبستگی بین صفات باشد/استویت و استویت، ولدبوم و همکاران (Aastveit and Aastveit, 1993; Veldboom *et al.*, 1994). از آنجایی که لاین‌های اینبرد برای رسیدن به هوموزیگوتی کراسینگ‌اورهای فراوانی را تجربه می‌نمایند، بنابراین از مقدار همبستگی‌های ناشی از پیوستگی بین ژن‌ها کاسته شده و به احتمال زیادی این همبستگی‌های بزرگ می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی باشند هالدن و همکاران (Haldane *et al.*, 1931).

مشخصات QTLهای شناسایی‌شده برای صفات مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. در کل ۳۱ QTL برای صفات مورد مطالعه شناسایی گردید. برای مشاهده بهتر هم مکانی QTLهای صفات مورد مطالعه، جایگاه QTLها در روی گروه‌های پیوستگی نشان داده شده است (شکل ۲). نتایج

تجزیه QTL نشان داد که QTLهای مربوط به صفات مورد مطالعه در سراسر ژنوم به استثنای گروه‌های پیوستگی ۴، ۵، ۷ و ۸ پراکنده‌اند. دامنه‌ی LOD برای QTLهای شناسایی‌شده بین ۱/۹۱ تا ۴/۷۳ درصد بود. برای عرض دانه ۴ QTL شناسایی شد که بر روی گروه‌های پیوستگی ۲ و ۳ قرار داشتند. واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط این QTLها بین ۸/۹۳ تا ۶۴/۱۳ درصد متغیر بود. علامت منفی در اثرات افزایشی QTLهای شناسایی شده نشان می‌دهد که آلل‌های مطلوب (آلل‌های افزایش‌دهنده صفت) از والد مادری PAC2 مشارکت داشته‌اند. مهم‌ترین QTL برای عرض دانه بر روی گروه پیوستگی ۲ قرار دارد، که ۶۴/۱۳ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه می‌کند. برای قطر دانه ۶ QTL شناسایی شد. واریانس فوتیپی توجیه‌شده توسط این QTLها بین ۰/۹۰ تا ۸/۵۸ درصد متغیر بود. علامت منفی اثرات افزایشی QTLهای شناسایی‌شده نشان می‌دهد که آلل‌های مطلوب از والد مادری (PAC2) مشارکت داشته‌اند. برای درصد مغز دانه ۲ QTL شناسایی شد که بر روی گروه‌های پیوستگی ۱ و ۳ قرار داشتند. واریانس فوتیپی توجیه شده توسط این QTLها بین ۱۷/۷۸ تا ۲۶/۲۳ درصد متغیر بود. آلل‌های مطلوب از هر ۲ والد مادری و پدری مشارکت داشته‌اند. برای وزن صد دانه ۲ QTL شناسایی شد که بر روی گروه‌های پیوستگی ۱ و ۱۴ قرار داشت. واریانس فوتیپی توجیه‌شده توسط این QTLها بین ۱/۳۰ تا ۲/۸۲ درصد متغیر بود و آلل‌های مطلوب از هر ۲ والد مادری و پدری مشارکت داشته‌اند.

جدول ۱: تجزیه واریانس طرح لاتیس مستطیل برای عملکرد و صفات دانه در لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب آفتابگردان

Table 1: Analysis variance of rectangular lattice design for yield and seed characteristics in sunflower recombinant inbred lines (RILs)

میانگین مربعات		میانگین مربعات						منابع تغییر	
Mean square	درجه آزادی	Mean square						درجه آزادی	Source of variation
عملکرد تک بوته	df	درصد پوسته دانه	وزن صد دانه 100- whole seed weight	طول دانه Whole seed length	عرض دانه Whole seed width	قطر دانه Whole seed diameter	درصد مغز دانه Percentage of dehulled kernel	df	
3.31**	68	44.79**	7.20**	2.30**	1.51**	0.78**	44.79**	66	تیمار Treatment
2.26**	1	0.01	0.60**	3.36**	0.34**	0.49**	0.01**	1	تکرار Replication
0.54 ^{ns}	16	1.11 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.034 ^{ns}	0.011 ^{ns}	0.01 ^{ns}	1.11 ^{ns}	16	بلوک/تکرار Block / Replication
1.22	45	0.86	0.019	0.031	0.009	0.01	0/86	43	خطا Error
	130							126	کل Total
23.42		2.89	2.14	1.66	1.75	2.94	1.37		ضریب تغییرات Coefficient of variation

جدول ۲: پارامترها و بازده ژنتیکی برای عملکرد و صفات دانه در لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب آفتاب‌گردان

Table 2: Genetic parameters and gains for yield and seed characteristics in sunflower recombinant inbred lines (RILs)

والد Parent	صفات Characters						
	PDHK	WSD	WSW	WSL	100WSW	PSH	SYP
PAC2(P1)	82.35	3.23	5.09	9.69	5.13	17.65	2.90
RHA266(P2)	68.22	4.34	5.65	10.43	6.41	31.78	2.61
P1-P2	14.13	-1.10	-0.56	-0.74	-1.27	-14.1	2.20
\bar{x}_P	75.28	3.78	5.36	10.05	5.76	24.71	2.76
MAX	78.47	6.79	9.27	14.59	12.01	44.31	9.24
MIN	55.69	2.59	3.96	8.41	2.76	21.53	1.78
\bar{x} RIL	67.56	3.84	5.51	10.72	6.53	32.44	3.78
$\bar{x}_P \bar{x}$ RIL-	-7.72	0.06	0.14	0.66	0.76	7.72	1.02
\bar{x} 10% best RIL	74.4	5.07	7.13	12.79	10.36	41.13	6.30
GG10%	-0.88	1.29	1.77	2.74	4.60	16.42	3.54
STDEV	4.96	0.68	0.96	1.13	2.02	4.96	1.34

\bar{x}_P : میانگین والدین، \bar{x} RIL: میانگین لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب، \bar{x} 10%bestRILs: میانگین ۱۰٪ از بهترین لاین‌های خویش‌آمیخته انتخابی برای صفات مورد مطالعه، GG10%: بازده ژنتیکی زمانی که ۱۰٪ از بهترین لاین‌های خویش‌آمیخته انتخابی با میانگین والدین مقایسه شوند، STDEV: انحراف معیار استاندارد. PDHK = درصد مغز دانه، WSD = قطر دانه، WSW = عرض دانه، میانگین والدین مقایسه شوند، STDEV: انحراف معیار استاندارد. PDHK = درصد مغز دانه، WSD = قطر دانه، WSW = عرض دانه، WSL = طول دانه، 100WSW = وزن صد دانه، PSH = درصد پوسته دانه و SYP = عملکرد تک بوته

\bar{x}_P : mean of the parents, \bar{x} RILs: mean of all recombinant inbred lines, 10%SRILs: mean of the 10% selected RILs, GG10%: genetic gain when the mean of 10% selected RILs is compared with the mean of parents. PDHK= percentage of dehulled kernel, WSD= whole seed diameter, WSW= whole seed width, WSL= whole seed length, 100WSW=100- whole seed weight, PSH= percentage of seed hull, SYP= seed yield per plant

جدول ۳: همبستگی بین صفات در جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب آفتاب‌گردان

Table 3: Correlation among traits in sunflower recombinant inbred lines (RILs)

متغیر Variable	PDHK	WSD	WSW	WSL	100WSW	PSH	SYP
PDHK	1						
WSD	-0.481	1					
WSW	-0.364	0.908**	1				
WSL	-0.344	0.496**	0.595**	1			
100WSW	-0.4	0.827**	0.9**	0.656**	1		
PSH	-1	0.481**	0.364**	0.344**	0.400**	1	
SYP	-0.279	0.076ns	0.66**	0.386**	0.554**	0.279	1

PDHK = درصد مغز دانه، WSD = قطر دانه، WSW = عرض دانه، WSL = طول دانه، 100WSW = وزن صد دانه، PSH = درصد پوسته دانه و SYP = عملکرد تک بوته

PDHK= percentage of dehulled kernel, WSD= whole seed diameter, WSW= whole seed width, WSL= whole seed length, 100WSW=100- whole seed weight, PSH= percentage of seed hull, SYP= seed yield per plant

جدول ۴: QTL‌های کنترل‌کننده عملکرد و صفات دانه در لاین‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان

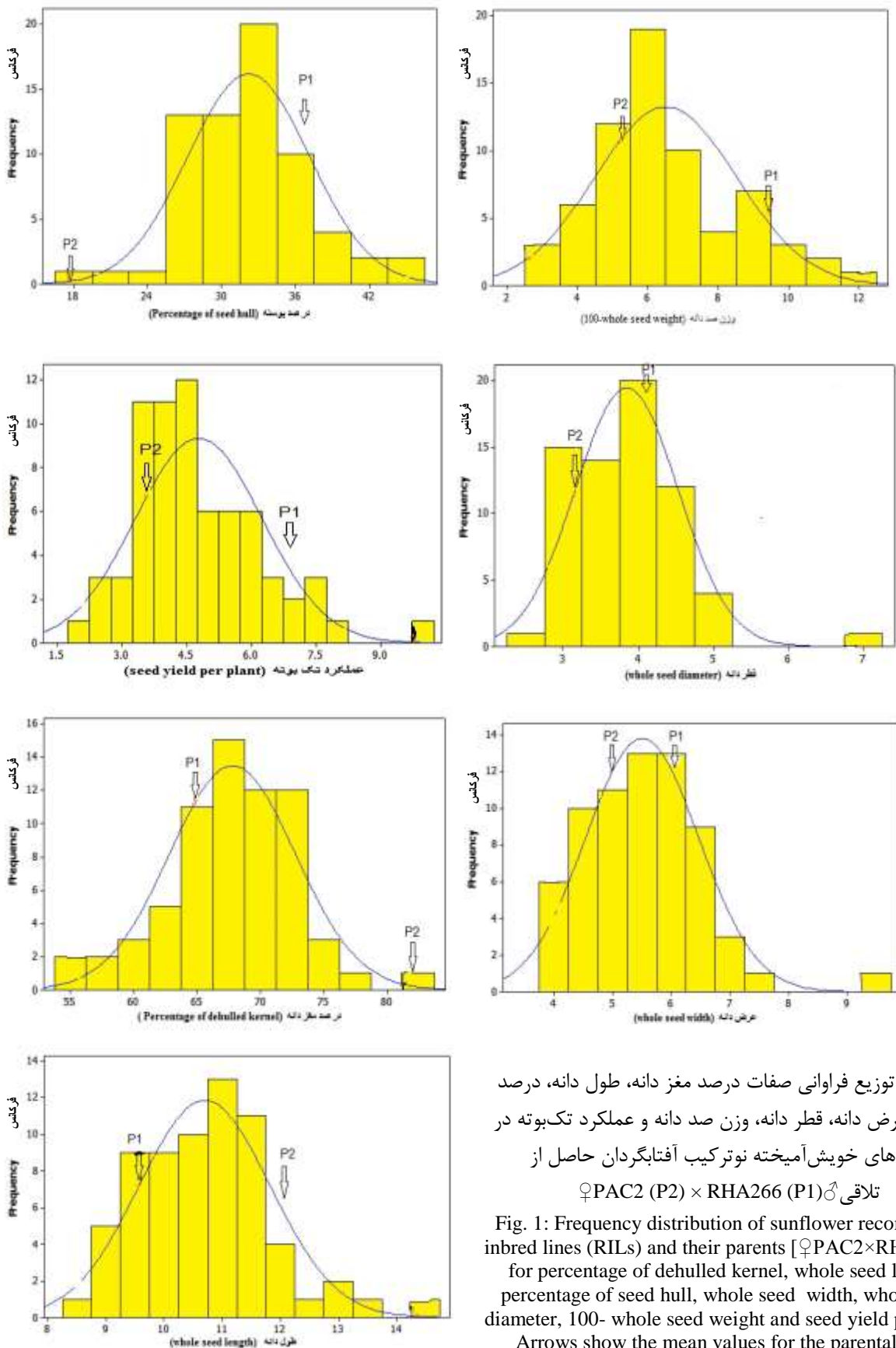
Table 4: Map position and effect of QTLs detected for yield and seed characteristics in sunflower recombinant inbred lines (RILs)

صفت Character	QTL	LG	موقعیت Position (CM)	LOD	اثرهای افزایشی Additive effects	R ²	صفت Character	QTL	LG	موقعیت Position (CM)	LOD	اثرهای افزایشی Additive effects	R ²
WSW	WSW.2.1	2	0.01	3.11	-0.42	8.93	PSH	PSH.1.1	1	61.01	3.23	2.71	26.23
	WSW.2.2	2	8.01	2.58	-1.12	64.13		PSH.3.1	3	12.01	3.00	-2.67	19.92
	WSW.3.1	3	14.01	2.62	-0.32	18.30		PSH.3.2	3	25.01	3.43	-2.55	17.78
	WSW.3.2	3	23.01	3.43	-0.56	14.96		PSH.3.3	3	41.01	2.01	-0.98	9.10
WSD							PSH.6.1	6	7.01	2.42	-1.00	0.05	
							PSH.10.1	10	53.01	2.00	-1.71	5.68	
							PSH.13.1	13	54.01	1.99	-0.19	2.68	
							PSH.14.1	14	73.01	1.91	1.25	5.01	
							PSH.15.1	15	0.01	2.25	1.18	4.35	
							PSH.16.1	16	70.01	2.32	1.02	2.61	
PDHK							WSL	WSL.9.1	9	26.01	2.65	-0.50	11.12
							WSL.9.2	9	45.01	3.29	-0.27	8.28	
							WSL.12.1	12	67.01	3.00	-0.23	2.33	
							WSL.14.1	14	61.01	2.61	0.09	1.96	
							WSL.16.1	16	0.01	3.58	-0.14	3.78	
100WSW	100WSW.1.1	1	27.01	87.02	-1.59	2.82	WSL.16.2	16	47.01	3.04	0.22	1.69	
	100WSW.14.1	14	61.01	2.92	0.25	1.30							
							SYP	SYP.17.1	17	11.01	4.73	2.35	1.13

WSW: عرض دانه، WSD: قطر دانه، PDHK: درصد مغز دانه، 100WSW: وزن صد دانه، PSH: درصد پوسته، WSL: طول دانه و SYP: عملکرد تک‌بوته. علامت منفی در اثرات افزایشی نشان دهنده نقش

والد مادری (PAC2) در افزایش صفت و علامت مثبت در اثرات افزایشی نشان‌دهنده نقش والد پدری (RHA266) در افزایش صفت است

cM: centimorgan; LG: linkage group; LOD: log₁₀ likelihood ratio (likelihood that the effect occurs by linkage/likelihood that the effect occurs by chance); QTL: quantitative trait loci; R²: percentage of phenotypic variance explained by the individual QTLs

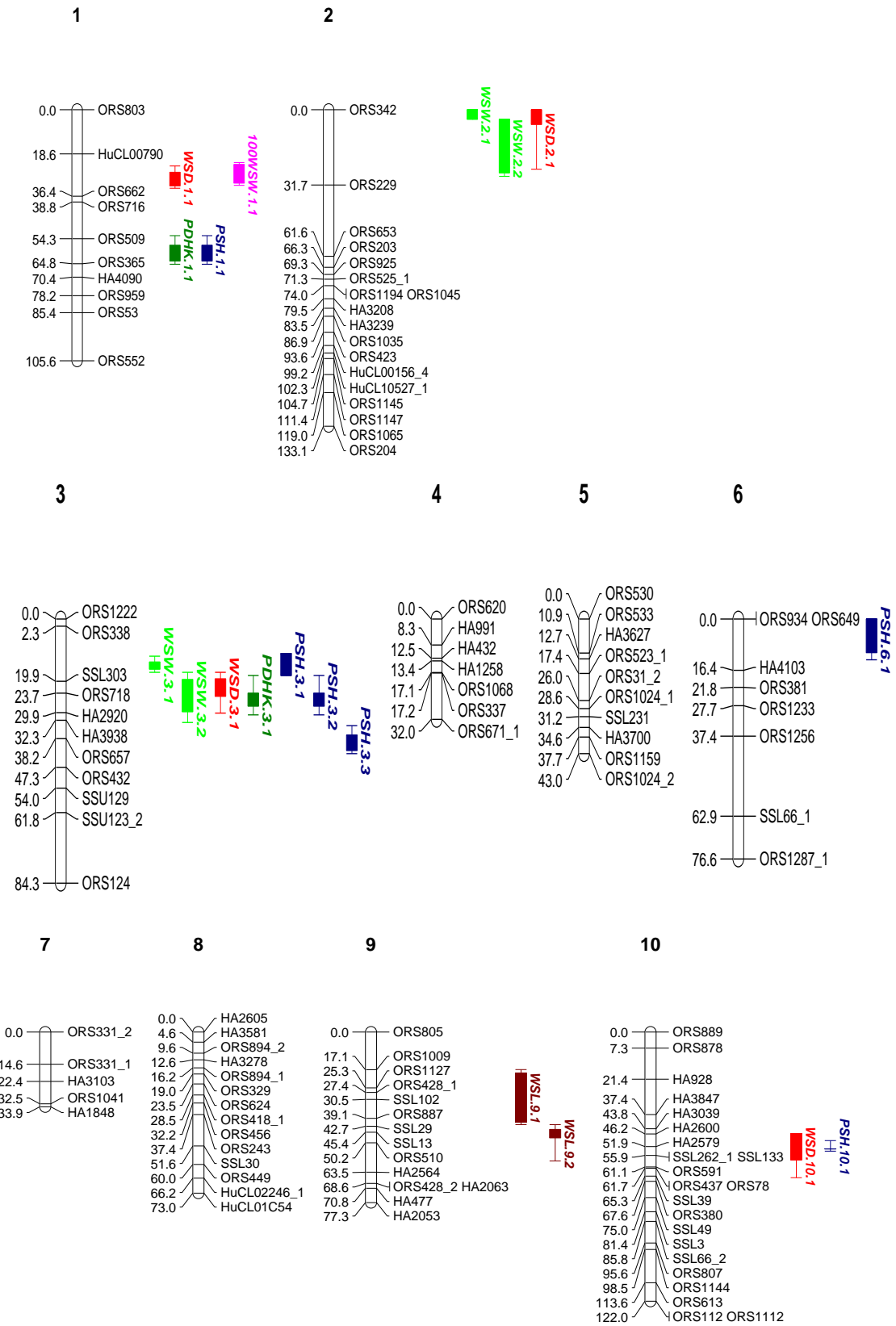


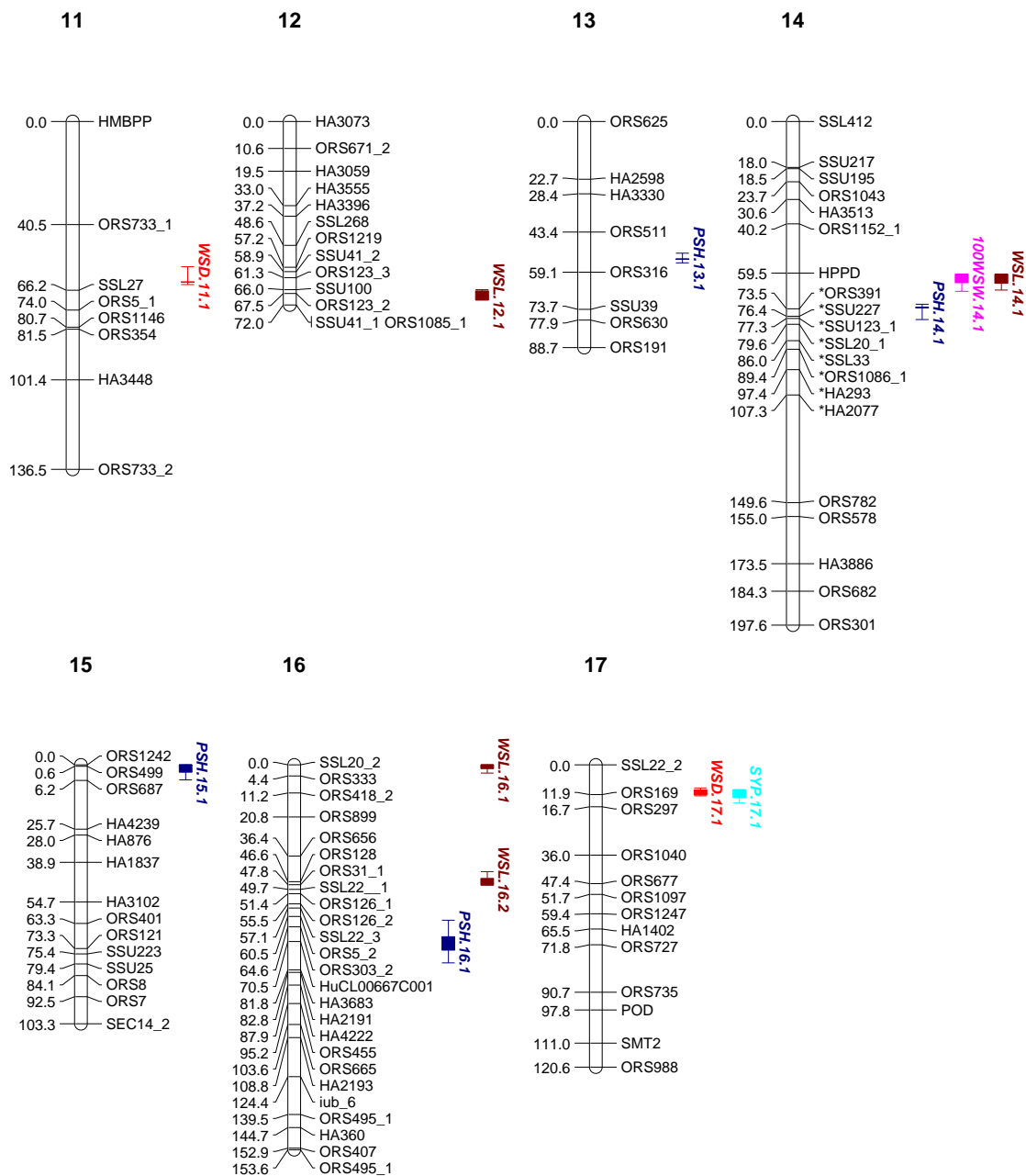
شکل ۱: توزیع فراوانی صفات درصد مغز دانه، طول دانه، درصد پوسته، عرض دانه، قطر دانه، وزن صد دانه و عملکرد تک بوته در لاین‌های خویش‌آمیخته نو ترکیب آفتابگردان حاصل از

تلاقی $\text{PAC2 (P2)} \times \text{RHA266 (P1)}$

Fig. 1: Frequency distribution of sunflower recombinant inbred lines (RILs) and their parents [$\text{PAC2} \times \text{RHA266}$] for percentage of dehulled kernel, whole seed length, percentage of seed hull, whole seed width, whole seed diameter, 100- whole seed weight and seed yield per plant.

Arrows show the mean values for the parental lines RHA266 (P1) and PAC2 (P2)





شکل ۲: گروه‌های پیوستگی ژنوم آفتابگردان و جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده عملکرد و صفات دانه در لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان

Fig. 2: Sunflower genome linkage groups and loci controlling yield and seed characteristics in sunflower recombinant inbred lines (RILs)

QTL شناسایی شد که بر روی گروه‌های پیوستگی ۹، ۱۲، ۱۴ و ۱۶ قرار داشتند. واریانس فنوتیپی توجیه‌شده توسط این QTLها بین ۱/۶۹ تا ۱۱/۱۲ درصد متغیر بود. آلل‌های مطلوب از هر دو والد مشارکت داشته‌اند. مهم‌ترین QTL برای طول دانه بر روی گروه پیوستگی ۹ قرار داشت، که ۱۱/۱۲ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه می‌کند و آلل مطلوب از والد مادری (PAC2) مشارکت داشته است. برای عملکرد دانه یک QTL بر روی گروه پیوستگی ۱۷ شناسایی شد. این QTL

برای صفت درصد پوسته دانه ۱۰ QTL شناسایی شد که بر روی گروه‌های پیوستگی ۱، ۳، ۶، ۱۰، ۱۳، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ قرار داشتند. واریانس فنوتیپی توجیه‌شده توسط این QTLها بین ۰/۰۵ تا ۲۶/۲۳ درصد متغیر بود. آلل‌های مطلوب از هر دو والد مشارکت داشته‌اند. مهم‌ترین QTL برای درصد پوسته دانه بر روی گروه پیوستگی ۱ شناسایی شد، که ۲۶/۲۳ درصد از واریانس فنوتیپی این صفت را توجیه می‌کند و آلل مطلوب از والد پدری (RHA266) مشارکت داشته است. برای طول دانه ۶

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده عملکرد دانه و صفات مرتبط با ...

۱/۱۳ درصد از واریانس فنوتیپی را توجیه می‌کند و آلل مثبت از والد پدری (RHA266) آمده است.

تعدادی از QTL‌های شناسایی شده برای صفات مختلف (۵۴ درصد) هم جایگاه بودند. شناسایی QTL‌های هم جایگاه اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهان دارد، زیرا گزینش هم‌زمان چند صفت را امکان‌پذیر می‌سازند توپروسا و همکاران، *هیئالمانی* و همکاران (Tuberosa et al., 2002; Hittalmani et al., 2003). مهم‌ترین QTL‌های هم جایگاه بر روی گروه‌های پیوستگی ۱، ۲، ۳، ۱۰، ۱۴ و ۱۷ قرار داشتند (شکل ۱). به-عنوان مثال QTL‌هایی در فاصله ۰/۰۰ تا ۳۱/۰۰ سانتی‌مورگان در گروه پیوستگی شماره ۲ برای صفات عرض دانه و قطر دانه هم مکان بودند. QTL‌هایی در فاصله ۱۲/۰۱ تا ۴۱/۰۱ سانتی-مورگان در گروه پیوستگی شماره ۳ برای عرض دانه، قطر دانه، درصد مغز دانه، درصد پوسته به مغز و QTL‌هایی در فاصله ۸/۰۱ تا ۵۳/۰۱ سانتی‌مورگان در گروه پیوستگی شماره ۱۰ برای قطر دانه و درصد پوسته به مغز هم مکان بودند. QTL‌هایی در فاصله ۷۳/۰۰ تا ۵۹/۰۰ سانتی‌مورگان در گروه پیوستگی شماره ۱۴ برای طول دانه، درصد پوسته به مغز هم-مکان بودند. QTL کنترل‌کننده‌ی عملکرد دانه بر روی گروه پیوستگی شماره ۱۷ در فاصله ۱۱/۰۱ تا ۴۲/۰۱ سانتی‌مورگان مجاور نشانگر ORS169 با QTL کنترل‌کننده‌ی قطر دانه هم-مکان بود. شناسایی QTL‌های هم‌مکان می‌تواند به علت همبستگی بالای صفات باشد.

موقعیت QTL‌های شناسایی‌شده در این مطالعه با QTL‌های مکان‌یابی شده برای صفات آگرو-مورفولوژیک و محتوی روغن و پروتئین آفتابگردان در مطالعات دیگر مقایسه شدند حدادی و همکاران (2010)، پورمحمد کیانی و همکاران (2007a, 2008). به‌عنوان نمونه QTL کنترل‌کننده طول دانه روی گروه پیوستگی ۹ با QTL‌های گزارش شده برای سطح برگ در مرحله گلدهی و درصد پروتئین دانه در مطالعات حدادی و همکاران (2010) هم مکان بود. QTL کنترل‌کننده درصد پوسته به مغز در روی گروه پیوستگی ۱۳ با QTL‌های شناسایی شده برای صفات عملکرد و ارتفاع گیاه در مطالعات حدادی و همکاران (2010) هم‌مکان بود. هم‌مکانی QTL‌های شناسایی‌شده برای قطر دانه در گروه پیوستگی ۱۷ با QTL-های شناسایی‌شده برای محتوای نسبی آب و توانایی انتقال الکترون پورمحمد کیانی و همکاران (2007a, 2008) مشاهده شد.

تعدادی از QTL‌های شناسایی‌شده در این مطالعه هم‌مکان با QTL‌های کنترل‌کننده صفات قدرت جوانه‌زنی بذر و صفات

مربوط به رشد جوانه در آفتابگردان داور و همکاران (Davar et al., 2011) بودند. به‌عنوان نمونه QTL کنترل‌کننده طول دانه روی گروه پیوستگی ۱۲ با QTL گزارش شده برای وزن تازه ریشه داور و همکاران (2011) هم‌مکان بود. در گروه‌های پیوستگی ۱۶ و ۱۷ نیز هم‌مکانی QTL‌های شناسایی‌شده برای درصد پوسته با قطر هیپوکوتیل داور و همکاران (2011) و نیز عملکرد با وزن تازه ساقه، وزن خشک ساقه و وزن تازه‌ریشه داور و همکاران (2011) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری کلی

تنوع ژنتیکی وسیعی بین لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب برای صفات مورد بررسی مشاهده شد که این تنوع ژنتیکی - می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش عملکرد آفتابگردان استفاده شود. الگوی پیوسته توزیع فراوانی لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب برای صفات مورد بررسی نشان‌دهنده کنترل ژنتیکی صفات توسط یک سیستم چندژنی می‌باشد. چندین QTL اختصاصی و غیراختصاصی (هم‌مکان) برای صفات مورد بررسی شناسایی شد. QTL‌هایی با اثرات کوچک شناسایی شد که در کنترل صفات نقش داشتند که تاییدی بر وجود سیستم کنترل چندژنی است. شناسایی QTL‌هایی که هم‌زمان چندین صفت را کنترل می‌کنند، اهمیت زیادی در به-نژادی گیاهی دارند، زیرا گزینش هم‌زمان چندین صفت را امکان‌پذیر می‌سازند و بدین ترتیب کارایی انتخاب در برنامه‌های اصلاحی را افزایش می‌دهند.

تشکر و قدردانی

از انستیتو تحقیقات آگرونومی تولوز فرانسه به‌خاطر در اختیار قراردادن بذور جمعیت لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب تشکر می‌گردد.

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۱۵-۱۷ متن انگلیسی مراجعه شود.

