



تجزیه همبستگی صفات زراعی، کیفی الیاف و نشانگرهای مولکولی AFLP در هیبرید پنبه (*Gossypium hirsutum* × *Gossypium barbadense*)

وحیده کاردوان قابل^۱، محمد باقر باقریه نجار^۲، عمران عالیشاه^۳ و حسن سلطانلو^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه گلستان، (نویسنده مسوول: v.kardavan@gmail.com)

۲- استادیار، دانشگاه گلستان

۳- دانشیار، موسسه تحقیقات پنبه گرگان

۴- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۴

چکیده

شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات کمی، انتخاب این صفات را در برنامه های اصلاحی آسان می کند. به منظور شناسایی رابطه نشانگرهای مولکولی AFLP با صفات زراعی و کیفی الیاف در گیاه پنبه از جمعیت نسل F4 حاصل از تلاقی دو گونه *G. barbadense* × *G. hirsutum* استفاده گردید. گیاهان در شرایط مرزعه کشت و ۱۱ صفت زراعی و کیفی الیاف اندازه گیری شدند. نتایج حاصل از تجزیه همبستگی نشانگرهای AFLP و این صفات نشان داد، ۱۹ نشانگر با صفات کیفی الیاف و ۱۴ نشانگر با صفات زراعی دارای رابطه معنی دار مثبت و منفی می باشند. نشانگرهایی که به طور معنی دار با یک صفت خاص مرتبط بودند در تجزیه رگرسیون مورد استفاده قرار گرفتند. بیشترین تغییرات تبیین شده توسط نشانگرها، مربوط به طول الیاف (۲/۵ درصد (۴۳٪) و کمترین میزان تغییرات تبیین شده توسط نشانگرها (۶/۲٪) و مربوط به وزن الیاف، وزن بذر و ضریب میکرونر بود که دارای یک نشانگر با رابطه معنی دار در مدل مربوطه بودند. با توجه به ضرایب رگرسیون معنی داری که این نشانگرها با صفات مورد نظر در این تحقیق داشتند می توان از این نشانگرها در پیش بینی و انتخاب گیاه در برنامه های اصلاحی پنبه استفاده نمود.

واژه های کلیدی: AFLP، پنبه، صفات زراعی و کیفی الیاف، نشانگر مولکولی

مقدمه

پنبه مهم ترین الیاف نساجی جهان محسوب می گردد (۵،۳). چهار گونه آن به نام های *G. arboreum*، *G. herbaceum*، *G. barbadense* و *G. hirsutum* زراعی بوده و الیاف پنبه در دنیا از این گونه ها تولید می شوند.

پنبه متعلق به راسته Malvales، خانواده Malvaceae و جنس *Gossypium* است. حدود ۴۵ گونه از این جنس دیپلوئید (۲n=۲x=۲۶) و پنج گونه آلوتتراپلوئید (۲n=۴x=۵۲) هستند.

صفات زراعی و کیفی الیاف تحت تأثیر ساختار ژنتیکی پیچیده‌ای قرار می‌گیرد که مطالعه آنها را با مشکل مواجه می‌کند (۲۲،۲۱،۶،۸). تحقیقات بسیاری در زمینه مکانهای ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) در گیاه پنبه انجام شده است (۱۲،۱۰،۶،۱۴،۲۳،۲۴). بجز مئی و همکاران (۱۴) که تنها ۷ مکان ژنی را برای ۶ صفت مرتبط با الیاف مشخص کرده‌اند، بیشتر این تحقیقات نشان‌دهنده کنترل ژنتیکی بسیار پیچیده صفات زراعی و کیفی الیاف است. به طوری که QTL‌های بسیاری در ارتباط با این صفات مشخص شده است. از طرف دیگر مقایسه میان جمعیت‌ها و آزمایشات دارای محدودیت و مشکل می‌باشد زیرا نشانگرهای مشترک کمی در میان جمعیت‌های مختلف شناسایی شده است (۲۹).

به منظور فائق آمدن بر محدودیت‌های ذکر شده در مورد شناسایی و استفاده از مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) در گزینش گیاهان مطلوب، شناسایی نشانگرهای مولکولی در ارتباط با صفات کمی از طریق مطالعات همبستگی با استفاده از مجموعه‌های ژرم‌پلاسم در بعضی از گیاهان مانند برنج (۲۸)، جو (۱۵،۹)، گندم (۱۳،۲)، تلخه^۱ (۲۵) و پنبه (۲۹) گزارش شده است.

هدف از مطالعه حاضر شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات زراعی و کیفی الیاف در گیاه پنبه با استفاده از نشانگر AFLP است که روشی نسبتاً جدید با تکرارپذیری بالا می‌باشد.

گونه *G. hirsutum* گونه تقریباً غالب است که سهم آن به تنهایی در حدود ۹۰ درصد تولید جهانی می‌باشد و دارای عملکرد بالا و سازگاری زیادی حتی در شرایط محیطی نامناسب است (۷،۱). در حالی که *G. barbadense* الیاف بلند و ظریفی دارد و بهترین کیفیت الیاف را برای صنعت نساجی دارا می‌باشد. این گونه در حدود ۵ درصد تولید جهانی پنبه را شامل می‌شود (۱۸). صفاتی که در صنعت نساجی مورد اهمیت است شامل طول، استحکام، نرمی و رنگ می‌باشد که این صفات قابل توارث و کمی هستند. ظهور صفات مورفولوژیک تابع مرحله رشد گیاه و عوامل محیطی‌اند و این صفات دارای تنوع و فراوانی بسیار محدودی می‌باشند. معایب ذکر شده از ارزش این صفات به عنوان یک نشانگر ژنتیکی کم می‌کند و اصلاح گیاهان با استفاده از این نشانگرها باعث اتلاف وقت و هزینه است (۲۶). در سالهای اخیر، پیشرفت‌های که در زمینه زیست‌شناسی مولکولی و بیوتکنولوژی صورت گرفته، ابزار قدرتمندی را برای پژوهش‌های ژنتیک گیاهان عالی از جمله گیاهان زراعی فراهم کرده‌اند. شاید اساسی‌ترین و مفیدترین این ابزار نشانگرهای مولکولی باشند. با استفاده از این نشانگرها در هر مرحله‌ای از رشد گیاه می‌توان گیاهان مطلوب را مستقیماً بر اساس ژنوتیپ بجای فنوتیپ انتخاب کرد که این امر دوره اصلاحی را کوتاهتر و موجب صرفه‌جویی در وقت و هزینه می‌شود. از این رو تعیین ارتباط بین صفات مورفولوژیک و نشانگرهای مولکولی گامی موثر در استفاده از گزینش جمعیتی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی

در این تحقیق از جمعیت نسل F4 حاصل از تلاقی دو گونه *G. barbadense* var.(Giza) و *G. hirusutum* var.(Tabladila) استفاده شد. بذره‌های مربوطه از موسسه تحقیقات پنبه کشور تهیه و در ایستگاه تحقیقات پنبه هاشم‌آباد در گرگان کشت شدند. کشت مواد آزمایشی در ردیف‌هایی به طول ۶ متر با فواصل ۹۰ سانتی‌متر و فواصل روی بوته ۳۰ سانتی‌متر انجام شد. کلیه بوته‌های موجود در جمعیت (۱۰۴ بوته) با اتيکت‌های مشخص شماره گذاری و صفاتی چون وزن وش، درصد کیل (درصد الياف یا نسبت الياف به وش)، وزن بذر، وزن الياف، وزن قوزه و تعداد قوزه در بوته اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری صفات کیفی الياف نظیر طول، ظرافت (میکرونر)، استحکام، کشش و یکنواختی الياف با دستگاه HVI^۱ انجام شد.

استخراج DNA

برگ‌های جوان در مرحله رشد رویشی (۵۲ روز پس از کاشت) از تک بوته‌ها به طور جداگانه برداشت و پس از انجماد با نیتروژن مایع، در فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد قرار گرفتند. استخراج DNA از برگ‌های جوان پنبه طبق روش چادهری انجام شد (۴). بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با

استفاده از دو روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز مورد بررسی قرار گرفت.

تجزیه AFLP

واکنش AFLP بر اساس روش دانشگاه میشیگان همراه با تغییراتی انجام شد. برش DNA توسط دو آنزیم برشی *EcoRI* و *TruI*^۲ انجام گرفت. توالی سازگارها و ترکیب آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ آمده است. برای تکثیر انتخابی قطعات AFLP، ابتدا ۸ ترکیب آغازگر دارای سه باز انتخابی مورد بررسی قرار گرفت که از بین آنها چهار جفت ترکیب آغازگر دارای چند شکلی و کیفیت مناسب برای رتبه دهی انتخاب شد (جدول ۲). برای جداسازی قطعات حاصل از تکثیر انتخابی، از دستگاه الکتروفورز عمودی توالی یاب (Sequi-Gen GT Bio-Rad) در اندازه ۳۰×۳۸ و به ضخامت ۰/۴ میلی‌متر استفاده شد. الکتروفورز با استفاده از ژل آکريل آمید ۶٪ با توان ثابت ۷۰ وات به مدت یک ساعت و ۳۰ دقیقه انجام گردید. از تکنیک رنگ‌آمیزی نیترات نقره برای ظاهر شدن قطعات تکثیر شده استفاده شد. باندهای ظاهر شده در محدوده ۵۰۰-۱۰۰۰ bp بود. شکل ۱ باندها و پلی‌مورفیسم حاصل از یک جفت ترکیب آغازگر را در والدین و برخی از فرزندان نشان می‌دهد.

جدول ۱- مشخصات سازگارها و آغازگرهای مورد استفاده در تکنیک AFLP

آداپتور <i>EcoRI</i> (Forward)	5'_CTCGTAGACTGCGTACC_3'
آداپتور <i>EcoRI</i> (Reverse)	5'_AATTGGTACGCAGTCTAC_3'
آداپتور <i>TruII</i> (Forward)	5'_GACGATGAGTCCTGAG_3'
آداپتور <i>TruII</i> (Reverse)	5'_TACTCAGGACTCAT_3'
پرایمر <i>EcoRI</i> +A	5'_GTAGACTGCGTACCAATTCA_3'
پرایمر <i>TruII</i> +C	5'_GACGATGAGTCCTGAGTAAC_3'
۱ / <i>EcoRI</i> +ACC	5'_GACTGCGTACCAATTCACC_3'
۲ / <i>EcoRI</i> +ACA	5'_GACTGCGTACCAATTCACA_3'
۳ / <i>TruII</i> +CAG	5'_GATGAGTCCTGAGTAACAG_3'
۴ / <i>TruII</i> +CAT	5'_GATGAGTCCTGAGTAACAT_3'
۵ / <i>TruII</i> +CTG	5'_GATGAGTCCTGAGTAACTG_3'

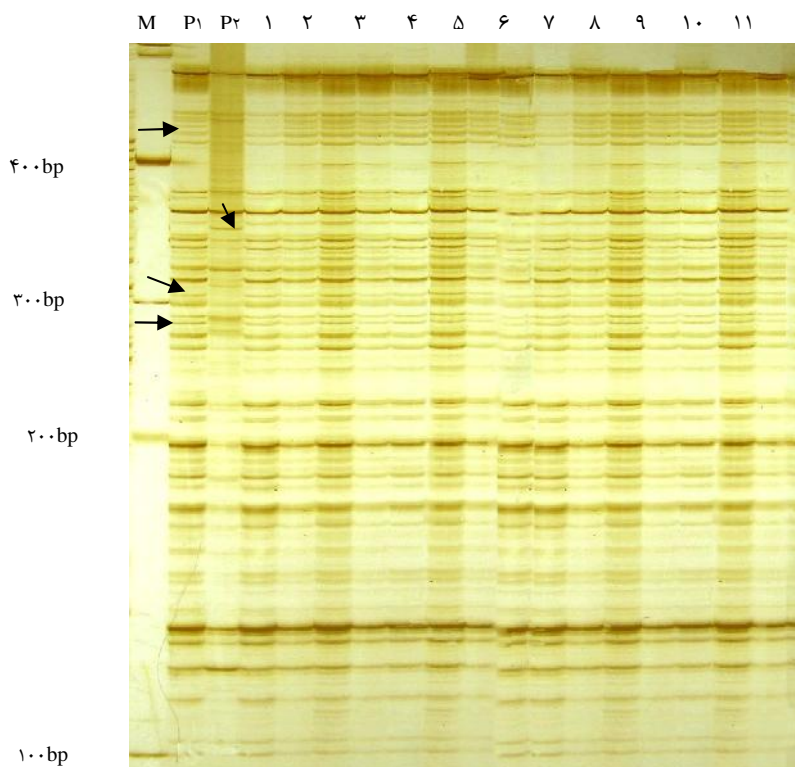
جدول ۲- تعداد نشانگرهای AFLP و سایز باندها در هر ترکیب آغازگر

ترکیب آغازگر	نشانگرهای AFLP						
E/ACA-T/CAG	E2T3-486	E2T3-470	E2T3-456	E2T3-180	E2T3-240		
E/ACC-T/CAT	E1T4-442	E1T4-364	E1T4-316	E1T4-282			
E/ACC-T/CTG	E1T5-380	E1T5-240					
E/ACA-T/CAT	E2T4-468	E2T4-454	E2T4-424	E2T4-380	E2T4-342	E2T4-336	E2T4-414

تجزیه آماری داده‌ها

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات DNA امتیازدهی باندها به صورت حضور و عدم حضور صورت گرفت. ابتدا ارتباط صفات زراعی و کیفی الیاف با نشانگرهای AFLP با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون در دو سطح معنی‌داری ۱ و ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت. سپس به منظور بررسی رابطه خطی بین دو متغیر مستقل و وابسته و پیش‌بینی متغیر وابسته با استفاده از متغیر مستقل و همچنین حذف

متغیرهایی که اثر ناچیزی روی متغیر وابسته دارند و برازش بهترین مدل از روش رگرسیون خطی چندگانه گام به گام استفاده شد. در این تحقیق نشانگرهایی که به طور معنی‌دار با یک صفت خاص مرتبط بودند در تجزیه رگرسیون مورد استفاده قرار گرفتند. بدین ترتیب صفات زراعی و کیفی الیاف به عنوان متغیر وابسته و نشانگرهای AFLP به عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS V.16 انجام گرفت.



شکل ۱- الگوی بانندی حاصل از ترکیب آغازگر E_ACC/T_CAT با استفاده از نشانگر AFLP. فلش‌ها نشان‌دهنده وجود برخی باندهای پلی‌مورفیسم است. اعداد ۱ تا ۱۵ فرزندان نسل F_۲ و P_۱ و P_۲ والدین می‌باشند.
M= DNA ladder 100 bp

نتایج و بحث

ارزیابی همبستگی صفات زراعی و کیفی الیاف همبستگی صفات مورد مطالعه در این تحقیق با استفاده از ضریب پیرسون در جدول ۳ نشان داده شده است. آنالیز همبستگی نشان‌دهنده ارتباط مثبت و معنی‌دار صفات با یکدیگر بود. به طوری که طول الیاف ۲/۵ درصد با یکنواختی، استحکام و کشش الیاف همبستگی معنی‌داری داشت. همچنین این ارتباط بین یکنواختی و استحکام، کشش و استحکام نیز وجود داشت.

بین تعداد قوزه با وزن وش، وزن الیاف و

وزن بذر همبستگی بالایی وجود داشت ($r=0/98$). اما بیشترین میزان همبستگی در وزن وش با وزن بذر و وزن الیاف و همچنین وزن الیاف با وزن بذر مشاهده شد ($r=0/99$). ضریب میکرونر با وزن قوزه و کشش همبستگی معنی‌داری نشان داد. بیشترین تعداد ارتباط بین صفات در وزن قوزه با پنج صفت وزن وش، وزن الیاف، وزن بذر، کشش و میکرونر وجود داشت. اما در بین صفات مورد ارزیابی تنها کیل بود که با وزن الیاف همبستگی نشان داد. در این بررسی همبستگی منفی بین صفات مشاهده نشد.

جدول ۳- تجزیه همبستگی صفات زراعی و کیفی الیاف

صفت	طول الیاف	یکنواختی	استحکام	تعداد قوزه	وزن قوزه	وزن وش	وزن الیاف	وزن بذر	کشش	میکر	کیل
طول الیاف	۱										
یکنواختی	۰/۵۲۳**	۱									
استحکام	۰/۲۱۹*	۰/۲۶۳**	۱								
تعداد قوزه	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۱۹	۱							
وزن قوزه	۰/۱۶۱	۰/۱۰۶	۰/۰۰۴	۰/۱۴۲	۱						
وزن وش	۰/۰۴۱	۰/۰۱۵	۰/۰۱۳	۰/۹۸۷**	۰/۲۵۴*	۱					
وزن الیاف	۰/۰۴۱	۰/۰۰۴	۰/۰۱۹	۰/۹۸۰**	۰/۲۶۵**	۰/۹۹۷*	۱				
وزن بذر	۰/۰۴۲	۰/۰۲۰	۰/۰۱۰	۰/۹۸۸**	۰/۲۴۸*	۰/۹۹۹*	۰/۹۹۴**	۱			
کشش	۰/۳۰۸**	۰/۰۹۳	۰/۵۶۳*	۰/۰۹۱	۰/۳۰۱**	۰/۱۲۹	۰/۱۳۸	۰/۱۲۵	۱		
میکرونر	۰/۰۲۵	۰/۰۶۷	۰/۱۳۴	۰/۰۹۷	۰/۵۳۶**	۰/۱۶۶	۰/۱۸۱	۰/۱۵۸	۰/۲۲۴*	۱	
کیل	۰/۰۱۲	۰/۰۱۰۷	۰/۱۲۹	۰/۱۲۱	۰/۱۹۲	۰/۱۶۱	۰/۲۲۸*	۰/۱۲۷	۰/۰۵۸	۱۷۹	۱

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

و کمترین ضریب بین نشانگر E1T4-316 و استحکام الیاف مشاهده گردید ($r=0/15$) (جدول ۴).

رگرسیون خطی چند گانه صفات زراعی و کیفی الیاف و نشانگرهای AFLP نشانگرهایی که به طور معنی‌دار با یک صفت خاص مرتبط بودند در تجزیه رگرسیون مورد استفاده قرار گرفتند. بنابراین از بین ۱۸ نشانگر، ۱۴ نشانگر AFLP و ۱۰ صفت در تجزیه رگرسیون وارد شدند. در مجموع از ۱۴ نشانگر، شش نشانگر رابطه معنی‌دار با تغییرات صفات فنوتیپی نشان دادند. بیشترین تغییرات تبیین شده توسط نشانگرها، مربوط به طول الیاف ۲/۵ درصد (۴۳٪) و کمترین میزان تغییرات تبیین شده توسط نشانگرها ۶/۲ درصد و مربوط به وزن الیاف، وزن بذر و ضریب میکرونر بود که دارای یک نشانگر با رابطه معنی‌دار در مدل مربوطه بودند. تعدادی از نشانگرها دارای رابطه معنی‌دار با بیش از یک

تجزیه همبستگی نشانگرهای AFLP و صفات زراعی و کیفی الیاف به منظور بررسی ارتباط بین نشانگرهای AFLP و صفات زراعی و کیفی الیاف از تجزیه همبستگی با استفاده از ضریب پیرسون استفاده گردید. در میان ۱۸ نشانگر AFLP، هشت نشانگر با طول الیاف ۲/۵ درصد، هفت نشانگر با وزن قوزه، دو نشانگر با وزن وش، یک نشانگر با وزن الیاف، دو نشانگر با وزن بذر، دو نشانگر با درصد کیل، یک نشانگر با یکنواختی الیاف، یک نشانگر با ضریب میکرونر، سه نشانگر با استحکام و شش نشانگر با کشش الیاف ارتباط معنی‌دار مثبت و منفی داشتند. بعضی از نشانگرهای AFLP با بیش از یک صفت ارتباط معنی‌داری داشتند. به عنوان مثال نشانگر E1T4-364 با سه صفت طول الیاف ۲/۵ درصد، یکنواختی و کشش الیاف دارای ارتباط معنی‌دار بودند. بیشترین ضریب همبستگی بین نشانگر E1T4-364 با طول الیاف ۲/۵ درصد ($r=0/61$)

صفت بودند. به طوری که نشانگر E2T3-240 با کشش و طول الیاف ۲/۵ درصد، نشانگر سه صفت وزن الیاف، وزن بذر و وزن وش، نشانگر E2T3-180 با دو صفت استحکام و کشش الیاف، نشانگر E1T4-364 با دو صفت

جدول ۴- تجزیه همبستگی نشانگرهای AFLP با صفات زراعی و کیفی الیاف

صفت نشانگر AFLP	کیل	وزن بذر	وزن الیاف	وزن وش	وزن قوزه	تعداد قوزه	استحکام	میکرونر	کشش	یکنواختی	طول الیاف (۲/۵)
E1T4-442	-۰/۱۵۹	۰/۲۱۵*	۰/۲۰۳	۰/۲۱۱*	۰/۲۵۵*	۰/۱۶۲	-۰/۰۹۵	۰/۱۳۶	-۰/۰۸۵	-۰/۰۲۳	-۰/۰۵۴
E1T4-364	-۰/۰۰۷	۰/۰۳۷	۰/۰۳۳	۰/۰۳۵	-۰/۰۷۲	۰/۰۳۳	۰/۳۰۵	-۰/۰۷۸	۰/۲۴۵*	۰/۳۳۴**	۰/۶۱۵**
E1T4-316	-۰/۱۰۶	۰/۰۰۸	-۰/۰۰۹	۰/۰۰۲	۰/۱۶۶	-۰/۰۳۹	-۰/۱۵۲*	۰/۰۸۲	-۰/۳۱۹**	-۰/۱۰۳	-۰/۳۴۱**
E1T4-282	-۰/۰۲۷	۰/۰۶۴	۰/۰۵۷	۰/۰۶۲	۰/۱۹۶	۰/۰۱۴	-۰/۲۱۳*	۰/۱۰۹	-۰/۳۴۴**	۰/۰۰۰	-۰/۲۱۵*
E2T4-468	-۰/۱۷۵	-۰/۱۱۸	-۰/۱۳۶	-۰/۱۳۴	-۰/۲۴۳*	-۰/۰۷۵	-۰/۱۳۶	-۰/۱۷۹	۰/۱۳۴	۰/۰۸۳	۰/۲۳۰*
E2T4-454	۰/۱۱۲	۰/۰۸۰	۰/۰۹۱	۰/۰۸۴	۰/۱۵۶	۰/۰۵۰	-۰/۰۷۱	۰/۱۰۹	۰/۱۷۵	-۰/۱۶۵	-۰/۳۲۷*
E2T4-414	-۰/۰۱۲	۰/۰۸۳	۰/۰۸۴	۰/۰۸۳	۰/۱۷۸	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۶۷	-۰/۰۱۴	۰/۰۲۸	-۰/۰۸۴
E2T4-380	۰/۱۳۳	۰/۰۴۳	۰/۰۶۲	۰/۰۵۱	۰/۱۸۱	۰/۰۰۵	-۰/۱۲۵	۰/۰۵۹	-۰/۲۳۹**	-۰/۰۳۸	-۰/۲۳۹*
E2T4-342	-۰/۲۳۲*	۰/۰۵۳	۰/۰۸۲	۰/۰۶۳	۰/۵۱۵**	-۰/۰۴۹	-۰/۲۷۴**	۰/۱۹۵	۰/۳۰۰**	-۰/۰۵۶	-۰/۱۹۰
E2T4-336	-۰/۰۰۵	-۰/۰۴۶	-۰/۰۵۶	-۰/۰۴۹	-۰/۰۱۰	-۰/۰۰۰	-۰/۰۶۸	-۰/۱۱۶	۰/۰۰۷	-۰/۰۵۷	۰/۳۹۳**
E2T4-424	-۰/۰۱۶	-۰/۱۰۵	-۰/۱۰۷	-۰/۰۰۶	-۰/۲۷۶**	-۰/۰۵۰	-۰/۰۴۹	-۰/۱۴۸	-۰/۰۲۷	-۰/۰۰۵	۰/۰۶۳
E2T3-486	۰/۰۰۶	-۰/۱۳۴	-۰/۱۳۰	-۰/۱۳۳	۰/۰۵۱	-۰/۱۵۴	-۰/۱۸۸	۰/۲۵۳*	-۰/۱۱۱	-۰/۱۶۸	-۰/۰۵۹
E2T3-470	۰/۰۵۹	۰/۰۲۵	۰/۰۲۶	۰/۰۲۵	-۰/۰۵۲	۰/۰۴۵	-۰/۰۹۹	-۰/۰۲۶	-۰/۰۴۰	۰/۰۶۰	۰/۱۹۵
E2T3-456	-۰/۱۷۷	-۰/۱۱۳	-۰/۱۳۶	-۰/۱۲۱	-۰/۱۷۳	-۰/۰۸۸	-۰/۱۲۱	-۰/۰۱۸	-۰/۱۷۶	۰/۰۱۱	-۰/۰۴۰
E2T3-180	-۰/۰۵۶	۰/۰۲۴	۰/۰۱۴	۰/۰۲۰	۰/۳۰۹**	-۰/۰۴۹	-۰/۳۱۴**	۰/۱۵۵	-۰/۴۵۹**	۰/۰۵۱	-۰/۲۱۱*
E2T3-240	-۰/۰۶۲	-۰/۲۴۹*	-۰/۲۵۰*	-۰/۲۵۰*	-۰/۳۰۱**	-۰/۱۹۵	-۰/۱۲۳	-۰/۱۱۲	۰/۱۱۱	۰/۰۵۵	۰/۰۹۰
E1T5-380	-۰/۰۳۲	۰/۰۲۸	-۰/۰۳۵	-۰/۰۳۱	-۰/۱۷۶	۰/۰۰۴	-۰/۰۶۰	-۰/۱۱۲	-۰/۰۴۴	۰/۰۹۳	۰/۰۷۱
E1T5-240	-۰/۲۳۲*	-۰/۰۴۲	-۰/۰۷۴	-۰/۰۵۳	-۰/۲۷۶**	-۰/۰۰۱	-۰/۰۵۹	-۰/۱۷۸	-۰/۰۳۸	-۰/۱۵۸	-۰/۱۱۷

*، ** : به ترتیب معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

جدول ۵- خلاصه نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام صفات زراعی و کیفی الیاف با نشانگرهای AFLP

صفت	نشانگر AFLP	R ²	Beta
طول الیاف ۲/۵	ET-364	٪۴۳	۰/۶۲
	ET-336		
کشش الیاف	ET-180	٪۲۶	-۰/۴۵
	ET-364		
استحکام الیاف	ET-180	٪۹/۸	-۰/۳۱
یکنواختی	ET-364	٪۱۲	۰/۳۴
ضریب میکرونر	ET-486	٪۶/۴	۰/۲۵
وزن بذر	ET-224	٪۶/۲	-۰/۲۴
وزن قوزه	ET-342	٪۳۱	۰/۵۱
	ET-240		
کیل	ET-342	٪۹/۹	۰/۲۳
	ET-240		
وزن الیاف	ET-224	٪۶/۲	-۰/۲۵
وزن بذر	ET-224	٪۶/۲	-۰/۲۵

ارتباط بیشتر این نشانگرها با بیش از یک صفت زراعی و کیفی الیاف بود. به طور مثال نشانگر E1T4-364 ارتباط مثبتی با طول الیاف ۲/۵ درصد، یکنواختی و کشش الیاف نشان داد. نشانگر E2T3-240 ارتباط منفی با وزن قوزه، وزن بذر، وزن وش و کیل داشت. در تحقیقی که توسط وو و همکاران (۲۹) در گیاه پنبه انجام شد ارتباط بعضی از نشانگرها با بیش از یک صفت زراعی و کیفی الیاف مشاهده گردید. می‌توان از این نشانگرها در پیش‌بینی گیاه با چندین صفت مطلوب استفاده نمود. بنابراین می‌توان انتظار داشت ژنوتیپ پنبه با نشانگر E1T4-364 دارای طول الیاف بلندتر، یکنواختی و کشش الیاف بیشتری باشد. ژنوتیپ پنبه با نشانگر E2T3-224 احتمالاً دارای قوزه کوچکتر، بذر، وزن وش و الیاف کمتر است.

هم‌چنین این نتایج نشان‌دهنده ارتباط چندین نشانگر با یک صفت خاص بود. به طور مثال هشت نشانگر در ارتباط با طول الیاف مشاهده گردید. نتایج مشابهی نیز در گیاه گندم (۲۰) گزارش شده است به طوری که برای صفت تعداد دانه در سنبله شش نشانگر AFLP شناسایی شد. ممکن است این نشانگرها پیوستگی نزدیکی با یکدیگر داشته باشند (۲۹). شاید بتوان گفت این نشانگرها مکانهای ژنی کنترل‌کننده این صفات می‌باشند. جهت روشن شدن این مطلب ارتباط همبستگی بین نشانگرها و QTL می‌تواند مورد ارزیابی قرار گیرد.

در این تحقیق تعداد زیادی از نشانگرها با صفات دارای همبستگی معنی‌دار بودند اما به

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که طول الیاف ۲/۵ درصد با یکنواختی، کشش و استحکام همبستگی مثبت و معنی‌دار دارد. ارتباط مثبت طول الیاف ۲/۵ درصد با استحکام در پنبه‌های تتراپلوئید گزارش شده است (۲۷، ۱۷، ۱۴، ۱۱). در صورتی که در پنبه‌های دیپلوئید که به طور کلی از نظر طول الیاف به پنبه‌های الیاف کوتاه معروف هستند طول الیاف با کشش رابطه منفی دارد و اگر برای افزایش طول الیاف گزینش صورت گیرد درصد مقاومت کششی الیاف کاهش می‌یابد (۱۹). می‌توان نتیجه گرفت در صورتی که در پنبه‌های تتراپلوئید برای افزایش طول الیاف گزینش صورت گیرد درصد مقاومت و یکنواختی الیاف نیز افزایش می‌یابد و پارچه تولیدی از آنها در برابر کشش مقاومت بیشتری خواهد داشت. از طرفی نتایج نشان‌دهنده همبستگی مثبت کشش الیاف با ضریب میکرونر است، پس باید توجه داشت که اصلاح یکنواختی الیاف موجب از دست رفتن ظرافت الیاف خواهد شد، چون ضریب میکرونر که نشان‌دهنده ظرافت الیاف پنبه است از نظر عددی هر چه کمتر باشد الیاف ظریف‌تر خواهند بود. به طور کلی وجود همبستگی‌های مثبت بین صفات زراعی و کیفی الیاف می‌تواند به اصلاح همزمان این صفات کمک کند (۱۷). با توجه به این که صفات کمی مورد مطالعه تحت تأثیر شرایط محیطی قرار دارند ارزیابی این صفات و تعیین نشانگرهای مرتبط با آنها در محیط‌های مختلف لازم به نظر می‌رسد.

نتایج همبستگی نشانگرهای AFLP و صفات فنوتیپی (جدول ۴) در این تحقیق نشان‌دهنده

مورد نظر در تحقیق حاضر داشتند می‌توان از این نشانگرها در پیش‌بینی و انتخاب گیاه در برنامه‌های اصلاحی پنبه استفاده نمود. با توجه به تحقیقات انجام شده در این زمینه می‌توان به این نتیجه رسید که کاربرد نشانگرهای مولکولی به همراه تجزیه رگرسیون چندگانه کمک قابل توجهی در استفاده از تنوع زیستی گیاهان فراهم می‌آورد. به طوری که ترکیب این تکنیک‌ها انتخاب گیاه را در یک محیط معین از لحاظ صفات کمی پیش از اجرای آزمایش مزرعه‌ای میسر خواهد نمود. هم‌چنین می‌توان با استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات زراعی گزینش افراد برتر را در مرحله گیاهچه و در شرایط آزمایشگاهی انجام داد.

تشکر و قدردانی

امکانات مالی و تجهیزات این پژوهش توسط دانشگاه گلستان فراهم گردید. هم‌چنین از موسسه تحقیقات پنبه به جهت همکاری صمیمانه تشکر می‌گردد.

منظور حذف متغیرهایی (نشانگرها) که اثر ناچیزی روی متغیر وابسته (صفات فنوتیپی) دارند فقط تعداد کمی از این نشانگرها در آنالیز رگرسیون چند گانه گام به گام وارد شدند. این نشانگرها تغییرات مشاهده شده در صفات را توجیه می‌کنند. به طوری که نشانگر E1T4-364 و E2T4-336 با یکدیگر ۴۳٪ از تغییرات صفت طول الیاف ۲/۵ درصد، E2T4-342 و E1T5-240، ۳۱٪ تغییرات وزن قوزه، E1T4-364 و E2T3-180، ۲۶٪ تغییرات کشش الیاف، E2T4-342 و E1T5-240 ۹/۹٪ تغییرات کیل، E2T3-180 ۹/۸٪ تغییرات استحکام الیاف، E2T3-486 ۶/۴٪ تغییرات ضریب میکرونر، E2T3-240 ۶/۲٪ تغییرات وزن الیاف، وزن بذر و وزن وش را توجیه می‌کنند. اگر بین تغییرات صفت و نشانگرها ارتباط وجود داشته باشد، می‌توان نتیجه گرفت که قطعه کروموزومی مورد نظر باید در صفت کمی درگیر باشد و یک یا چند ژن کنترل‌کننده صفت مزبور باید روی آن قطعه کروموزوم قرار داشته باشد. با توجه به ضرایب رگرسیون معنی‌داری که این نشانگرها با صفات

منابع

1. Altaf Khan, M., G.O. Myers and J.McD. Stewart. 2002. Molecular markers, genomics and cotton Improvement. In: M.S. Kang (ed.), Crop Improvement, Haworth New York, 253-284 pp.
2. Bressegello, F. and M.E. Sorrells. 2005. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, 105: 250-258.
3. Brubaker, C.L., A.H. Paterson and J.F. Wendel. 1999. Comparative genetic mapping of allotetraploid cotton and its diploid progenitors. *Genome*, 42: 184-203.
4. Chaudhry, B., A. Yasmeen, T. Husnain and S. Riazuddin. 1999. Mini-scale Genomic DNA Extraction from Cotton. *Plant Molecular Biology Reporter* 17: 1-7.
5. Fryxell, P.A. 1979. The Natural History of the Cotton Tribe. Texas A&M University Press, Collage Station, Texas, USA, 245 pp.
6. He, D., Z. Lin, X. Zhang, Y. Nie, X. Guo, C. Feng. and JM. Stewart. 2005. Mapping QTLs of traits contributing to yield and analysis of genetic effects in tetraploid cotton. *Euphytica*, 144: 141-149.
7. Iqbal, M.J., O.U.K. Reddy, K.M. Ez-Zak and A.E. Pepper. 2001. A genetic bottleneck in the evolution under domestication of upland cotton. (*Gossypium hirsutum* L.) examined using fingerprinting. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 547-554.
8. Jiang, C., R.J. Wright, K.M. El-Zik and AH. Paterson. 1998. Polyploid formation created unique avenues for response to selection in *Gossypium* (cotton). *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. 95: 4419-4424.
9. Kraakman, A.T.W., R.E. Niks, P.M.M.M. Van den berg, P. Stam and F.A. Van Eeuwijk. 2004. Linkage disequilibrium mapping of yield and yield stability in modern spring barley cultivars. *Genetics*, 168: 435-446.
10. Kohel, R.J., J. Yu, Y.H. Park and G.R. Lazo. 2001. Molecular mapping and characterization of traits controlling fiber quality in cotton. *Euphytica*, 21: 163-172.
11. Lacape, J.M., T.B. Nguyen, B. Courtois, J.L. Belot, M. Giband, JP. Gourlot, G. Gawryziak, S. Roques and B. Hau. 2005. QTL analysis of cotton fiber quality using multiple *Gossypium hirsutum* *Gossypium barbadense* backcross generations. *Crop Science*, 45:123-140.
12. Lin, Z., D. He, X. Zhang, Y. Nie, X.Guo, C. Feng and J.M. Stewart. 2005. Linkage map construction and mapping QTL for cotton fibre quality using SRAP, SSR and RAPD. *Plant Breeding*, 124: 180-187.
13. Maccaferri, M., M.C. Sanguineti, E. Noli and R. Tuberosa. 2005. Population structure and long-range linkage disequilibrium in a durum wheat elite collection. *Molecular Breeding*, 15: 271-289.
14. Mei, M., N.H. Syed, W. Gao, P.M. Thaxton, C.W. Smith, D.M. Stelly and Z. Chen. 2004. Genetic mapping and QTL analysis of fiber-related traits in cotton (*Gossypium*). *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 280-291.
15. Pakniyat, H., W. Powell, E. Baird, L.L. Handley, D. Robinson , C.M. Scrimgeour, C.A. Hackett, B.P. Foster, E. Nevo and P.D. Caligari. 1997. AFLP variation in wild barley (*Hordeum spontaneum* C. Koch) with reference to salt tolerance and associated ecogeography. *Genome*, 40: 332-344.

16. Paterson, A.H., Y. Saranga, M. Menz, C.X. Jiang and R.J. Wright. 2003. QTL analysis of genotype environment interactions affecting fiber quality. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 384-396.
17. Percy, R.G., R.G. Cantrell and J. Zhang. 2006. Genetic variation for agronomic and fiber properties in an introgressed recombinant inbred population of Cotton. *Crop Science*, 46:1311-1317.
18. Poehlman, J.M. and D.A. Sleper. 1995. *Breeding field crops*. 4th ed. Iowa State University Press, USA. 494 pp.
19. Ramazani_Moghadam, M.R., I. Majidi, H.R. Zamanizadeh, S.A. Mohamadi and M.Azizi. 2006 .Study on genetic diversity in diploid Cotton (*Gossypium. herbaceum*, *G.arboreum*) using morphological traits. *Journal of Agricultural Sciences*, 4: 822-830. (In Persian)
20. Roy, J.K., R. Bandopadhyay, S. Rustgi, H.S. Balyan and P.K. Gupta. 2006. Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Current Science*, 90: 5-10.
21. Shappley, Z.W., J.N. Jenkins, W.R. Meredith and J.C. McCarty. 1998. An RFLP linkage map of upland cotton (*Gossypium hirsutum L.*). *Theoretical and Applied Genetics*, 97: 756-761.
22. Shappley, Z.W., J.N. Jenkins, J. Zhu and J.C. McCarty. 1998. Quantitative traits loci associated with agronomic and fiber traits of upland cotton. *Cotton Science*, 4: 153-163.
23. Shen, X., W. Guo, X. Zhu, Y. Yuan, J. Yu, R. Kohel and T. Zhang. 2005. Molecular mapping of QTLs for fiber qualities in three diverse lines in Upland cotton using SSR markers. *Molecular Breeding*, 15: 169-181.
24. Shen, X., T. Zhang, W. Guo, X. Zhu and X. Zhang. 2006. Mapping fiber and yield QTLs with main, epistatic, and QTL Environment interaction effects in recombinant inbred lines of upland cotton. *Crop Science*, 46: 61-75.
25. Skøt, L., M. Humphreys, I. Armstead, S. Heywood, K. Skøt, R. Sanderson, I. Thomas, K. Chorlton and N. Hamilton. 2005. An association mapping approach to identify flowering time genes in natural populations of *Lolium perenne (L.)*. *Molecular Breeding*, 15: 233-245.
26. Stuber, C.W., M. Polacco and M.L. Senior. 1999. Synergy of empirical breeding, marker assisted selection and genomics to increase crop yield potential, *Crop Science*, 39: 1571-1583.
27. Ulloa, M. and W.R. Meredith Jr. 2000. Genetic linkage map and QTL analysis of agronomic and fiber quality traits in an intraspecific population. *The Journal of Cotton Science*, 4: 161-170
28. Virk, P.S., B.V. Ford-Lloyd, M.T. Jackson, H.S. Pooni, T.P. Clemeno and H.J. Newbury. 1996. Predicting quantitative variation within rice germplasm using molecular markers. *Heredity*, 76: 296-304.
29. Wu, J., J.N. Jenkins, J.C. Mc Carty, M. Zhong and M. Swindle. 2007. AFLP marker associations with agronomic and fiber traits in cotton. *Euphytica*, 153: 153-163.

Correlation Analysis of Agronomic, Fiber Traits and AFLP Markers in Hybrid Cotton (*Gossypium Hirsutum* × *Gossypium Barbadense*)

Vahideh Kardavan Ghabel¹, Mohammad Bagher Bagherieh Najjar², Omran Alishah³ and Hassan Soltanloo⁴

1- Former M.Sc. Student, Golestan University
(Corresponding author: v.kardavan@gmail.com)

2- Assistant Professor, Golestan University

3- Associate Professor, Cotton Research Institute, Gorgan

4- Assistant Professor, Gorgan Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: May 21, 2012 Accepted: May 4, 2013

Abstract

Identification of molecular markers associated with quantitative and qualitative traits can facilitate selection for these traits in breeding programs. This study was designed to identify AFLP markers associated with agronomic and fiber traits using an F₄ population derived from interspecific cross between *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense*. Seeds were grown in the field and plants were scored for eleven agronomic and fiber quality traits. Correlation analysis between AFLP markers and traits indicated that 19 and 14 markers were significantly associated positively or negatively with fiber and agronomic traits. Only markers which have been correlated with a specific traits significantly were used for stepwise multiple regression analysis. Associated markers explained from 6.2% (for lint weight, seed weight and micronaire) to 43% (for 2.5% span length) of the total variation available for different individual traits. Results suggest that these AFLP markers could be used for predicting and selecting desirable cotton germplasm to improve these traits.

Keywords: AFLP, Cotton, Agronomic and Fiber traits, Molecular markers