



مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با شاخص‌های تحمل به خشکی در آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)

حمید حاتمی ملکی^۱، نیشتمان عبدی^۲، رضا درویش زاده^۳ و مراد جعفری^۴

۱- استادیار، دانشگاه مراغه، (نویسنده مسول: hatamimaleki@maragheh.ac.ir)

۲، ۳ و ۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۸

چکیده

تنش خشکی از جمله عوامل محدودکننده رشد گیاهان است. با استفاده از شاخص‌های گزینشی می‌توان ارقام با عملکرد بالا در شرایط نرمال و تنش کم آبی را شناسایی نمود. بنابراین تجزیه ژنتیکی شاخص‌های تحمل به خشکی می‌تواند نقش مهمی در برنامه‌های به نژادی گیاهی ایفا کند. در تحقیق حاضر، به منظور شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با شاخص‌های تحمل به خشکی در آفتابگردان، ۷۰ لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی بین دو لاین RHA266 و PAC2 به همراه والدین در قالب طرح لاتیس مستطیل ۸×۹ با دو تکرار در شرایط نرمال و تنش کم آبی در شرایط مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس پلات دو بعدی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی، تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در لاین‌های مورد مطالعه مشاهده گردید. از میان شاخص‌های مورد مطالعه، بین شاخص‌های GMP، MP، HM، YI، STI و عملکرد دانه آفتابگردان در هر دو شرایط آبیاری نرمال (Yp) و تنش خشکی (Ys) همبستگی مثبت معنی‌دار مشاهده شد. با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، در مجموع ۳۲ QTL برای شاخص‌های تحمل به خشکی شناسایی گردید. نتایج نشان می‌دهد که QTL‌های شناسایی شده برای شاخص‌های GMP، MP، YI در گروه پیوستگی ۱۳، با QTL‌های گزارش شده برای عملکرد در آفتابگردان هم مکان هستند.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، تنش خشکی، مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، نشانگرهای مولکولی

مقدمه

آفتابگردان از جمله مهم‌ترین گیاهان دانه روغنی است که در اکثر نقاط دنیا کشت می‌شود (۱۵). تنش خشکی یکی از تنش‌های غیر زنده با ماهیت پیچیده است که می‌تواند عملکرد آفتابگردان را محدود نماید (۷). بررسی‌ها نشان داده است که تنش خشکی در مراحل رشدی، گلدهی و پر شدن دانه موجب کاهش عملکرد دانه و روغن آفتابگردان می‌شود (۲۱). بنابراین توسعه ارقام آفتابگردان مقاوم به شرایط کم آب می‌تواند به عنوان یک راهکار مطلوب در راستای مقابله با تنش خشکی باشد. از نظر به نژادی گیاهی، با ارزیابی عملکرد در شرایط نرمال و تنش خشکی و استفاده از شاخص‌های گزینشی می‌توان بطور کاربندی ارقام با عملکرد بالا و سازگار به شرایط تنش را شناسایی نمود (۱۹، ۱۱). از جمله یکی از شاخص‌های گزینشی، شاخص حساسیت به تنش (STI) است که توسط فرناندز (۱۰) پیشنهاد گردیده که براساس عملکرد هر گیاه در دو شرایط مطلوب و تنش و مربع میانگین عملکرد تمامی گیاهان مورد آزمایش در شرایط مطلوب می‌باشد. رزیل و هامبلین (۲۲) شاخص تحمل (TOL) و شاخص بهره‌وری متوسط (MP) را معرفی نمودند که TOL تفاوت عملکرد گیاه در دو شرایط متفاوت و MP میانگین تولید در شرایط تنش و عدم تنش است. فرناندز (۱۰) و کریستین و همکاران (۱۷) شاخص دیگری تحت عنوان میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) را پیشنهاد نمودند. فیشر و مورر (۱۱) شاخص حساسیت به تنش (SSI) را معرفی نمودند که در آن عملکرد دانه گیاه تحت شرایط مطلوب و تنش اندازه‌گیری و شدت تنش نیز بر اساس میانگین عملکرد ژنوتیپ‌ها تحت شرایط مطلوب و تنش تعیین می‌شود. از

آنجاییکه برای محاسبه شاخص‌های تحمل نیاز به ارزیابی ژنوتیپ‌ها در هر دو شرایط نرمال و تنش خشکی است، می‌توان با شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با شاخص‌های تحمل به خشکی گزینش برای تحمل را در شرایط نرمال و مرحله گیاهچه انجام داد (۵). یکی از روش‌های مهم برای شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات، نقشه‌یابی پیوستگی است.

در تجزیه پیوستگی، افراد جمعیت با استفاده از نشانگرهای چند شکل بین والدین تعیین ژنوتیپ شده و نیز از نظر صفت مورد مطالعه ارزیابی می‌شوند. سپس براساس داده‌های ژنوتیپی نقشه پیوستگی ژنی تهیه شده و با استفاده از مدل‌های آماری مختلف ارتباط بین داده‌های فنوتیپی و ژنوتیپی بررسی و QTL‌های فرضی در حوزه یک نشانگر و یا حد فاصل دو نشانگر مجاور مکان‌یابی و سهم هر QTL در تبیین واریانس فنوتیپی تعیین می‌شود (۱۸). شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده صفات کمی می‌تواند به فهم کنترل ژنتیکی آنها و توسعه استراتژی‌های گزینش به کمک نشانگر کمک نماید (۱۶). مطالعات زیادی در زمینه شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده صفات مختلف از قبیل مقاومت به بیماری‌های گیاهی از قبیل فوما (*Phoma macdonaldii*) (۱۴)، کلروتینا (*Sclerotinia sclerotiorum*) (۶)، صفات زراعی (۱) و خصوصیات مرتبط با شکل دانه (۸) در آفتابگردان انجام شده است. اطلاعات کمی در مورد تجزیه ژنتیکی شاخص‌های تحمل به خشکی در آفتابگردان وجود دارد. با استفاده از تلاقی‌های دیال در آفتابگردان، نشان داده شد که شاخص‌های تحمل به خشکی SSI، TOL، MP و YSI به دلیل داشتن تکرار پذیری پایین،

1- Stress tolerance index

2- Stress tolerance

3- Mean productivity

4- Geometric mean productivity

5- Stress susceptibility index

6- Linkage mapping or family mapping

گرم در تک بوته محاسبه گردید. شاخص‌های تحمل به خشکی از طریق روابط ذکر شده در جدول ۱، محاسبه شدند. برای شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با شاخص‌های گزینشی مورد مطالعه از نقشه پیوستگی ژنی توسعه یافته توسط حدادی و همکاران (۱۳) استفاده شد. انگشت‌نگاری افراد جمعیت با استفاده از ۲۱۰ نشانگر SSR و ۱۱ نشانگر SNP براساس ژن‌های درگیر در مقاومت به خشکی، مرتبط با مسیر سنتز توکوفرول و فیتواسترول در آفتابگردان انجام گردیده است. این نقشه شامل ۱۷ گروه پیوستگی است. در مطالعه حاضر، از روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب با استفاده از نرم افزار QTL Cartographer استفاده شد (۳).

سطح آستانه یا LOD برای شناسایی QTL‌های معنی‌دار از طریق آزمون جایگشت توسط نرم‌افزار QTL Cartographer تعیین شد (۴). اثرات افزایشی هر QTL با استفاده از برنامه Zmapqtl برآورد گردید. از موقعیت پیک QTL جهت تخمین درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط آن (R^2) استفاده شد (۳). برای رسم گروه‌های پیوستگی و نشان دادن موقعیت QTL‌های مرتبط با شاخص‌های تحمل به خشکی در گروه‌های پیوستگی، از نرم‌افزار MapChart 2.2 استفاده شد (۳).

نتایج و بحث

با استفاده از تجزیه به مولفه‌های اصلی گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس شاخص‌های تحمل به خشکی انجام گرفت (شکل ۱). نتایج حاصل نشان داد که دو مؤلفه اصلی دوم و اول به ترتیب ۵۵/۲۸٪ و ۳۵/۶۹٪ از کل تنوع بین لاین‌ها را توجیه می‌نمایند. بای پلات حاصل بر مبنای دو مؤلفه اول و دوم که ۹۰/۹۷ درصد از تغییرات موجود در داده‌ها را توجیه می‌نمایند، بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بین لاین‌های مورد بررسی از نظر تحمل به خشکی است (شکل ۱). نظیر چنین تنوعی توسط رحیمی و همکاران (۲۰) بر مبنای شاخص‌های تحمل به خشکی در برنج نیز گزارش شده است.

شاخص‌های گزینشی مناسبی در آفتابگردان نمی‌باشند (۵). در مطالعه‌ای که توسط رحیمی و همکاران (۲۰) به منظور شناسایی QTL‌های پیوسته با شاخص‌های تحمل به خشکی در برنج انجام شد، با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب به ترتیب سه، سه، دو و سه QTL برای شاخص‌های GMP، MP، HM و STI شناسایی گردید. هدف از پژوهش حاضر، شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با شاخص‌های تحمل به خشکی به منظور استفاده از آنها در انتخاب لاین‌های متحمل به خشکی در آفتابگردان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش، شامل ۷۰ لاین خویش آمیخته نوترکیب (RILs) حاصل از دورگ‌گیری بین دو لاین RHA266 و PAC2 بود. جمعیت لاین‌ها با استفاده از روش بالک تک‌بذری و توسط انستیتو ملی تحقیقات آگرونومی (INRA) فرانسه تهیه شده است. لاین پدری RHA266 از تلاقی بین ژنوتیپ وحشی *H. annuus* و *H. Petiolaris* توسط وزارت کشاورزی آمریکا (USDA) و لاین مادری PAC2 در موسسه INRA فرانسه از تلاقی بین *H. Petiolaris* و HA61 تولید شده است.

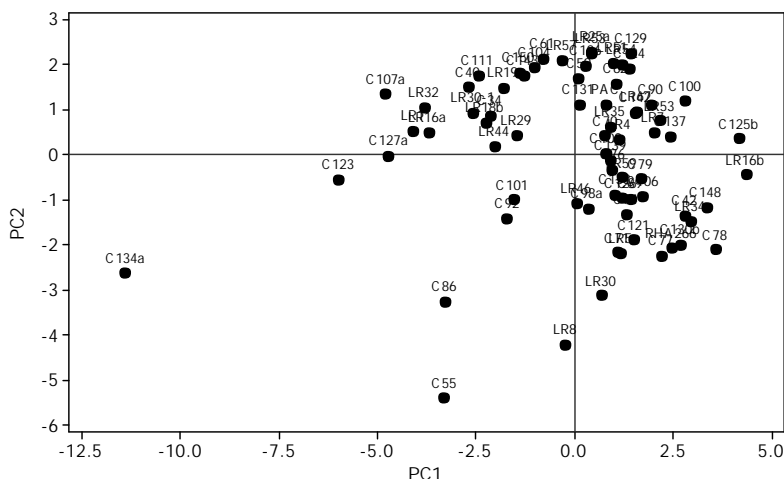
لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب به همراه والدین آنها در دو آزمایش جداگانه شامل آبیاری معمولی و تنش خشکی در قالب طرح لاتیس مستطیل ۹×۸ با دو تکرار و در شرایط مزرعه‌ای ارزیابی شدند. هر تکرار شامل ۹ بلوک ناقص و هر بلوک ناقص دارای ۸ خط به طول ۸ متر و فاصله خطوط ۷۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی خطوط کشت ۲۵ سانتی‌متر بود. کاشت به صورت جوی و پشته بعد از آبیاری اولیه (هیرم کاری) انجام گرفت. در این تحقیق، تا مرحله ۸ برگی آبیاری به صورت معمول و هر ۷ تا ۱۰ روز یک بار انجام شد و پس از مرحله ۸ برگی (قبل از گلدهی) زمان آبیاری به ترتیب بر اساس آبیاری معمولی و تنش خشکی ۶۰ و ۱۸۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A انجام شد (۲،۲۰). در هر دو شرایط محیطی، عملکرد دانه در بوته‌های انتخابی بر حسب

جدول ۱- شاخص های تحمل به خشکی مورد مطالعه در این تحقیق

Table 1. Drought tolerance indices studied in this research

منبع	معادله	شاخص های تحمل به خشکی
فیشر و ماتورر (1978)	$SSI = \frac{1 - (\frac{Y_s}{Y_p})}{SI}, SI = 1 - (\frac{\bar{Y}_s}{\bar{Y}_p})$	شاخص حساسیت تنش (SSI)
فرناندز (1995) کریستین و همکاران (1997)	$GMP = \sqrt{(Y_s)(Y_p)}$	میانگین هندسی (GMP)
روزپله و هامیلینگ (1981)	$MP = \frac{Y_s + Y_p}{2}$	میانگین حسابی (MP)
جعفری و همکاران (2009)	$HM = \frac{2(Y_p \times Y_s)}{Y_p + Y_s}$	میانگین هارمونیک (HM)
روزپله و هامیلینگ (1981)	$TOL = Y_p - Y_s$	شاخص تحمل (TOL)
فرناندز (1992)	$STI = \frac{(Y_s)(Y_p)}{(\bar{Y}_p)^2}$	شاخص تحمل به تنش (STI)
گاوازی و همکاران (1997)	$YI = \frac{Y_s}{\bar{Y}_p}$	شاخص عملکرد (YI)
بوسلاما و اسچاپاتوق (1984)	$YSI = \frac{Y_s}{Y_p}$	شاخص پایداری عملکرد (YSI)

Y_p: عملکرد در شرایط آبیاری نرمال و Y_s: عملکرد در شرایط آبیاری محدود



۱- نمایش بای پلات ژنوتیپ های آفتابگردان بر اساس دو مولفه اول و دوم حاصل از تجزیه به مولفه های اصلی روی شاخص تحمل به خشک
Figure 1. Biplot depiction of sunflower genotypes based on first and second components of principle component analysis

مناسب ترین شاخص های گزینشی انتخاب گردیدند. نتایج نشان داد که بین شاخص های GMP, MP, HM, YI و STI و عملکرد دانه آفتابگردان در هر دو شرایط آبیاری نرمال (Y_p) و تنش خشکی (Y_s) همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد (جدول ۲). بنابراین می توان از این شاخص ها برای گزینش لاین های متحمل دارای عملکرد بالا در هر دو شرایط محیطی استفاده نمود (۱۰). این نتایج مشابه نتایج فرناندز (۱۰) در لوبیا، فرشادفر و سوتکا (۹) در ذرت، گل آبدی و همکاران (۱۲) در گندم دوروم می باشد. همبستگی مشاهده

وجود تنوع ژنتیکی لازمه شناسایی QTL های مرتبط با شاخص های تحمل به خشکی مورد نظر می باشد. در مطالعه دیگری، درویش زاده و همکاران (۵) تنوع ژنتیکی بالایی بین ژنوتیپ های حاصل از تلاقی دیالل در آفتابگردان برای تحمل به خشکی براساس شاخص های تحمل به خشکی مشاهده کردند. با استفاده از تجزیه و تحلیل همبستگی بین عملکرد دانه در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی با هر یک از شاخص های کمی تحمل به تنش خشکی (جدول ۲)

برای شاخص YI تعداد ۱۰ QTL بر روی گروه‌های پیوستگی ۱، ۳، ۱۰، ۱۳، ۱۴، ۱۶ و ۱۷ شناسایی شد. درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط QTL های شناسایی شده بین ۰/۱ تا ۳۲/۲۵ متغیر بود (جدول ۳). برای شاخص MP، تعداد ۱۴ QTL با R^2 بین ۰/۱ تا ۳/۲ درصد شناسایی گردید (جدول ۳). با توجه به جدول ۳، برای شاخص GMP تعداد ۶ QTL بر روی گروه‌های پیوستگی ۳، ۱۴، ۱۶ و ۱۷ شناسایی شد. درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط آن‌ها بین ۰/۱۴ تا ۳/۲۵ درصد متغیر بود. برای هر یک از شاخص‌های HM و STI، یک QTL در گروه پیوستگی ۱۷ آفتابگردان شناسایی شد که به ترتیب ۲/۹۶ و ۱/۲۴ درصد از تغییرات فنوتیپی این شاخص‌ها را توجیه می‌نمایند (جدول ۳). در این تحقیق QTL شناسایی شده برای شاخص GMP دارای بیشترین ضریب تبیین فنوتیپی بوده و این در حالی است که درویش زاده و همکاران (۵) نیز در تجزیه ژنتیکی شاخص‌های تحمل به خشکی در آفتابگردان نشان دادند که شاخص GMP از جمله شاخص‌های با تکرار پذیری متوسط و کارایی مناسب در گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در آفتابگردان می‌باشد. بنابراین در صورت تأیید نشانگر پیوسته شناسایی شده با شاخص GMP می‌توان از نشانگر مزبور در گزینش به کمک نشانگر در آفتابگردان استفاده نمود. سی و سه مرده و همکاران (۲۳) در مطالعه ای که به منظور ارزیابی تحمل به خشکی ۷۳ اکوتیپ گندم سرداری انجام دادند، اکوتیپ‌های مختلف را در سه گروه مجزا قرار دادند. همچنین، سی و سه مرده و همکاران (۲۳) تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های گندم سرداری را با استفاده از نشانگرهای AFLP، مطالعه نمودند و دریافتند که نشانگرهای AFLP بویژه ۲۳ نشانگر AFLP از میان نشانگرهای شناسایی شده توانایی تشخیص گروه‌های فنوتیپی مختلف ایجاد شده در گندم سرداری براساس شاخص STI را دارند.

شده بین شاخص‌های مورد مطالعه (جدول ۲) می‌تواند به دلیل وجود پلیوتروپی یا پیوستگی نزدیک ژن‌ها باشد (۲۴). از طرفی با توجه به اینکه لاین‌های خویش آمیخته برای رسیدن به هموزیگوتی کراسینگ‌اورهای فراوانی را تجربه می‌نمایند، بنابراین از مقدار همبستگی‌های ناشی از پیوستگی بین ژن‌ها کاسته شده و به احتمال زیاد همبستگی‌های قوی می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی باشند. انتظار بر این است شاخص‌هایی که با هم همبستگی دارند، QTL‌های هم مکان برای آنها شناسایی شود (۲۰).

در جدول ۳ و شکل ۲، QTL‌های شناسایی شده برای شاخص‌های تحمل به خشکی (GMP، MP، HM، YI) و STI، که دارای ارتباط معنی‌دار با عملکردها در دو شرایط محیطی بودند، به همراه موقعیت QTL‌ها در گروه پیوستگی، مقادیر LOD، تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط هر QTL و اثر افزایشی آنها آورده شده است. در این مطالعه و با استفاده از روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب، در مجموع ۳۳ QTL برای شاخص‌های تحمل به خشکی شناسایی گردید (جدول ۳). QTL‌های شناسایی شده در گروه‌های پیوستگی ۱، ۳، ۵، ۶، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۶ و ۱۷ پراکنده می‌باشند (جدول ۳) و (شکل ۲). علامت‌های مثبت و منفی (جدول ۳) اثرات افزایشی به ترتیب نشان دهنده نقش موثر والد مادری (PAC2) و پدری (RHA266) در تحمل به خشکی (مقدار مطلوب شاخص) می‌باشد. در مطالعات قبلی که توسط عبدی و همکاران (۱) به منظور شناسایی QTL‌های کنترل کننده صفات مورفولوژیک و زراعی آفتابگردان در هر یک از شرایط نرمال و تنش کم آبی انجام گرفت، در مجموع ۶۴ QTL شناسایی گردید. در این مطالعه، همچون مطالعات عبدی و همکاران (۱) که نشانگرهای پیوسته با صفات مورفولوژیک و زراعی تحت شرایط نرمال و تنش کم آبی در گروه‌های پیوستگی ۴ و ۷ شناسایی نگردید، هیچ QTL ی برای شاخص‌های تحمل به خشکی در گروه‌های پیوستگی شماره ۴ و ۷ از نقشه شناسایی نشد.

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش با شاخص‌های تحمل در لاین‌های خالص نوترکیب آفتابگردان
Table 2. Correlation coefficients between yield in stress and non-stress states with tolerance indices in sunflower RILS

YI	STI	TOL	HM	MP	GMP	SSI	YP	YS
								۰/۷۸***
							۰/۰۳ ^{ns}	-۰/۵۶***
						-۰/۳۳**	۰/۹۲***	۰/۹۶***
					۰/۹۹***	-۰/۲۶*	۰/۹۵***	۰/۹۳***
				۰/۹۹***	۰/۹۹***	-۰/۳۹***	۰/۸۹***	۰/۹۸***
			۰/۱ ^{ns}	۰/۲۶*	-۰/۱۷ ^{ns}	-۰/۷۹**	۰/۵۴***	-۰/۱۲*
		۰/۱۹ ^{ns}	۰/۹۵***	۰/۹۵***	۰/۹۵***	-۰/۲۴*	۰/۸۸***	۰/۹۱***
	۰/۹۱***	-۰/۱ ^{ns}	۰/۹۷***	۰/۹۳***	۰/۹۶***	-۰/۵۶***	۰/۷۸***	۰/۹۹***
۰/۵۶***	۰/۲۵*	-۰/۷۹***	۰/۳۹***	۰/۲۶*	۰/۳۳**	-۰/۹۹***	-۰/۰۲**	۰/۵۶***

Yp عملکرد پتانسیل (در شرایط بدون تنش)، Ys عملکرد در شرایط تنش و شاخص‌های مقاومت به خشکی شامل: تحمل تنش (STI) میانگین بهره‌وری (MP) میانگین هندسی (GMP) میانگین هارمونیک (HM) حساسیت به تنش (SSI) شاخص تحمل (TOL) شاخص عملکرد (YI) و پایداری عملکرد (YSI)

جدول ۳- مشخصات QTL های مکان یابی شده برای شاخص های تحمل به خشکی

Table 3. Characteristics of QTLs mapped for drought tolerance indices

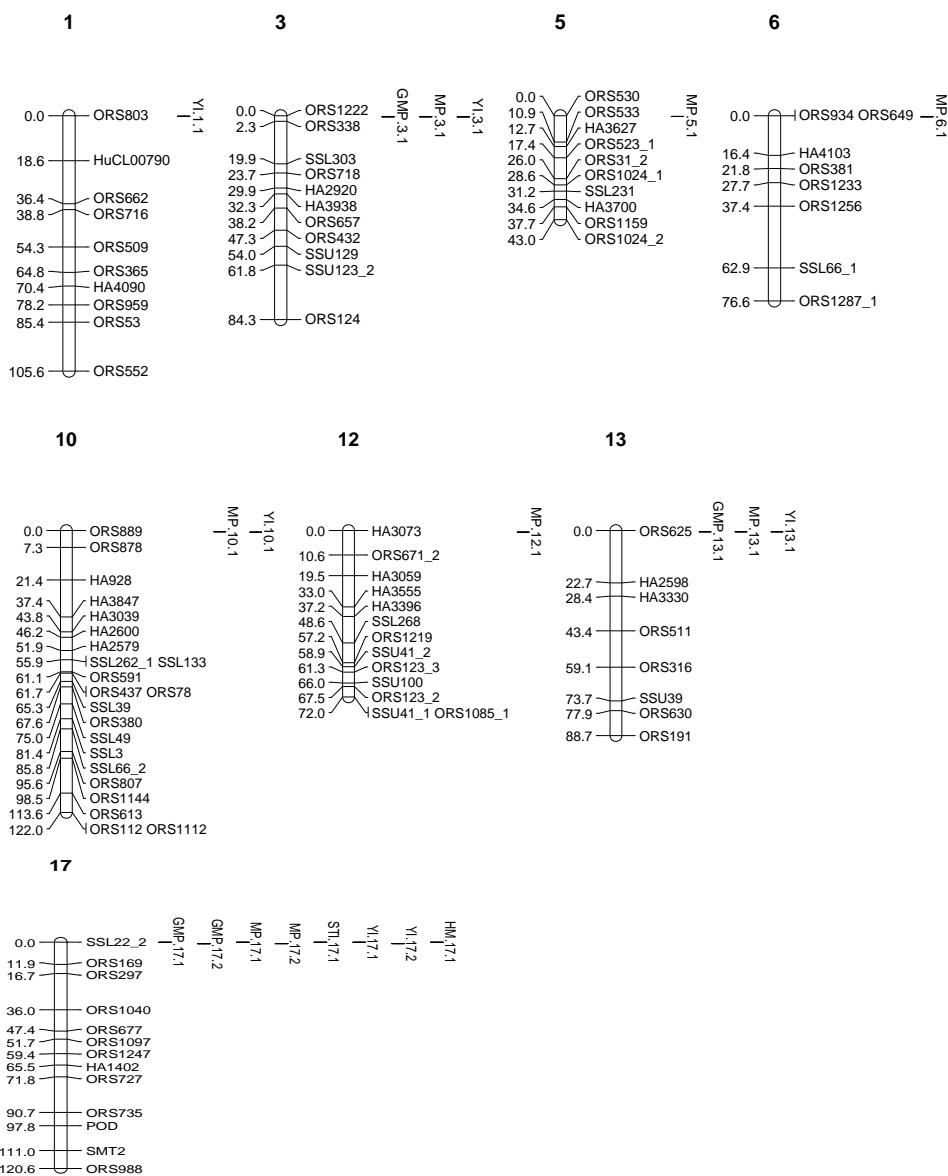
شاخص	QTL	گروه پیوستگی	موقعیت	LOD	اثر افزایشی	R ²	شاخص	QTL	گروه پیوستگی	موقعیت	LOD	اثر افزایشی	R ²
HM	HM.17.1	۱۷	۱۰/۰۱	۴/۵۷	۱/۵۳	۲/۹۶	MP.3.1	۳	۴۱/۰۱	۴/۴۶	-۱/۱۹	-۰/۱۷	
							MP.5.1	۵	۲۷/۰۱	۴/۰۳	-۰/۰۱	-۰/۷	
							MP.6.1	۶	۳۸/۰۱	۴/۱۷	-۰/۲۱	۱/۷۸	
							MP.10.1	۱۰	۵۴/۰۱	۴/۰۳	-۰/۲۷	-۰/۶	
							MP.12.1	۱۲	۶۹/۰۱	۴/۹۷	-۰/۹۵	۲/۶۹	
							MP.13.1	۱۳	۵۴/۰۱	۵/۶۵	-۰/۴۲	-۰/۸۱	
YI	YL14.1	۱۴	۴/۰۱	۴/۲۳	-۰/۱	-۰/۹۲	MP.14.1	۱۴	۲/۰۱	۴/۹۷	-۱/۶۸	۳/۲	
	YL14.2	۱۴	۶۳/۰۱	۳/۷۲	-۰/۰۳	-۰/۰۱	MP.14.2	۱۴	۵۷/۰۱	۲/۹۲	-۰/۸۴	-۰/۰۱	MP
	YL16.1	۱۶	۴۴/۰۱	۴/۳۰	-۰/۰۶	-۰/۲۸	MP.14.3	۱۴	۶۳/۰۱	۴/۱۶	-۰/۴۸	-۰/۱۴	
	YL16.2	۱۶	۵۳/۰۱	۳/۹۹	-۰/۰۴	-۰/۴۴	MP.16.1	۱۶	۲/۰۱	۲/۹۱	-۰/۴۸	-۰/۳۱	
	YL17.1	۱۷	۱۰/۰۱	۴/۸	-۰/۰۷	-۰/۳۳	MP.16.2	۱۶	۴۴/۰۱	۴/۰۸	-۰/۵	-۰/۱۷	
	YL17.2	۱۷	۸۳/۰۱	۴/۵۲	-۰/۰۲	-۰/۲۳	MP.16.3	۱۶	۵۳/۰۱	۴/۴۱	-۰/۳۲	-۰/۵۴	
							MP.17.1	۱۷	۱۰/۰۱	۵/۰۸	-۰/۹۲	-۰/۶۲	
							MP.17.2	۱۷	۸۳/۰۱	۴/۲۸	-۰/۲۴	-۰/۱۱	
GMP	GMP.3.1	۳	۴۱/۰۱	۳/۳۹	-۰/۴۳	-۰/۲۷	STL17.1	۱۷	۱۱/۰۱	۸/۹۴	-۰/۰۸	۱/۲۴	
	GMP.13.1	۱۳	۵۳/۰۱	۳/۶۶	-۰/۱۳	-۰/۷۵							
	GMP.14.1	۱۴	۵/۰۱	۴/۸۱	-۱/۹	۲/۲۵							
	GMP.16.1	۱۶	۵۳/۰۱	۳/۳۸	-۰/۵۹	-۰/۳۸							
	GMP.17.1	۱۷	۱۱/۰۱	۴/۳۵	-۰/۸۷	۱/۸۹							
	GMP.17.2	۱۷	۸۳/۰۱	۳/۴	-۰/۲۷	-۰/۱۴							

شناسایی شد. همچنین، بر روی گروه پیوستگی شماره ۱۴، QTL هم‌جایگاه برای شاخص های MP و YI شناسایی شد. همچنین شاخص های YI، MP و GMP بر روی گروه های پیوستگی ۱۶ و ۱۷ دارای QTL های هم پوشان می باشند. علت مشاهده QTL های شناسایی شده در حوزه نشانگری مشابه برای صفات را می توان به پدیده پلیوتروپی یا پیوستگی قوی و نزدیک پلی ژن های مختلف و یا کنترل ژنتیکی مشابه آنها نسبت داد (۲۵). وجود QTL های هم مکان در مطالعات مختلفی از قبیل شناسایی مکان های ژنی کنترل کننده عملکرد بذر و اجزای آن در آفتابگردان (۸) مقاومت به بیماری فوما در آفتابگردان (۶)، محتوی روغن در کلزا (۲۵) و غیره گزارش گردیده است.

در بررسی برنامه های به نژادی به منظور گزینش مواد برتر، رقم ایده آل رقمی است که دارای عملکرد بالا و پایدار باشد. به عبارت بهتر، با محیط سازگاری بالایی از خود نشان دهد. دانشمندان برای انتخاب افراد با این خصوصیات شاخص های تحمل به تنش را معرفی کرده اند. برای محاسبه شاخص ها و بررسی سازگاری، تجزیه و تحلیل نتایج تحت هر دو شرایط تنش و بدون تنش ضروری به نظر می رسد. می توان با نشانگرهای مولکولی مرتبط با شاخص های تحمل به خشکی در صورت تایید، گزینش برای تحمل خشکی را در شرایط نرمال و مرحله گیاهچه انجام داد. در حقیقت می توان بجای از یابی های مزرعه ای در سال ها و مکان های مختلف، از نشانگرهای مرتبط با شاخص ها (استراتژی گزینش به کمک نشانگر) در شرایط آزمایشگاهی استفاده نمود. این روش بر یافتن و معرفی نشانگر(های) پیوسته با یک تک ژن یا QTL بر اساس عدم تعادل پیوستگی بین آنها و سپس گزینش بر اساس حضور یا عدم حضور نشانگر است.

در مطالعه دیگری که توسط رحیمی و همکاران (۲۰) به منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با شاخص های تحمل به خشکی در یک جمعیت F₅ برنج انجام گرفت، QTL های مختلفی در گروه های پیوستگی ۱، ۷ و ۱۱ از بین ۱۲ گروه پیوستگی برنج شناسایی گردید. نتایج تحقیق حاضر و مرور منابع مختلف (۲۰،۱) نشان می دهد که تعداد QTL های شناسایی شده برای شاخص های تحمل به خشکی کمتر از تعداد تعداد QTL های شناسایی شده برای صفات آگرو مورفولوژیک در یک نقشه پیوستگی می باشد. از طرفی، مطابق با گزارشات سی و سه مرده و همکاران (۲۳) و رحیمی و همکاران (۲۰)، می توان ذکر نمود که نشانگرهای مثبت شناسایی شده برای شاخص های تحمل به خشکی دارای قدرت پیش گویی کنندگی بوده و می توانند در برنامه های به نژادی گیاهی برای تحمل به خشکی مورد استفاده قرار بگیرند.

در تحقیق حاضر، QTL های شناسایی شده برای شاخص های YI، MP، GMP در گروه پیوستگی (جدول ۳) (شکل ۲ و ۳)، با QTL های گزارش شده توسط عبدی و همکاران (۱) برای عملکرد دانه آفتابگردان در هر دو شرایط نرمال و تنش خشکی هم مکان می باشند که این نتایج مؤید نتایج تجزیه همبستگی فنوتیپی بین شاخص های مذکور با عملکرد دانه در هر دو شرایط محیطی می باشد. بنابراین می توان از شاخص های GMP، MP و YI به عنوان مناسبترین شاخص های گزینشی در انتخاب لاین های متحمل به خشکی و دارای عملکرد بالا در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی استفاده کرد. در این مطالعه، برای شاخص های GMP، MP و YI بر روی گروه پیوستگی شماره ۳، یک QTL کوچک اثر هم‌جایگاه و پیوسته با نشانگر SSU129



شکل ۲- موقعیت QTL‌های شناسایی شده در نقشه پیوستگی آفتابگردان بر اساس ۲۱۰ نشانگر SSR و ۱۱ نشانگر SNP (تنها گروه‌های پیوستگی دارای QTL آورده شده است).

Figure 2. Location of identified QTLs in genetic linkage map of sunflower including 210 SSR markers and 11 SNP markers (Just linkage groups possessed QTLs was presented)

منابع

1. Abdi, N., R. Darvishzadeh, M. Jafari, P. Haddadi. 2012. Genetic analysis and QTL mapping of agromorphological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under two contrasting water treatment conditions. *Plant Omics*, 5: 149-158.
2. Akbari, G.H.A., H. Jabbari, J. Daneshian, I. Alahdadi and N. Shahbazian. 2008. The effect of limited irrigation on seed physical characteristics in sunflower hybrids. *Journal of Crop Production and Processing*, 12: 513-523.
3. Basten, C.J., B.S. Weir and Z.B. Zeng. 2001. QTL Cartographer: a Reference Manual and Tutorial for QTL Mapping. North Carolina State University, Raleigh, USA.
4. Churchill, G.A. and R.W. Doerge. 1994. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138: 963-971.
5. Darvishzadeh, R., A. Pirzad, I. Bernousi, B. Abdollahi Mandoulakaniab, H. Azizi, N. Akhondi, S. Poormohammad Kianic and A. Sarrafid. 2011. Genetic properties of drought tolerance indices in sunflower. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B Soil & Plant Science*, 61: 593-601.
6. Davar, R., R. Darvishzadeh, A. Majd, Y. Gousta and A. Sarrafi. 2010. QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. *Phytopathologia Mediterranea*, 49: 330-341.
7. Dragovic, S. and L. Maksimovic. 1995. Drought phenomenon and impact on crop yields in the Vojvodina Province, Yugoslavia. In: *Proceedings of the international workshop on Drought in the Carpathian Region*. Budapest, Hungary. pp: 207-217.
8. Eyvaznegad N., R. Darvishzadeh, I. Bernousi, M. Moghaddam, H. Hadi and M. Rahimi. 2013. Mapping genes controlling seed yield and traits associated with seed characteristics in sunflower (*Helianthus annuus* L.) genome. *Agricultural Biotechnology*, 12: 63-73.
9. Farshadfar, E. and J. Sutka. 2003. Screening drought tolerance criteria in maize. *Acta Agronomica Hungarica*, 50: 411-416.
10. Fernandez, G.C.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: *Proceeding of a symposium, Taiwan, 13-18 August*, pp: 257-27.
11. Fischer R.A. and R. Maurer. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars: I. Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29: 897-912.
12. Golabadi, M., A. Arzani and S.A.M. Maibody. 2006. Assessment of drought tolerance in segregating populations in durum wheat. *African Journal of Agricultural Research*, 5: 162-171.
13. Haddadi, P., A. Ebrahimi, N.B. Langlade, B. Yazdi-samadi, M. Berger, A. Calmon, M.R. Naghavi, P. Vincourt and A. Sarrafi. 2012. Genetic dissection of tocopherol and phytosterol in recombinant inbred lines of sunflower through quantitative trait locus analysis and the candidate gene approach. *Molecular Breeding*, 29: 717-729.
14. Hatami Maleki, H., R. Darvishzadeh and A. Sarrafi. 2014. Genetic linkage map and QTL analysis of partial resistance to black stem in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Australasian Plant Pathology*, 43: 205-213.
15. Hu, J., G. Seiler and C. Kole. 2010. *Genetics, genomics and breeding of sunflower*. Routledge. USA. 360pp.
16. Julio, E., B. Denoyes-Rothan, J.L. Verrier, F. Dorlhac De Borne. 2006. Detection of QTLs linked to leaf and smoke properties in *Nicotiana tabacum* based on a study of 114 recombinant inbred lines. *Molecular Breeding*, 18: 69-91.
17. Kristin, A.S., R.R. Serna, F.I. Perez, B.C. Enriquez, J.A.A. Gallegos, P.R. Vallejo, N. Wassimi and J.D. Kelley. 1997. Improving common bean performance under drought stress. *Crop Science*, 37: 43-50.
18. Mohammadi, S.A. 2008. Innovative approaches in analysis of plant quantitative traits genetic structure. 10th Iranian Crop Science Congress, Karaj, Iran.
19. Oraki, H., I. Alahdadi and F. Parhizkar Khajani. 2009. Evaluation of Drought Tolerance Indices in Sunflower Hybrids. *Journal of Crop Breeding*, 4: 22-38.
20. Rahimi, M., B. Rabiei, H. Dehghani and A.R. Tarang. 2013. Mapping main and epistatic QTLs for drought tolerance indices in F5 population of rice. *Modern Genetics*, 8: 435-448.
21. Razi, H. and M.T. Asad. 1999. Evaluation of variation of agronomic traits and water stress tolerant in sunflower conditions. *Agricultural and Natural Resources*, 2: 31-43.
22. Rosielle, A.A. and J. Hambling. 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non stress environments. *Crop Science*, 21: 943-946.
23. Siosemardeh, A., Z. Osmani, B. Bahramnejad, K.H. Vahabi and E. Roohi. 2012. Identification of AFLP marker associated with stress tolerance index in Sardari wheat ecotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14: 629-643.
24. Voorrips, R.E. 2002. Map Chart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity*, 93: 77-78.
25. Wang, X., H. Wang, Y. Long, D. Li, Y. Yin, J. Tian, L. Chen, L. Liu, W. Zhao, Y. Zhao, L. Yu and M. Li. 2013. Identification of QTLs associated with oil content in a high-oil *Brassica napus* cultivar and construction of a high-density consensus map for QTLs comparison in *B. napus*. *Plos one*, 8: e80569.

Mapping QTLs Controlling Drought Tolerance Indices in Sunflower (*Helianthus annus L.*)

Hamid Hatami Maleki¹, Nishtman Abdi², Reza Darvishzadeh³ and Morad Jafari⁴

1- Assistant Professor, University of Maragheh

(Corresponding author: hatamimaleki@maragheh.ac.ir)

2, 3 and 4- Graduated M.Sc., Professor and Assistant Professor, Urmia University

Received: May 31, 2015 Accepted: November 29, 2015

Abstract

Drought stress is an important limiting factor for plant growth. Using selection indices, it is possible to identify cultivars with high yield in normal and stressed conditions. So, the genetic analysis of drought tolerance indices can play important role in plant breeding programs. In order to identify molecular markers linked with drought tolerance indices in sunflower, 72 recombinant inbred lines produced from a cross between RHA266 and PAC2 lines, were evaluated in 8×9 rectangular lattice design with two replications in normal and water-stressed in field conditions. Based on bi-plot produced from the principal component analysis, high genetic variability was observed among studied lines. Among the studied indices, a significant positive correlation was seen between GMP, MP, HM, YJ and SVI indices with seed yield in both normal (Y_p) and water-stressed (Y_s) conditions. Using composite interval mapping, 32 QTLs were detected for studied drought tolerance indices. Results showed that the identified QTLs for YI, MP, GMP indices in linkage groups 13 were co-localized with QTLs reported for sunflower yield. Therefore, it is possible to use GMP, MP and YI as the most appropriate indices for selection of drought tolerant lines in sunflower.

Keywords: Composite interval mapping, Drought stress, Molecular markers, Sunflower