

بررسی تنوع آلی و هاپلوتایپی نشانگرهای ریزماهوره در کلزا

Assessment of haplotype and allelic diversity of SSR markers in canola

حسن زالی^{۱*}، امید سفالیان^۲، مهرشاد زین العابدینی^۳، طاهره حسنلو^۴، علی اصغری^۵، بهرام علیزاده^۵

۱- استادیار، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، داراب، ایران

۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۳- استادیار، بخش ژنومیک، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۴- استادیار، بخش فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۵- دانشیار، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش ترویج کشاورزی، کرج، ایران

Zali H^{1*}, Sofalian O², Zeinalabedini M³, Hasanloo T⁴, Asghari A², Alizadeh B⁵

1- Assistant Professor, Seed and Plant Improvement Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization AREEO, Darab, Iran

2- Associate Professor, Department of Plant Breeding, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

3- Assistant Professor, Department of Genomics, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, AREEO, Karaj, Iran

4- Assistant Professor, Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, AREEO, Karaj, Iran

5- Associate Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Agricultural Research, AREEO, Karaj, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hzali90@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۳)

چکیده

به منظور بررسی تنوع آلی و هاپلوتایپی و هم‌چنین شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش خصوصیات مورفولوژیک در ۴۱ لاین و ژنوتیپ کلزا تحت شرایط تنش خشکی، از ۳۶ نشانگر ریزماهوره‌ای که با QTLهای کنترل‌کننده صفات مورفولوژیک بر روی کروموزوم‌های A1، C3، C5 و C6 در شرایط تنش خشکی پیوسته بودند، استفاده شد. سی و شش نشانگر مورد مطالعه، ۱۶۶ نوار قابل تشخیص ایجاد کردند و ۱۵۷ آلل (۹۴/۵۸ درصد) آن چند شکل بودند که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ی میان لاین‌ها و ژنوتیپ‌ها بود. نتایج نشان داد که متوسط شاخص نشانگری، تنوع ژنی نی، شاخص اطلاعات شانون و تعداد آلل‌های مؤثر به ترتیب ۱/۵۰۸، ۰/۴۴۹ و ۰/۲۹۸ بود. تنوع هاپلوتایپی دو صفت وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک کل توسط نشانگرهای SSR مرتبط با QTLهای متحمل به خشکی بر روی کروموزوم‌های A1، C3، C5 و C6 بررسی شد. نتایج نشان داد که ۴۱ لاین و ژنوتیپ کلزا به ترتیب به ۹ و ۵ هاپلوتایپ مختلف بر مبنای QTL وزن خشک کل، روی کروموزوم‌های A1 و C3 تقسیم شدند. هم‌چنین، ژنوتیپ SLM046 به‌عنوان رقم مرجع استفاده شد. هاپلوتایپ‌هایی که با نشانگرهای OH12-F12، BRMS-096 و BRAS041 روی کروموزوم A1 و نشانگرهای Na10-E02، FITO133 و Na12-A08 بر روی کروموزوم C1 مشخص شدند، می‌توانند در شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به کار روند و بنابراین برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) QTLهای متحمل به خشکی استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی

کلزا
تنوع هاپلوتایپی
تنش خشکی
ریزماهوره‌ها

Li et al. (2014). ۷، ۱۳ و ۱۵ را برای وزن خشک کل شناسایی نمودند (Li et al. 2014).

توالی ژنوم هر فرد از مجموعه‌ای از توالی‌های دو به دو جفت شده در کنار یکدیگر تشکیل می‌شود. در واقع، در هر جاندار دیپلوئید، اطلاعات ژنتیکی در مجموعه‌ای از جفت کروموزوم‌ها نگه‌داری می‌شوند که از هر جفت یک نماینده به نسل بعد منتقل می‌شود. توالی چندریختی تک نوکلئیدی^۱ یا به اختصار SNP (اسنیپ) بر روی جفت کروموزوم را ژنوتیپ و بر روی یک کروموزوم منفرد را هاپلوتیپ نامیده می‌شود. یک اسنیپ جایگاهی بر روی ژنوم است که در بین افراد مختلف جمعیت بیش از یک نوع نوکلئوتید در آن مشاهده می‌شود. در معنی دوم یک هاپلوتیپ، در ژنتیک نشان‌دهنده ترکیبی از آلل‌های گوناگون ژن‌ها است که بر روی جایگاه‌های مختلف یک کروموزوم در نزدیکی یکدیگر جای گرفته و با هم به ارث می‌رسند (Zarea et al. 2013). نتایج به‌دست آمده از مشاهدات اخیر بر روی ژنوم انسان، این باور را در بین محققان تقویت کرده است که ژنوم را می‌توان به نواحی پیوسته و متمایز از یکدیگری افزار کرد که تنوع هاپلوتیپ‌ها درون هر یک از این نواحی در طی نسل‌ها حفظ می‌شود. هر یک از این نواحی را یک بلوک هاپلوتیپی^۲ می‌نامیم. به‌عبارت دیگر تنوع هاپلوتیپ‌ها طی نسل‌های متوالی، در نواحی معینی از ژنوم بدون تغییر باقی می‌ماند. این نواحی، ژنوم را به مجموعه‌ای از بلوک‌های هاپلوتیپی ابراز می‌کنند (Mohammadi-Nejad et al. 2008).

زمانی که در ارتباط با ناحیه‌ای از کروموزوم‌ها بحث می‌شود که بر اساس مکان‌یابی QTLها، حاوی ژن‌های تأثیرگذار در کنترل صفتی می‌باشد می‌توان بر مبنای مطابقت توالی ریزماهوره‌ها در آن ناحیه و در یک جمعیت با هاپلوتیپ والد دهنده به بررسی هاپلوتیپ‌های مختلف پرداخت و با بررسی فنوتیپی جمعیت تعیین نمود کدام هاپلوتیپ بیان بهتری از صفت مربوطه را دارد و ضمن تعیین بهترین و مؤثرترین ترکیب آلی ناحیه QTL مورد نظر که برای انتخاب به‌کمک نشانگر بسیار ضروری و مفید می‌باشد (Huang et al. 2013)، بر اساس سایر هاپلوتیپ‌ها که

قسمت اعظمی از جهان به‌طور فزآینده‌ای تحت تأثیر تنش خشکی قرار دارد. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده است که رشد، متابولیسم و عملکرد کلزا را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Zali et al. 2015). ارقام کلزا متحمل به تنش خشکی و با عملکرد بالا برای محیط‌های با محدودیت آبی مناسب هستند و تولید کلزا را بهبود می‌بخشند. از این رو، شناسایی ارقام برتر و مناسب تحت شرایط تنش بسیار مهم است. یکی از اولین کارها در بهبود تحمل به خشکی کلزا بررسی تنوع ژنتیکی بین ارقام و لاین‌های موجود از نظر تحمل به خشکی می‌باشد. بنابراین، آگاهی در مورد تنوع ژنتیکی ارقام و لاین‌های کلزا، اطلاعات مهمی برای اصلاح‌گران و ژنتیک‌دانان در زمینه تنوع آلی فراهم می‌کند که ممکن است به شناسایی ذخایر متنوع ژنتیکی برای تلاقی‌های بهتر در جهت تولید ارقام متحمل به خشکی، کمک کند (Fares et al. 2009).

در کلزا بیش‌تر مطالعات در زمینه نقشه‌یابی مکان‌های کنترل‌کننده مقاومت به بیماری‌ها (Pilet et al. 1988؛ Mayerhofer et al. 1997؛ Zhao and Meng 2003)، تعداد روز تا خورجین‌دهی (Osborn et al. 1993؛ Burn et al. 1995؛ Ferreira et al. 1997؛ Osborn et al. 2000)، میزان روغن (Johnson et al. 2003؛ Burns et al. 2006؛ Delourme et al. 2006؛ Zhao and Meng 2003؛ Chen et al. 2007)، محتوای گلوکوزینولات (Howell et al. 2003)، رنگ بذر (Somers et al. 2001) و عملکرد و اجزای عملکرد (Rezaei zad et al. 2012؛ Butruille et al. 1999؛ Shi et al. 2009؛ Chen et al. 2007) بوده است. مطالعات بسیار محدودی در مورد صفات مرتبط با تحمل به خشکی انجام شده‌است. در ارتباط با مکان‌یابی QTLهای مرتبط با ضریب تحمل به خشکی در جمعیت دابل هاپلوئید، چهار QTL را روی گروه‌های پیوستگی شماره ۱، ۳، ۱۲ و ۱۵ برای ارتفاع بوته، دو QTL برای طول ریشه را روی گروه‌های پیوستگی ۱ و ۵ برای طول ریشه، پنج QTL را روی گروه‌های پیوستگی ۱، ۷، ۱۳، ۱۵ و ۱۷ برای وزن خشک اندام هوایی، سه QTL را برای وزن خشک ریشه بر روی گروه‌های پیوستگی ۱، ۷، ۱۳ و ۱۵ و پنج QTL را روی گروه‌های پیوستگی

¹ Single nucleotide polymorphism

² Haplotype block

میکرولیتر DNA ژنومی در حجم ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۱/۵ میکرولیتر آغازگر با غلظت ۱۰U، ۰/۹ میکرولیتر dNTPs با غلظت ۱۰ میلی مولار، ۱/۲ میکرولیتر $MgCl_2$ با غلظت ۲۵ میلی مولار، ۱/۵ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰X، ۰/۲ میکرولیتر تک پلیمرز با غلظت ۵U و ۵/۸ میکرولیتر آب دوبار استریل بود. چرخه حرارتی استفاده شده شامل یک مرحله واسرشته سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه حرارتی که ۱۰ چرخه اول سیکل حرارتی به صورت Touch Down برنامه ریزی شده بود. به این صورت که دمای اتصال آغازگر به رشته الگو ۱۰ درجه سانتی گراد بالاتر از دمای اتصال واقعی در نظر گرفته شد و در هر چرخه دور اول با کاهش یک درجه دما، به دمای اتصال واقعی رسید. در ۲۵ چرخه بعد دمای اتصال (بسته به دمای اتصال آغازگر متفاوت بود) و زمان آن نیز ثابت و ۳۰ ثانیه بود. در هر چرخه نیز، زمان و دمای واسرشته سازی به ترتیب ۳۰ و ۹۴ درجه بود. هم چنین دمای بسط رشته نیز به ترتیب یک دقیقه و ۷۲ درجه بود. برای ظاهر سازی باندها، نمونه ها در ژل پلی اکریل آمید ۶ درصد واسرشته شدند و رنگ آمیزی با نیترات نقره انجام شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها و برای به دست آوردن اندازه آلل ها و تعیین انواع آلل ها و ژنوتیپ ها، از تصاویر ژل استفاده شد.

۳۶ نشانگر ریزماهواره مورد استفاده در این پژوهش شامل نشانگرهایی می باشند که در مطالعات گزارش شده توسط (2014) Li et al. در جهت مکان یابی QTL های کنترل کننده ارتفاع بوته (PH)، وزن خشک اندام هوایی (SDW)، وزن خشک ریشه (RDW) و وزن خشک کل (TDW) در شرایط تنش خشکی معرفی نمودند، استفاده شد (جدول ۲).

در این تحقیق به منظور اعمال تنش و تنظیم دقیق و یکنواخت رطوبت گلدان ها از گلدان های متوسط پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر و ظرفیت ۲/۵ کیلوگرم خاک سبک استفاده شد. خاک مورد استفاده شامل یک قسمت خاک مزرعه و یک قسمت ماسه بود. در هر گلدان ۲/۵ کیلوگرم خاک خشک ریخته شد و مقدار ظرفیت زراعی گلدان ها جهت آبیاری دقیق مشخص شد. در داخل هر گلدان ۱۰ بذر در عمق حدود یک سانتی متری خاک کاشته شد و بعد از مرحله دو برگی بوته ها تنک شدند و در هر گلدان دو بوته باقی گذاشته شد. گلدان ها تا

فوتیپ مطلوبی دارند ولی با والد دهنده QTL هیچ گونه مطابقتی ندارند پی برد که ذخایر توارثی مورد نظر می توانند واجد مکان های ژنی جدیدی برای صفت مورد نظر باشند. بدین منظور ابتدا بایستی با نقشه یابی دقیق ناحیه مورد نظر را در محدوده ای کم تر از پنج سانتی مورگان مکان یابی دقیق نمود، چون در محدوده بزرگ تر با افزایش فراوانی کراسینگ اور احتمال شکستن پیوستگی بین ژن های (QTL) مربوطه و نشانگر افزایش می یابد. در ادامه پس از مکان یابی دقیق، تمامی نشانگرهای ریزماهواره برای ناحیه مورد نظر از بانک های اطلاعاتی تهیه می شود، سپس جمعیتی تصادفی از افراد مختلف جهت بررسی تنوع هاپلوتیپی استفاده می شود و نشانگرهای فوق در جامعه مورد نظر آزمون می گردند تا مهم ترین و تأثیرگذارترین ترکیب آلی نشانگرهای مرتبط با جایگاه QTL کنترل کننده صفت قابل تشخیص شود (Mohammadi-Nejad et al. 2008).

این پژوهش به منظور بررسی تنوع هاپلوتایپی ۴۱ لاین و ژنوتیپ کلزا اجرا شد تا ضمن گروه بندی ژنوتیپ ها، نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با ارتفاع بوته، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک کل جهت استفاده در برنامه های انتخاب به کمک نشانگر پیشنهاد شود.

مواد و روش ها

این پژوهش در سال های ۹۴-۱۳۹۳ در پژوهشکده بیوتکنولوژی و کشاورزی ایران (ABRII) انجام شد. ارقام و لاین های مورد بررسی شامل ۱۹ ژنوتیپ هیبرید، ۱۷ لاین پیشرفته امیدبخش و ۵ لاین دابل هاپلوئید بودند (جدول ۱). ژنوتیپ ها و لاین های امید بخش از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شدند و لاین های دابل هاپلوئید از پژوهشکده بیوتکنولوژی ایران تهیه شد.

استخراج DNA به روش (Dellaporta et al. 1993) با اندکی تغییرات انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراجی نیز با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و روش طیفسنجی نانودراپ تعیین شد. برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز، نمونه های DNA به غلظت ۲۵ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شدند. واکنش زنجیره ای پلیمرز در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل دو

الگوهای نواری بر روی ژل پلی اکریل آمید براساس هم ردیفی نوارها و به صورت صفر (عدم وجود نوار) و یک (وجود نوار) امتیازدهی شدند. به این صورت که در هر ردیف آلی به نمونه‌های دارای نوار امتیاز یک و بدون باند امتیاز صفر داده شد. در نهایت بهترین گروه‌بندی مربوط به ضریب شباهت نی (Nei 1973) و روش گروه‌بندی اتصال همسایگی^۵ بود که بالاترین مقادیر ضریب همبستگی کوفتیک را به خود اختصاص داد. میزان اطلاعات چند شکلی (PIC)^۶ از طریق فرمول $PIC = \sum [2p_i(1 - p_i)]/n$ صورت گرفت (Powell et al. 1996) که در آن، p_i فراوانی نوار i ام تقسیم بر تعداد ژنوتیپ هاست و n تعداد نوارهای ایجاد شده بود. همچنین شاخص‌های نشانگری شامل: شاخص تنوع شانون (Shannon and weaver 1949) (I)^۷، متوسط تعداد آلل در هر مکان ژنی (Ne)^۸، تنوع ژنتیکی نی (He)^۹ نیز با استفاده از نرم‌افزار GenAlex محاسبه شد.

قبل از اعمال تنش خشکی هر روز وزن و رطوبت خاک در حدود ۹۰-۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه نگه داشته شد. ۴۵ روز بعد از کاشت گیاهان و در مرحله رشد رویشی، تیمار خشکی اعمال شد. در این تحقیق روش وزنی معیار تعیین مقدار رطوبت خاک بود بدین ترتیب که بعد از قطع آبیاری، رطوبت خاک در گلدان‌های تنش در حدود ظرفیت زراعی ۵۰-۴۰ درصد، و برای گلدان‌های شاهد در حدود ظرفیت زراعی ۱۰۰-۹۰ درصد نگهداری شدند. برای این منظور گلدان‌ها، روزی یک بار در بعد از ظهر با ترازوی دقیق وزن و مقدار رطوبت خاک تنظیم می‌شد. تنش خشکی به مدت ۳۰ روز اعمال شد و بعد از آن نمونه‌برداری انجام گرفت. در پایان اعمال تنش، صفاتی از قبیل محتوای نسبی آب (RWC)، ارتفاع بوته (PH)^۱، وزن خشک اندام هوایی (SDW)^۲، وزن خشک ریشه (RDW)^۳، وزن و خشک کل (TDW)^۴ هر کدام از ارقام و لاین‌ها تعیین شد.

- ⁵ Neighbor joining
⁶ Polymorphism information content
⁷ Shannon's information index
⁸ Effective number of alleles
⁹ Nei's (1973) gene diversity

- ¹ Plant height
² Shoot dry weight
³ Root dry weight
⁴ Total dry weight

جدول ۱- کد و نام لاین‌ها و ژنوتیپ‌های مورد بررسی و مناطق آن‌ها

Origin	نوع ژنوتیپ‌ها	نام ژنوتیپ‌ها	کد ژنوتیپ‌ها	Origin	نوع ژنوتیپ‌ها	نام ژنوتیپ‌ها	کد ژنوتیپ‌ها
ایران	لاین خالص	L1013	V22	آلمان	رقم آزاد گرده‌افشان	SLM046	V1
فرانسه	رقم هیبرید	Lilian	V23	فرانسه	رقم هیبرید	Oase	V2
آلمان	رقم هیبرید	Cooper	V24	ایران	لاین خالص	Karaj 1	V3
آلمان	رقم هیبرید	Adriana	V25	ایران	رقم آزاد گرده‌افشان	Ahmadi	V4
آلمان	رقم هیبرید	Tassilo	V26	فرانسه	رقم آزاد گرده‌افشان	Okapi	V5
آلمان	رقم هیبرید	Karun	V27	ایران	لاین خالص	L938	V6
ایران	رقم آزاد گرده‌افشان	Zarfam	V28	ایران	لاین خالص	L941	V7
ایران	لاین خالص	Karaj 2	V29	ایران	لاین خالص	L942	V8
سوئد	رقم آزاد گرده‌افشان	Opera	V30	ایران	لاین خالص	L944	V9
آلمان	رقم آزاد گرده‌افشان	Orient	V31	ایران	لاین خالص	L945	V10
آلمان	رقم آزاد گرده‌افشان	Sarigol*	V32	ایران	لاین خالص	L955	V11
آلمان	رقم آزاد گرده‌افشان	Licord	V33	ایران	لاین خالص	L957	V12
آلمان	رقم آزاد گرده‌افشان	Talaye	V34	ایران	لاین خالص	L963	V13
استرالیا	رقم هیبرید	Hyola420*	V35	ایران	لاین خالص	L969	V14
استرالیا	رقم هیبرید	Hyola401*	V36	ایران	لاین خالص	L996	V15
ایران	لاین خالص (دابل هاپلوئید)	DH1*	V37	ایران	لاین خالص	L1003	V16
ایران	لاین خالص (دابل هاپلوئید)	DH5*	V38	ایران	لاین خالص	L1008	V17
ایران	لاین خالص (دابل هاپلوئید)	DH8*	V39	ایران	لاین خالص	L1009	V18
ایران	لاین خالص (دابل هاپلوئید)	DH9*	V40	ایران	لاین خالص	L1010	V19
ایران	لاین خالص (دابل هاپلوئید)	DH11*	V41	ایران	لاین خالص	L1011	V20
				ایران	لاین خالص	L1012	V21

*: ارقام و لاین‌هایی که با ستاره مشخص شده‌اند ارقام بهاره می‌باشند.

جدول ۲- اطلاعات مربوط به نشانگرهای مرتبط با صفات مورفولوژیک و مکان‌های ژنی مورد بررسی

نام نشانگر (فاصله بر حسب سانتی مورگان)	گروه لینکاژی	نام QTL	صفت
CB10597a (0.01), BRAS074a (12.61)	A1	rph 1	ارتفاع بوته
Na12-A08a (30.19)	A3	rph 3	
PMR52 (6.09), sR94102 (4.01)	C2	rph12	
BRMS-030c (8.41), OI10-B02a (0.01)	C5	rph 15	
BRMS-031 (8.91), BRAS100 (8.91), BRAS084 (0.49), OI12-F11a (3.1)	A1	rri 1a	طول ریشه
BRAS072a (20.59), sORF73b (4.89)	A5	rri 5	
BRAS041 (0.01), BRMS-096a (7.49), OI12-F11a (10.51)	A1	rsdw 1	وزن خشک اندام هوایی
Na10-E02b (14.39), CB10003 (23.41), Na12-A08b (0.31), FITO133 (6.49), Na10-C01f (17.41)	C3	rsdw 13	
BRMS-030c (8.41), OI10-B02a (0.01)	C5	rsdw 15	
CB10010a (10.99), CB10502 (1.11), CB10234 (0.01), CB10526 (8.99)	C6	rsdw 16	
BRMS-036 (2.69)	A7	rsdw 7	
CB10597a (0.01), BRAS074a (12.61)	A1	rrdw 1	وزن خشک ریشه
Na10-C01C (11.41), CB10003 b (11.41)	C5	rrdw 15	
MR013c (10.49), OI11-H06 (9.4)	C9	rrdw 20	
CB10597a (0.01)	A1	rtdw 1a	وزن خشک کل گیاه
BRAS041 (0.01), BRMS-096a (7.49), OI12-F11a (10.51)	A1	rtdw 1b	
BRMS-036 (0.01)	A7	rtdw 7	
Na12-A08b (14.71), FITO133 (7.91), Na10-E02b (0.01)	C3	rtdw 13	
OI10B02a (0.01)	C5	redw 15	

(PH)، وزن خشک اندام هوایی (SDW)، وزن خشک اندام هوایی (RDW) و وزن خشک کل (TDW) در شرایط بدون تنش و تنش آبی و همچنین درصد کاهش صفات در شرایط تنش آبی برای تمام ژنوتیپ‌ها و لاین‌ها آورده شده است (جدول ۳). بر این اساس بیشترین میزان RWC در شرایط بدون تنش ۹۴/۹۶ درصد (لاین DH9) و کمترین آن ۸۲/۱۹ درصد (ژنوتیپ Hyola401) بود. بیشترین میزان کاهش RWC مربوط به ژنوتیپ Hyola420 (۱۷/۳۴ درصد) و کمترین آن مربوط به لاین L996 (۵/۰۴ درصد) بود. بیشترین مقدار ارتفاع بوته در شرایط تنش و بدون تنش به ترتیب مربوط به ژنوتیپ Hyola401 (۲۹/۵۰ سانتی‌متر) و لاین L938 (۳۴/۳۳ سانتی‌متر) و کمترین مقدار ارتفاع در شرایط تنش و بدون تنش مربوط به ژنوتیپ Adriana (۱۹/۶۷ سانتی‌متر) و لاین L1012 (۲۴/۶۷ سانتی‌متر) بود. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار SDW در شرایط تنش و بدون تنش ۴/۵۲ گرم (ژنوتیپ Adriana) و ۶/۸۲ گرم (ژنوتیپ Hyola401) گرم و کمترین مقدار آن در شرایط تنش و بدون تنش ۲/۷۹ گرم (لاین DH8) و ۳/۹۲ گرم (لاین L963) بود. در ضمن بیشترین و

نهایتاً ارزیابی تنوع هاپلوتایپی در مکان‌های ژنی مورد نظر مطابق مطالعات (Li et al. 2014) انجام شد. به این ترتیب که در هر ژنوتیپ، الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به یک QTL با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع مقایسه شده و چنانچه ژنوتیپی از نظر تمام نشانگرهای آن QTL ترکیب آلی یکسانی با ژنوتیپ مرجع داشت، در هاپلوتایپ مرجع قرار گرفت. در غیر این صورت نیز ترکیب آلی آن ژنوتیپ خود به عنوان یک هاپلوتایپ مجزا در گروه بندی سایر ژنوتیپ‌ها استفاده شد. هم‌چنین به منظور رتبه بندی ارقام و لاین‌ها با استفاده از صفات مختلف از شاخص SIIG¹ (Zali et al. 2015 and 2016) استفاده شد.

نتایج و بحث

به منظور مقایسه بهتر ژنوتیپ‌ها و لاین‌ها، و هم‌چنین شناسایی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به تنش آبی در شرایط این آزمایش، میانگین صفات محتوای نسبی آب (RWC)، ارتفاع بوته

¹ Selection index of ideal genotype

از تعداد ۳۶ (جفت) نشانگر مورد استفاده، در مجموع ۱۶۴ نوار حاصل شد که از این تعداد ۱۵۷ نوار چند شکل بودند. متوسط درصد چند شکلی برای نشانگرهای مورد مطالعه برابر با ۹۶/۲۹ درصد بود. تعداد کل نوارهای تکثیرشده برای هر نشانگر از ۲ تا ۱۰ نوار متغیر بود و به طور متوسط ۴/۴۹ نوار به ازای هر نشانگر تکثیر شد. نشانگر Na12-B05 با تعداد ۱۰ نوار چند شکل بیشترین چند شکلی را نشان دادند (نتایج نشان داده نشده است). مطابق با نتایج محدوده‌ی PIC از ۰/۰۴۶ تا ۰/۳۲۷ متغیر بود که بیشترین میزان PIC، مربوط به آغازگرهای BRMS-04، BRAS041، sORF73 و CB10143 و کمترین آن مربوط به آغازگرهای FITO133، OI10-B02 و pMR52 بود. متوسط میزان شاخص PIC برابر با ۰/۲۱۲ بود. از میان آغازگرهای مورد بررسی، آغازگرهای BRAS04، BRAS072، CB10504، CB10234، BRMS-030 و NA10-E02 به ترتیب بیشترین تعداد آلل مؤثر در هر مکان ژنی، تنوع ژنی نبی و شاخص تنوع شانون را نشان دادند و آغازگرهای OI10-B02 و CB10003 نیز کمترین این مقادیر را به خود اختصاص دادند. بالاتر بودن تعداد آلل مؤثر در هر مکان ژنی، تنوع ژنی نبی (Nei 1978) و شاخص تنوع شانون (Shannon and Weaver 1949) بیانگر قدرت بالای تفکیک و تمایز این آغازگرهای در بین ارقام می‌باشد. همچنین، براساس نتایج بدست آمده جمعیت ارقام هیبرید بالاترین تعداد آلل مؤثر در هر مکان ژنی، تنوع ژنی نبی و شاخص تنوع شانون را نشان دادند که بالا بودن این شاخص‌ها در جمعیت ارقام هیبرید بیانگر وجود تنوع بالای در آنها می‌باشد. از طرفی جمعیت لاین‌های دابل هاپلوئید کمترین مقدار این شاخص‌ها را به خود اختصاص دادند که با توجه به طبیعت کاملاً خالص این لاین‌ها این نتایج دور از انتظار نبود. در تحقیق حاضر آغازگرهای BRAS04، BRAS072، CB10504، CB10234، BRMS-030 و NA10-E02 بهتر از سایر آغازگرهای به کار برده، توانستند فاصله ژنتیکی ارقام و لاین‌های مورد بررسی را مشخص کنند (نتایج نشان داده نشده است).

کمترین مقدار کاهش SDW در شرایط تنش مربوط به ژنوتیپ Hyola420 (۴۸/۲۹ درصد) و لاین L944 (۱۵/۱۷ درصد) بود. دامنه تغییرات تغییرات RDW بین ۹/۸۵ گرم (ژنوتیپ Opera) و ۳/۳۴ گرم (لاین L955) در شرایط بدون تنش و ۷/۸۳ (ژنوتیپ SLM046) تا ۲/۱۴ گرم (لاین L963) در شرایط تنش بود. لاین‌های DH5 و L941 بیشترین و کمترین کاهش RDW را نشان دادند (جدول ۳). به منظور شناسایی و رتبه‌بندی ارقام و لاین‌ها در این تحقیق، از شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل (SIIG) (Zali et al. 2015 and 2016) استفاده شد (شکل ۶). شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل یک مدل گزینش‌گر بوده و با هدف انتخاب ایده‌آل‌ترین ارقام و لاین‌ها از بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی با استفاده از صفات یا شاخص‌های مختلف به کار می‌رود. در واقع با استفاده از روش SIIG می‌توان صفات مختلف را به صورت یک شاخص واحد درآورد و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر را مطمئن‌تر و دقیق‌تر انجام داد (Zali et al. 2016). ژنوتیپ‌های برتر با استفاده شاخص SIIG (شکل ۶) بر مبنای دو صفت مهم SDW و RDW در شرایط تنش و بدون تنش و همچنین شاخص درصد کاهش عملکرد (R%) در شرایط تنش (جدول ۳) محاسبه شد. میزان شاخص انتخاب ژنوتیپ ایده‌آل بین صفر و یک می‌باشد و هر چه مقدار SIIG به یک نزدیک‌تر باشد آن ژنوتیپ از نظر صفات مورد بررسی مطلوب‌تر می‌باشد و بالعکس، هر چه مقدار SIIG به صفر نزدیک‌تر باشد ژنوتیپ مورد بررسی از نظر صفات مربوطه، ژنوتیپ ضعیفی می‌باشد (Zali et al. 2015). نتایج نشان داد که ارقام و لاین‌های Karun، L1013، Zarfam، Talaye، L1009 و SLM046 به ترتیب با داشتن بیشترین مقدار SIIG جزء بهترین‌ترین ژنوتیپ‌ها در شرایط این تحقیق بودند. از طرفی ارقام و لاین‌های Orient، L963، Okapi، Lilian، Sarigol، L955، DH8، Hyola420 و L1003 به ترتیب با کمترین مقدار SIIG جز ارقام و لاین‌های ضعیف در شرایط این تحقیق بودند و سایر ژنوتیپ‌ها در حد واسط بین این دو دسته از ژنوتیپ‌ها و لاین‌ها قرار داشتند (شکل ۶).

جدول ۳- میانگین صفات RDW، SDW، PH، RWC و TDW در شرایط بدون تنش (NS)، تنش آبی (WS) و درصد کاهش (%R) در هر صفت

نام ژنوتیپ	RWC (%)			PH (cm)			SDW (g)			RDW (g)			TDW (g)		
	%R	WS	NS	%R	WS	NS	%R	WS	NS	%R	WS	NS	%R	WS	NS
SLM046	۹۲/۰۴	۸۱/۱۰	۱۱/۸۹	۲۸/۶۷	۲۳/۳۳	۱۸/۶۰	۵/۴۷	۳/۶۴	۳۳/۴۸	۸/۵۰	۷/۸۳	۱۳/۹۷	۱۱/۴۶	۱۳/۹۲	۱۷/۹۲
Oase	۹۲/۳۳	۸۵/۰۶	۷/۸۷	۳۱/۳۳	۲۵/۰۰	۲۰/۲۱	۵/۰۰	۳/۴۷	۳۰/۶۵	۷/۴۱	۳/۹۲	۱۲/۴۱	۷/۵۶	۳۹/۱۰	۳۹/۱۰
Karaj 1	۸۹/۲۵	۸۱/۴۵	۸/۷۴	۲۹/۶۷	۲۴/۰۰	۱۹/۱۰	۵/۵۰	۳/۸۳	۳۰/۳۸	۸/۹۷	۵/۰۴	۱۴/۴۷	۸/۸۷	۳۸/۶۹	۳۸/۶۹
Ahmadi	۸۹/۴۴	۸۱/۳۶	۹/۰۴	۲۸/۰۰	۲۲/۶۷	۱۹/۰۵	۵/۹۴	۳/۷۵	۳۶/۹۲	۶/۵۶	۴/۱۷	۱۲/۵۰	۷/۹۲	۳۶/۶۵	۳۶/۶۵
Okapi	۸۶/۱۷	۸۰/۱۳	۷/۰۱	۲۸/۳	۲۲/۶۷	۲۰/۰۰	۴/۶۱	۳/۳۵	۲۷/۴۰	۵/۶۲	۲/۶۷	۵۲/۴۳	۶/۰۲	۴۱/۱۵	۴۱/۱۵
L938	۸۵/۱۳	۷۸/۸۸	۷/۳۴	۳۴/۳۳	۲۵/۳۳	۲۶/۲۱	۵/۷۳	۳/۰۵	۴۶/۷۴	۵/۲۸	۴/۵۱	۱۴/۴۷	۷/۵۶	۳۱/۲۶	۳۱/۲۶
L941	۸۷/۹۶	۷۹/۱۰	۱۰/۰۷	۳۳/۰۰	۲۵/۳۳	۲۳/۲۳	۴/۶۵	۳/۱۷	۳۱/۸۸	۳/۵۱	۳/۵۴	۰/۰۰	۶/۷۱	۱۷/۸۰	۱۷/۸۰
L942	۸۶/۱۴	۷۷/۶۷	۹/۸۴	۳۱/۶۷	۲۵/۰۰	۲۱/۰۵	۵/۱۵	۳/۲۱	۳۷/۶۷	۵/۶۸	۲/۲۷	۲۴/۷۷	۷/۴۸	۳۰/۹۰	۳۰/۹۰
L944	۸۶/۳۱	۷۷/۳۱	۱۰/۴۳	۲۸/۶۷	۲۷/۶۷	۳/۴۹	۵/۱۰	۴/۳۲	۱۵/۱۷	۵/۱۲	۲/۸۵	۴۴/۳۱	۷/۱۸	۲۹/۷۸	۲۹/۷۸
L945	۸۷/۴۵	۸۱/۱۳	۷/۲۳	۳۰/۳۳	۲۴/۶۷	۱۸/۶۸	۴/۴۷	۳/۰۹	۳۰/۹۵	۳/۳۴	۲/۴۹	۲۵/۶۲	۷/۸۱	۲۸/۶۷	۲۸/۶۷
L955	۸۷/۹۹	۷۶/۸۶	۱۲/۶۴	۲۹/۳۳	۲۱/۶۷	۲۶/۱۴	۵/۲۵	۳/۴۵	۳۴/۳۵	۴/۲۲	۲/۷۸	۳۴/۰۷	۶/۲۳	۳۴/۲۳	۳۴/۲۳
L957	۸۷/۸۵	۷۸/۷۶	۱۰/۳۵	۲۷/۳۳	۲۱/۶۷	۲۰/۸۳	۴/۳۳	۳/۴۷	۱۹/۸۵	۵/۰۳	۳/۳۹	۳۲/۶۵	۶/۸۶	۲۶/۸۳	۲۶/۸۳
L963	۹۲/۶۰	۸۳/۸۹	۹/۴۱	۲۹/۳۳	۲۱/۰۰	۲۸/۴۱	۳/۹۲	۲/۸۰	۲۸/۶۶	۳/۹۷	۲/۱۴	۴۶/۰۵	۷/۸۹	۳۷/۴۰	۳۷/۴۰
L969	۹۲/۰۹	۸۳/۹۳	۸/۸۵	۳۰/۰۰	۲۳/۶۷	۲۱/۱۱	۴/۷۶	۳/۳۱	۳۰/۴۶	۴/۷۹	۳/۸۳	۱۹/۹۹	۷/۱۴	۲۵/۲۱	۲۵/۲۱
L996	۸۵/۹۹	۸۱/۶۶	۵/۰۴	۲۷/۶۷	۲۲/۳۳	۱۶/۲۵	۴/۳۸	۳/۵۶	۱۸/۵۸	۷/۳۸	۵/۰۰	۳۲/۲۰	۸/۵۷	۲۷/۱۳	۲۷/۱۳
L1003	۸۵/۲۷	۷۶/۲۰	۱۰/۶۴	۲۸/۳۳	۲۲/۳۳	۲۱/۱۸	۵/۶۷	۳/۸۴	۳۲/۲۲	۷/۹۶	۳/۷۹	۵۲/۳۳	۷/۶۴	۴۳/۹۶	۴۳/۹۶
L1008	۹۱/۱۶	۷۹/۷۱	۱۲/۵۶	۲۹/۳۳	۲۲/۰۰	۲۵/۰۰	۴/۳۵	۳/۶۲	۳۲/۳۲	۹/۲۰	۴/۸۹	۴۶/۸۳	۸/۵۲	۴۱/۴۹	۴۱/۴۹
L1009	۸۹/۰۱	۷۹/۹۳	۱۰/۲۰	۲۹/۶۷	۲۱/۰۰	۲۹/۲۱	۵/۷۵	۳/۹۱	۳۲/۰۶	۷/۳۲	۵/۳۸	۲۶/۴۲	۹/۲۹	۲۸/۹۰	۲۸/۹۰
L1010	۹۰/۲۳	۸۰/۶۶	۱۰/۶۱	۲۸/۰۰	۲۱/۰۰	۲۵/۰۰	۵/۵۸	۳/۵۳	۳۶/۶۸	۹/۱۲	۶/۱۰	۳۳/۱۱	۹/۶۳	۳۴/۴۷	۳۴/۴۷
L1011	۸۹/۹۳	۷۶/۳۷	۱۵/۰۸	۲۹/۳۳	۲۵/۰۰	۱۴/۷۷	۵/۶۳	۳/۲۸	۴۱/۷۷	۷/۹۶	۵/۰۶	۳۶/۴۷	۸/۳۴	۳۸/۶۷	۳۸/۶۷
L1012	۸۹/۷۷	۷۸/۲۳	۱۲/۸۵	۲۴/۶۷	۲۴/۶۷	۰/۰۰	۵/۷۰	۴/۰۱	۲۹/۵۹	۸/۱۰	۵/۲۱	۳۵/۶۸	۹/۲۲	۳۳/۱۶	۳۳/۱۶
L1013	۸۴/۶۷	۷۳/۶۶	۱۳/۰۰	۲۶/۰۰	۲۵/۶۷	۱/۲۸	۵/۰۳	۳/۴۶	۳۱/۳۲	۸/۵۶	۶/۰۷	۲۹/۰۹	۹/۵۳	۲۹/۹۲	۲۹/۹۲
Lilian	۸۸/۸۶	۸۱/۰۴	۸/۸۰	۲۷/۰۰	۲۳/۳۳	۱۳/۵۸	۴/۹۲	۳/۳۷	۳۲/۴۶	۵/۰۹	۲/۷۵	۴۶/۰۰	۶/۱۲	۳۹/۳۰	۳۹/۳۰
Cooper	۸۸/۶۸	۸۰/۲۷	۹/۴۸	۲۹/۳۳	۲۳/۶۷	۱۹/۳۲	۵/۰۳	۳/۳۲	۳۴/۱۰	۸/۳۰	۴/۸۴	۴۱/۸۳	۸/۱۵	۳۸/۸۵	۳۸/۸۵
Adriana	۸۸/۸۴	۸۰/۰۳	۹/۹۱	۲۶/۰۰	۱۹/۶۷	۲۴/۶۶	۵/۷۷	۴/۵۲	۲۱/۶۶	۶/۴۷	۳/۶۶	۴۳/۳۵	۸/۱۸	۳۳/۱۲	۳۳/۱۲
Tassilo	۹۰/۴۰	۷۹/۰۴	۱۲/۵۷	۲۴/۶۷	۲۲/۰۰	۱۰/۸۱	۴/۹۸	۳/۶۸	۲۶/۱۵	۷/۹۲	۴/۴۳	۴۴/۰۷	۸/۱۱	۳۷/۱۵	۳۷/۱۵
Karun	۸۷/۲۰	۷۷/۴۹	۱۱/۱۴	۲۵/۳۳	۲۵/۶۷	۰/۰۰	۵/۴۳	۳/۹۲	۲۷/۷۹	۴/۵۸	۴/۲۱	۸/۰۸	۸/۱۳	۱۸/۷۸	۱۸/۷۸
Zarfam	۸۸/۷۶	۷۶/۸۹	۱۳/۳۷	۳۲/۳۳	۲۴/۶۷	۲۲/۹۲	۵/۴۳	۳/۶۰	۳۳/۷۰	۶/۵۱	۶/۰۷	۶/۶۶	۹/۶۷	۱۹/۰۱	۱۹/۰۱
Karaj 2	۸۷/۳۴	۷۸/۱۰	۱۰/۵۸	۲۸/۳۳	۲۷/۳۳	۳/۸۳	۵/۸۶	۳/۷۳	۳۶/۳۳	۵/۸۸	۴/۳۵	۲۶/۰۲	۸/۰۸	۳۱/۱۷	۳۱/۱۷

ادامه جدول ۳

نام ژنوتیپ	RWC (%)			PH (cm)			SDW (g)			RDW (g)			TDW (g)		
	%R	WS	NS	%R	WS	NS	%R	WS	NS	%R	WS	NS	%R	WS	NS
Opera	۱۱/۶۷	۷۳/۲۷	۸۲/۹۶	۳/۷۰	۲۶/۰۰	۲۷/۰۰	۳۷/۸۵	۳/۸۷	۶/۲۳	۴۴/۴۱	۵/۴۷	۹/۸۵	۴۱/۸۷	۹/۳۴	۱۶/۰۷
Orient	۵/۵۸	۷۹/۶۳	۸۴/۳۴	۲۰/۲۴	۲۲/۳۳	۲۸/۰۰	۴۱/۷۱	۳/۴۹	۵/۹۹	۴۹/۳۵	۲/۷۲	۵/۳۷	۴۵/۳۲	۶/۲۱	۱۱/۳۶
Sarigol	۱۴/۰۳	۷۶/۷۵	۸۹/۲۸	۱۸/۴۸	۲۵/۰۰	۳۰/۶۷	۳۸/۱۱	۲/۹۲	۴/۷۲	۳۳/۸۳	۳/۲۳	۴/۸۸	۳۵/۹۴	۶/۱۵	۹/۶۰
Licord	۱۱/۷۳	۷۹/۴۱	۸۹/۹۶	۲۳/۳۳	۲۳/۰۰	۳۰/۰۰	۳۸/۲۹	۳/۹۸	۶/۴۵	۴۶/۴۰	۳/۹۰	۷/۲۸	۴۲/۵۹	۷/۸۸	۱۳/۷۳
Talaye	۸/۷۰	۷۸/۱۸	۸۵/۶۳	۱۱/۵۸	۲۸/۰۰	۳۱/۶۷	۳۵/۳۱	۳/۳۱	۵/۱۲	۲۸/۷۹	۶/۲۰	۸/۷۱	۳۱/۲۰	۹/۵۱	۱۳/۸۲
Hyola420	۱۷/۳۴	۷۱/۷۵	۸۶/۸۰	۸/۷۶	۲۹/۵۰	۳۲/۳۳	۴۸/۲۹	۳/۱۸	۶/۱۴	۴۴/۰۱	۴/۲۴	۷/۵۷	۴۵/۹۳	۷/۴۱	۱۳/۷۱
Hyola401	۹/۸۳	۷۴/۱۱	۸۲/۱۹	۱۶/۳۰	۲۵/۶۷	۳۰/۶۷	۴۴/۴۰	۳/۷۹	۶/۸۲	۴۱/۷۴	۴/۵۱	۷/۷۵	۴۲/۹۹	۸/۳۰	۱۴/۵۶
DH1	۹/۳۶	۸۰/۹۶	۸۹/۳۱	۲۳/۵۰	۲۵/۵۰	۳۳/۳۳	۴۵/۰۱	۳/۳۲	۶/۰۴	۳۱/۰۳	۳/۸۹	۵/۶۴	۳۸/۲۶	۷/۲۱	۱۱/۵۸
DH5	۱۶/۰۲	۷۹/۳۹	۹۴/۵۴	۱۹/۵۹	۲۶/۰۰	۳۲/۳۳	۲۲/۰۱	۳/۳۱	۴/۲۴	۶۴/۰۲	۲/۱۹	۶/۰۹	۴۶/۷۷	۵/۵۰	۱۰/۳۳
DH8	۶/۷۵	۸۵/۸۹	۹۲/۱۰	۱۶/۳۰	۲۵/۶۷	۳۰/۶۷	۳۶/۶۶	۲/۷۹	۴/۴۲	۳۸/۲۲	۳/۹۳	۶/۳۷	۳۷/۶۲	۶/۷۳	۱۰/۷۸
DH9	۱۱/۴۵	۸۴/۰۹	۹۴/۹۶	۱۳/۸۶	۲۹/۰۰	۳۳/۶۷	۴۱/۰۷	۳/۳۴	۵/۶۷	۲۴/۶۸	۴/۴۸	۵/۹۴	۳۲/۶۸	۷/۸۲	۱۱/۶۲
DH11	۸/۳۴	۸۱/۳۶	۸۸/۷۶	۱۸/۸۱	۲۷/۳۳	۳۳/۶۷	۴۲/۹۳	۳/۱۵	۵/۵۲	۴۲/۳۹	۴/۳۳	۷/۵۲	۴۲/۶۲	۷/۴۸	۱۳/۰۴
میانگین	۱۰/۴۲	۷۹/۲۹	۸۷/۵۳	۱۷/۲۶	۲۴/۳۲	۲۹/۴۸	۳۳/۴۹	۳/۵۱	۵/۳۱	۳۴/۷۹	۴/۲۵	۶/۶۲	۳۴/۵۰	۷/۷۶	۱۱/۹۳
حداکثر	۱۷/۳۴	۸۵/۸۹	۹۴/۹۶	۲۹/۲۱	۲۹/۵۰	۳۴/۳۳	۴۸/۲۹	۴/۵۲	۶/۸۲	۶۴/۰۲	۷/۸۳	۹/۸۵	۴۶/۷۷	۱۱/۴۶	۱۶/۰۷
حداقل	۵/۰۴	۷۱/۷۵	۸۲/۱۹	۰/۰۰	۱۹/۶۷	۲۴/۶۷	۱۵/۱۷	۲/۷۹	۳/۹۲	۰/۰۰	۲/۱۴	۳/۳۴	۱۷/۸۰	۴/۹۴	۷/۸۱
LSD 0.05		۵/۹۱۹	۴/۷۱۰						۰/۴۴۹		۲/۰۵۴			۳/۰۸۲	
LSD 0.01		۷/۷۷۹	۶/۱۹۰						۰/۵۹۰		۲/۶۹۹			۴/۰۵۱	

RWC: محتوای نسبی آب؛ PH: ارتفاع بوته؛ SDW: وزن خشک اندام هوایی؛ RDW: وزن خشک اندام هوایی و TDW: وزن خشک کل

ژنوتیپ مرجع (SLM046) در ۸ گروه هاپلوتایپی قرار گرفتند (شکل‌های ۱ و ۶) که نشان داد در میان ارقام مورد بررسی تنوع ترکیب آلی وجود دارد. در هاپلوتایپ اول علاوه بر ژنوتیپ SLM046، ۱۰ لاین و ژنوتیپ دیگر شامل ژنوتیپ‌های Oase, Ahmadi, Tassilo, Hyola420 و هم‌چنین لاین‌های امیدبخش L945, L969, L996, L1008, L1009 و L1010 قرار گرفتند. این مطلب نشان می‌دهد که ممکن است تعدادی آلی یکسان و شاید مؤثر در تحمل به خشکی در لاین‌های امیدبخش باشد. بعد از هاپلوتایپ شماره ۱، دومین هاپلوتایپ (هاپلوتایپ شماره ۲) بیش‌ترین تعداد ژنوتیپ‌ها و لاین‌ها را به‌خود اختصاص داد. در هاپلوتایپ شماره ۸، ارقام و لاین‌هایی که هیچ‌کدام از آل‌های نشانگری مشابه با رقم SLM046 در آن‌ها وجود نداشت، قرار گرفتند. در این هاپلوتایپ، دابل‌هاپلوئیدهای DH1 و DH5، هم‌چنین لاین L942 و ژنوتیپ‌های Adriana و Sarigol قرار گرفتند. لازم به‌ذکر است که بیش‌ترین مقدار ماده خشک هوایی مربوط به ژنوتیپ Hyola401 بود که در هاپلوتایپ مرجع قرار گرفت و کم‌ترین مقدار ماده خشک هوایی مربوط به لاین L963 بود که در هاپلوتایپ شماره ۵ قرار گرفت. از میان ۸ گروه هاپلوتایپی، میانگین مقدار ماده خشک اندام هوایی هاپلوتایپ‌های شماره ۱، ۲ و ۴ از متوسط کل بیش‌تر بود (جدول ۴).

نام نشانگر	شماره هاپلوتایپ‌ها							
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
OI12-F11	■	■	■	■	■	■	■	■
BRMS-096	■	■	■	■	■	■	■	■
BRAS041	■	■	■	■	■	■	■	■

شکل ۱- هاپلوتایپ‌های مکان ژنی وزن خشک اندام هوایی روی کروموزوم A1 هاپلوتایپ ۱: V1, V2, V4, V10, V14, V15, V17, V18, V19, V26 و V36؛ هاپلوتایپ ۲: V3, V7, V11, V21, V22, V23, V27, V28, V30, V35 و V40؛ هاپلوتایپ ۳: V7 و V20؛ هاپلوتایپ ۴: V9, V12, V16, V31 و V33؛ هاپلوتایپ ۵: V6 و V40؛ هاپلوتایپ ۶: V24, V29, V34 و V41؛ هاپلوتایپ ۷: V5 و V13؛ هاپلوتایپ ۸: V8, V25, V38 و V32

تنوع هاپلوتایپی در مکان‌های ژنی مورد نظر، مطابق مطالعات (Huang et al. 2013) انجام شد. به این ترتیب که در هر ژنوتیپ، الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به یک QTL با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع SLM046 مقایسه شده و چنانچه ژنوتیپی از نظر تمام نشانگرهای آن QTL، ترکیب آلی یکسانی با ژنوتیپ مرجع داشت در هاپلوتایپ مرجع قرار گرفت. در غیر این صورت نیز ترکیب آلی آن ژنوتیپ خود به‌عنوان یک هاپلوتایپ مجزا در گروه‌بندی سایر ژنوتیپ‌ها استفاده شد. لازم به توضیح می‌باشد که می‌توان ژنوتیپ‌های مرجع متعددی را در نظر گرفت و سایر ژنوتیپ‌ها را با آن‌ها بررسی کرد. ولی در این تحقیق با توجه به نتایج شاخص SIIG (شکل ۶) و سایر مطالعات انجام شده (Zali et al. 2015 and 2016) ژنوتیپ SLM046 به‌عنوان ژنوتیپ مرجع در نظر گرفته شد.

در مجموع تنوع هاپلوتایپی برای شش QTL اصلی کنترل‌کننده صفات وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک کل گیاه در شرایط تنش خشکی با استفاده از تعدادی از نشانگرهای SSR مرتبط با QTL‌ها بر روی کروموزوم‌های A1, C3, C6 و A5 بررسی شد. این مکان‌های ژنی طی دو آزمایش در جمعیت دابل‌هاپلوئید که والدین مورد تلاقی از نظر تحمل به خشکی متفاوت بودند، مکان‌یابی شدند (Li et al. 2014). تعداد هاپلوتایپ‌ها از سه هاپلوتایپ برای وزن خشک اندام هوایی (کروموزوم C5) تا ۱۲ هاپلوتایپ برای وزن خشک اندام هوایی (کروموزوم C3) متغیر بود.

تنوع هاپلوتایپی برای چهار مکان ژنی کنترل‌کننده وزن خشک اندام هوایی واقع بر کروموزوم A1, C3, C5 و C6 انجام شد. نتایج تحلیل هاپلوتایپی برای تمام مکان‌های ژنی ذکر شده در جهت کنترل وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی به شرح زیر بود:

۱- به‌منظور ارزیابی تنوع آلی مکان ژنی بر کروموزوم A1 از ۳ نشانگر OI12-F11, BRMS096 و BRAS041 استفاده شد. این مکان ژنی در فاصله نشانگری OI12-F11 و BRAS041 مکان‌یابی شده است و ۷/۰۳ درصد از تغییرات وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی را توجیه می‌کند (Li et al. 2014). ارقام و لاین‌های مورد نظر از لحاظ مطابقت آلی با جایگاه‌های مختلف

جدول ۴- مشخصات الگوی هاپلوتایپی ۴۱ لاین و رقم کلزا برای QTL های شناسایی شده محتوای ماده خشک هوایی (SDW) در شرایط تنش خشکی بر مبنای ژنوتیپ

مرجع SLM046

شماره هاپلوتایپ	QTL مربوطه	کروموزوم	الگوی هاپلوتایپی*	فراوانی	تعداد هیبرید	تعداد لاین امیدبخش	تعداد لاین دابل هاپلوتاید	میانگین هاپلوتایپ
۱			111	۰/۲۶۸	۴	۷	—	۴/۴۴۸ ± ۰/۴۴۳
۲			110	۰/۲۴۴	۶	۳	۱	۴/۵۷۰ ± ۰/۲۶۹
۳			101	۰/۰۴۹	—	۲	—	۴/۱۸۴ ± ۰/۳۸۵
۴	rsdw1.4	A1	011	۰/۱۲۲	۲	۳	—	۴/۶۶۶ ± ۰/۴۷۴
۵			001	۰/۰۴۹	—	۱	۱	۴/۳۶۲ ± ۰/۰۸۴
۶			100	۰/۰۹۸	۳	—	۱	۴/۳۸۰ ± ۰/۲۸۷
۷			010	۰/۰۴۹	—	۲	—	۴/۳۲۱ ± ۰/۵۸۷
۸			000	۰/۱۲۲	۲	۱	۲	۴/۳۲۱ ± ۰/۵۸۷
۱			11111	۰/۰۴۹	۲	—	—	۴/۳۹۴ ± ۰/۲۲۳
۲			11010	۰/۲۶۸	۳	۸	—	۴/۴۹۰ ± ۰/۲۸۷
۳			01010	۰/۰۹۸	۱	۳	—	۴/۱۷۳ ± ۰/۴۵۱
۴			11011	۰/۱۴۶	۴	۲	—	۴/۳۶۰ ± ۰/۵۰۸
۵			00011	۰/۰۲۴	—	۱	—	۴/۳۹۰
۶	rsdw15.4	C5	01000	۰/۰۲۴	—	۱	—	۴/۱۸۰
۷			01001	۰/۰۷۳	۲	۱	—	۴/۵۲۷ ± ۰/۶۳۳
۸			01011	۰/۱۴۶	۴	۱	۱	۴/۴۸۶ ± ۰/۵۵۰
۹			11001	۰/۰۲۴	۱	—	—	۵/۲۲۰
۱۰			01111	۰/۰۹۸	۱	—	۳	۴/۰۲۵ ± ۰/۴۱۲
۱۱			11000	۰/۰۲۴	۱	—	—	۴/۳۵۰
۱۲			01110	۰/۰۲۴	—	—	۱	۳/۹۰۰
۱			1111	۰/۰۷۳	۳	—	—	۴/۵۴۴ ± ۰/۳۰۳
۲			1110	۰/۲۲۰	۵	۳	۱	۴/۳۱۴ ± ۰/۴۸۱
۳			1010	۰/۱۲۲	۳	۲	—	۴/۴۳۳ ± ۰/۵۸۱
۴			0110	۰/۲۹۳	۳	۷	۲	۴/۴۸۷ ± ۰/۳۹۳
۵	rsdw16.3	C6	0010	۰/۱۲۲	۳	—	۲	۴/۱۲۱ ± ۰/۵۹۸
۶			0100	۰/۰۲۴	—	۱	—	۴/۵۵۷
۷			0011	۰/۰۴۹	۱	۱	—	۴/۲۲۹ ± ۱/۳۸۵
۸			0111	۰/۰۲۴	۱	—	—	۴/۱۷۵
۹			1011	۰/۰۲۴	۱	—	—	۵/۰۴۸
۱۰			0000	۰/۰۴۹	۲	—	—	۴/۷۳۸ ± ۰/۰۸۵
۱			11	۰/۰۴۹	۱	۱	—	۴/۲۹۳ ± ۰/۳۶۵
۲	rrdw15.4	C5	10	۰/۸۲۹	۱۶	۱۳	۵	۴/۴۱۲ ± ۰/۴۴۶
۳			00	۰/۱۲۲	۲	۳	—	۴/۴۳۵ ± ۰/۲۴۲
								۴/۴۰۶ ± ۰/۴۴۶

میانگین

*: عدد یک در هر خانه نشان دهنده مطابقت الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به QTL مربوطه با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع و صفر نشان دهنده عدم مطابقت الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به QTL مربوطه با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع می باشد.

لاین های مورد بررسی با استفاده از این ۵ نشانگر در ۱۲ گروه هاپلوتایپی قرار گرفتند (شکل های ۲ و ۶). از میان ۱۲ گروه هاپلوتایپی، ۵ گروه مربوط به گروه های ژنوتیپی منفرد بود (هاپلوتایپ های شماره ۵، ۶، ۹، ۱۱ و ۱۲) و هیچ یک از ژنوتیپ ها (به جزء ژنوتیپ Oase)، مطابقت آلی از لحاظ همه جایگاه های

۲- فاصله نشانگری Na10-C01 و FITO133 واقع بر کروموزوم C3، از دیگر مکان های ژنی کنترل کننده وزن خشک اندام هوایی است که ۷/۳۴ درصد از تغییرات آن را توجیه می کند (Li et al. 2014). نشانگرهای مورد استفاده شامل ۵ نشانگر، Na10-E02، Na12-A08، CB10003، FITO133 و Na10-C101 بود. ارقام و

۳- سومین مکان ژنی مورد بررسی جهت کنترل وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی، در فاصله نشانگری P04MC03 و CB10526 واقع در کروموزوم C7 بود و ۶/۸ از تغییرات این صفت را توجیه می‌کرد (Li et al. 2014). برای ارزیابی تنوع هاپلوتایپی آن از ۴ نشانگر CB10526, CB10234, CB10502 و CB10010 استفاده شد. ارقام و لاین‌های مورد بررسی در ۱۰ گروه هاپلوتایپی، ۶ گروه مربوط به گروه‌های ژنوتیپی منفرد و دوتایی بودند (هاپلوتایپ‌های شماره ۵، ۸، ۹، ۷ و ۱۰) و هیچ‌یک از ژنوتیپ‌ها (به‌جز ژنوتیپ Ahmadi و Oase)، مطابقت آلی از لحاظ همه جایگاه‌های نشانگری با رقم مرجع SLM046 نداشتند و ترکیبات متفاوتی از برخی آلی‌های رقم SLM046 مشاهده شد. بیشترین تعداد لاین و ژنوتیپ‌های مورد بررسی به ترتیب در هاپلوتایپ‌های شماره ۴ و ۲ مشاهده شد.

به‌منظور بررسی تنوع هاپلوتایپی، براساس مطالعات مولکولی انجام شده، ۳ مکان ژنی کنترل‌کننده وزن خشک گیاه در شرایط تنش تعیین شد. مکان‌های ژنی مورد بررسی، حاصل مطالعات نقشه‌یابی در دو آزمایش در جمعیت دابل هاپلوئید می‌باشند (Li et al. 2014). نتایج تنوع هاپلوتایپی برای دو مکان ژنی به شرح ذیل بود:

۱- اولین مکان ژنی مورد بررسی جهت کنترل وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش خشکی، در فاصله نشانگری O112-F11 و BRMS-096 واقع در کروموزوم A1 بود و ۸/۰۴ درصد از تغییرات این صفت را توجیه می‌کنند (Li et al. 2014). برای بررسی تنوع هاپلوتایپی آن از ۳ نشانگر O112-F11, BRAS041 و BRMS-096 استفاده شد و ۹ گروه هاپلوتایپی شناسایی شد (شکل‌های ۴ و ۷) که نشان داد در میان ارقام مورد بررسی تنوع ترکیب آلی وجود دارد. در هاپلوتایپ اول علاوه بر ژنوتیپ SLM046، لاین‌های امیدبخش L996, L1008 و L1009 و ژنوتیپ‌های Oase, Tassilo, Hyola401 و DH9 قرار گرفتند که این مطلب شاید بیانگر حضور آلی‌های یکسان در این ارقام و لاین‌های امیدبخش باشد. هاپلوتایپ شماره ۲ بیشترین تعداد ژنوتیپ‌ها و لاین‌ها را به خود اختصاص داده است. در هاپلوتایپ شماره ۹ ارقام و لاین‌هایی هستند که هیچ‌کدام از آلی‌های

نشانگری رقم SLM046 را نداشتند و ترکیبات متفاوتی از برخی آلی‌های رقم SLM046 مشاهده شد. بیشترین تعداد لاین و ژنوتیپ‌های مورد بررسی به ترتیب در هاپلوتایپ‌های شماره ۲، ۴ و ۸ مشاهده شد. بیشترین میزان تولید ماده خشک نسبت به متوسط کل به ترتیب مربوط به هاپلوتایپ‌های شماره ۷، ۸ و ۲ بود (جدول ۳). هاپلوتایپ‌های ۴ و ۱۰ بیشترین شباهت آلی را با رقم SLM046 داشتند. در هاپلوتایپ ۱۰ بیش‌تر لاین‌های دابل هاپلوئید قرار داشتند. در هاپلوتایپ شماره ۲، بیش‌تر لاین‌های امیدبخش قرار گرفته‌اند (جدول ۳). این مطلب نشان می‌دهد که ترکیبات آلی مشابهی در بین لاین‌های امیدبخش وجود دارد.

نام نشانگر	شماره هاپلوتایپ‌ها											
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
Na10-C10												
FITO133												
Na12-A08												
CB10003												
Na10-E02												

شکل ۲- هاپلوتایپ‌های مکان ژنی وزن خشک اندام هوایی روی کروموزوم C3
 هاپلوتایپ ۱: V1 و V2؛ هاپلوتایپ ۲: V3, V11, V17, V18, V19, V20, V21, V22, V23, V29 و V15؛ هاپلوتایپ ۳: V4, V7, V12 و V14؛ هاپلوتایپ ۴: V5, V10, V16, V24, V25 و V26؛ هاپلوتایپ ۵: V6؛ هاپلوتایپ ۶: V8؛ هاپلوتایپ ۷: V9, V30 و V32؛ هاپلوتایپ ۸: V28, V31, V35, V36, V41 و V13؛ هاپلوتایپ ۹: V33؛ هاپلوتایپ ۱۰: V34, V38 و V39؛ هاپلوتایپ ۱۱: V11؛ هاپلوتایپ ۱۲: V37

نام نشانگر	شماره هاپلوتایپ‌ها									
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
CB10526										
CB10234										
CB10502										
CB10010										

شکل ۳- هاپلوتایپ‌های مکان ژنی وزن خشک اندام هوایی روی کروموزوم C6
 هاپلوتایپ ۱: V1 و V2؛ هاپلوتایپ ۲: V3, V5, V6, V8, V9, V25, V26 و V32؛ هاپلوتایپ ۳: V3, V10, V28, V31 و V33؛ هاپلوتایپ ۴: V11, V12, V15, V17, V18, V20, V21, V23, V35, V36, V40 و V41؛ هاپلوتایپ ۵: V13, V14, V16, V37 و V38؛ هاپلوتایپ ۶: V19؛ هاپلوتایپ ۷: V22 و V34؛ هاپلوتایپ ۸: V24؛ هاپلوتایپ ۹: V30؛ هاپلوتایپ ۱۰: V27 و V29

۲- دومین مکان ژنی کنترل کننده وزن خشک کل بر روی کروموزوم C3 و در فاصله نشانگری P04MC02 و P16MC04 قرار دارد و ۶/۱۴ درصد تغییرات صفت مربوطه را در شرایط تنش کنترل می کند (Li et al. 2014). به منظور بررسی تنوع هاپلوتایپی این مکان ژنی از ۳ نشانگر Na12-A08، F1TO133 و Na10-E02 استفاده شد و در مجموع ۵ گروه هاپلوتایپی مشخص شد (شکل های ۵ و ۷). ژنوتیپ های Oase، Talaye، DH5، DH8 و DH9 در هاپلوتایپ مرجع قرار گرفتند. هم چنین نتایج نشان داد که بیش تر لاین ها و ژنوتیپ های مورد بررسی در دو هاپلوتایپ شماره ۲ و ۳ قرار گرفته اند.

تاکنون مطالعاتی در زمینه تنوع هاپلوتایپی در مورد QTL های کنترل کننده صفات مرتبط با تحمل به خشکی در کلزا و هم چنین تنوع هاپلوتایپی در مورد سایر صفات کلزا گزارش نشده است. ولی تحقیقات تنوع هاپلوتایپی در مورد بسیاری گیاهان (Ogbonnaya et al. 2007) و مخصوصاً هاپلوتایپ های مربوط به ژن های کنترل کننده مقاومت به بیماری ها انجام شده است (Liu and Anderson, 2003; Haile et al. 2012; Huang et al. 2013).

نشانگری مشابه با رقم SLM046 در آن ها وجود ندارد. در این هاپلوتایپ، دابل هاپلوئیدهای DH1 و DH5، هم چنین لاین L942 و ژنوتیپ های Adriana و Sarigol قرار دارد. لازم به ذکر است بیش ترین مقدار ماده خشک کل مربوط به لاین L1010 که در هاپلوتایپ مرجع قرار گرفته بود و کم ترین مقدار ماده خشک هوایی مربوط به لاین L963 بود که در هاپلوتایپ شماره ۳ قرار داشت. از میان ۹ گروه هاپلوتایپی، هاپلوتایپ های شماره ۱، ۲ و ۷ میانگین مقدار ماده خشک کل در آن ها از متوسط کل بیش تر بود. هاپلوتایپ شماره ۲ ضمن داشتن شباهت به هاپلوتایپ مرجع، دارای محتوای ماده خشک بالاتر از میانگین کل نیز بود (جدول ۵) که بیانگر اهمیت ترکیب آلی مشترک این دو هاپلوتایپ در کنترل ماده خشک گیاه می باشد. کم ترین مقدار ماده خشک کل مربوط به هاپلوتایپ شماره ۶ بود. در این هاپلوتایپ لاین های L944، L945، L957، L969، L1003 و DH38 قرار داشتند. در این هاپلوتایپ به جزء لاین L1003، سایر لاین ها مقدار ماده خشک کم تر از میانگین کل را داشتند.

جدول ۵- مشخصات الگوی هاپلوتایپی ۴۱ لاین و رقم کلزا برای QTL های شناسایی شده مقدار ماده خشک کل (TDW) در شرایط تنش خشکی بر مبنای ژنوتیپ مرجع

SLM046

شماره هاپلوتایپ	QTL مربوطه	کروموزوم	الگوی هاپلوتایپی	فرآوانی	تعداد هیبرید	تعداد لاین امیدبخش	تعداد لاین دابل هاپلوئید	میانگین هاپلوتایپ
۱			111	۰/۲۲۰	۴	۴	۱	۱۱/۰۳۶ ± ۱/۰۳۶
۲			110	۰/۲۴۴	۷	۳	—	۱۰/۴۰۴ ± ۱/۶۱۰
۳			010	۰/۰۷۳	۲	۱	—	۸/۷۳۴ ± ۲/۶۸۰
۴			001	۰/۰۲۴	—	۱	—	۹/۲۸۰
۵	A1 rtdw1b.4		101	۰/۰۴۹	—	۲	—	۹/۲۰۱ ± ۲/۴۹۵
۶			011	۰/۱۴۶	—	۵	۱	۸/۵۳۹ ± ۲/۵۶۲
۷			100	۰/۰۷۳	۲	—	۱	۱۰/۳۰۵ ± ۰/۴۱۷
۸			011	۰/۰۴۹	۲	—	—	۹/۷۹۶ ± ۱/۴۲۵
۹			000	۰/۱۲۲	۲	۱	۲	۸/۹۲۰ ± ۱/۰۱۳
۱			111	۰/۱۴۶	۳	—	۳	۱۰/۱۱۰ ± ۱/۷۹۳
۲			010	۰/۳۹۰	۶	۱۰	—	۹/۹۰۰ ± ۱/۶۰۷
۳	C3 rtdw13.3		110	۰/۳۶۶	۱۰	۴	۱	۹/۶۳۰ ± ۱/۷۸۵
۴			100	۰/۰۲۴	—	۱	—	۹/۲۸۰
۵			011	۰/۰۷۳	—	۲	۱	۱۰/۲۶۳ ± ۲/۱۸۴
								۹/۸۷۰ ± ۱/۶۰۴

*: عدد یک در هر خانه نشان دهنده مطابقت الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به QTL مربوطه با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع و صفر نشان دهنده عدم مطابقت الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به QTL مربوطه با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع می باشد

نام ژنوتیپها	کد ژنوتیپها	SIIG	وزن خشک اندام هوایی													وزن خشک کل گیاه					
			A1			C3				C6			C5			A1			C3		
			O112-F11	BRMS-096	BRAS041	Na10-C101	FITO133	Na12-A08	CB10003	Na10-E02	CB10526	CB10234	CB10502	CB10010	O110-B02	BRMS-030	O112-F11	BRMS-096	BRAS041	Na10-E02	FITO133
SLM046	V1	۰/۵۷۶	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Oase	V2	۰/۴۰۱	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1
Karaj 1	V3	۰/۴۸۵	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1
Ahmadi	V4	۰/۴۲۷	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1
Okapi	V5	۰/۲۸۲	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0
L938	V6	۰/۵۰۱	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0
L941	V7	۰/۵۴۲	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
L942	V8	۰/۴۶۶	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0
L944	V9	۰/۴۰۸	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0
L945	V10	۰/۳۸۵	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0
L955	V11	۰/۳۴۸	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1
L957	V12	۰/۴۳۸	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1
L963	V13	۰/۲۶۰	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0
L969	V14	۰/۴۸۶	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1
L996	V15	۰/۵۴۷	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1
L1003	V16	۰/۳۷۱	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0
L1008	V17	۰/۴۵۵	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1
L1009	V18	۰/۵۷۷	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1
L1010	V19	۰/۵۶۴	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1
L1011	V20	۰/۴۶۰	1	0	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1
L1012	V21	۰/۵۳۵	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1
L1013	V22	۰/۵۹۲	1	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1
Lilian	V23	۰/۲۸۴	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1
Cooper	V24	۰/۴۴۷	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0
Adriana	V25	۰/۴۴۲	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Tassilo	V26	۰/۴۴۷	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
Karun	V27	۰/۵۸۳	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1
Zarfam	V28	۰/۶۷۴	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0
Karaj 2	V29	۰/۴۸۹	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Opera	V30	۰/۴۹۷	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0
Orient	V31	۰/۲۵۳	0	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0
Sarigol	V32	۰/۳۴۲	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0
Licord	V33	۰/۳۸۳	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1
Talaye	V34	۰/۵۸۲	1	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1
Hyola420	V35	۰/۳۶۶	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0
Hyola401	V36	۰/۴۲۴	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0
DH1	V37	۰/۴۰۱	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1
DH5	V38	۰/۲۷۷	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1
DH8	V39	۰/۳۶۴	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1
DH9	V40	۰/۴۷۶	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1	1	1	1
DH11	V41	۰/۳۷۹	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0

شکل ۶- تنوع هاپلوتایپی نشانگرهای SSR مرتبط با ۶ QTL تحمل به خشکی در ۴۱ لاین و ژنوتیپ کلزا. عدد یک در هر خانه نشان‌دهنده مطابقت الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به QTL مربوطه با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع و صفر نشان‌دهنده عدم مطابقت الگوهای نواری نشانگرهای پیوسته به QTL مربوطه با ترکیب آلی ژنوتیپ مرجع می‌باشد.

نام نشانگر	شماره هاپلوتایپ‌ها								
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
OI12-F11	■	■	■	■	■	■	■	■	■
BRMS-096	■	■	■	■	■	■	■	■	■
BRAS041	■	■	■	■	■	■	■	■	■

شکل ۴- هاپلوتایپ‌های مکان ژنی وزن خشک کل گیاه روی کروموزوم A1

هاپلوتایپ ۱: V1, V2, V15, V17, V18, V19, V26, V36 و V40؛ هاپلوتایپ ۲: V3, V4, V21, V22, V23, V27, V28, V30, V35 و V11؛ هاپلوتایپ ۳: V5, V13 و V34؛ هاپلوتایپ ۴: V6؛ هاپلوتایپ ۵: V7 و V20؛ هاپلوتایپ ۶: V9, V10, V12, V14, V16 و V39؛ هاپلوتایپ ۷: V24, V29 و V41؛ هاپلوتایپ ۸: V31 و V33؛ هاپلوتایپ ۹: V8, V25, V32, V37 و V38

نام نشانگر	شماره هاپلوتایپ‌ها				
	۱	۲	۳	۴	۵
Na10-E02	■	■	■	■	■
FITO133	■	■	■	■	■
Na12-A08	■	■	■	■	■

شکل ۵- هاپلوتایپ‌های مکان ژنی وزن خشک کل گیاه روی کروموزوم C5

هاپلوتایپ ۱: V1, V2, V34, V38, V39 و V40؛ هاپلوتایپ ۲: V3, V4, V7, V8, V11, V12, V14, V17, V19, V20, V21, V22, V23, V27, V29 و V33؛ هاپلوتایپ ۳: V5, V9, V10, V13, V16, V24, V25, V26, V28, V30, V31, V32, V35, V36 و V41؛ هاپلوتایپ ۴: V6؛ هاپلوتایپ ۵: V15, V18 و V37

کروموزوم C1 مشخص شدند، احتمالاً می‌توانند در شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل کمک کنند و بنابراین برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) QTL‌های متحمل به خشکی استفاده شوند.

در مجموع نتایج نشان داد که هاپلوتایپ‌هایی که با نشانگرهای OI12-F12, BRMS-096 و BRAS041 روی کروموزوم A1 و نشانگرهای Na10-E02, FITO133 و Na12-A08 بر روی

منابع

Burn JE, Smyth DR, Peacock WJ, Dennis ES (1993) Genes conferring late flowering in *Arabidopsis thaliana*. *Genetica* 90:147-155.

Burns MJ, Barnes SR, Bowman JG, Clarke MHE, Werner CP, Kearsley MG (2003) QTL analysis of an intervarietal set substitution lines in *Brassica napus* (i) seed oil content and fatty acid composition. *Heredity* 90:39-48.

Butruille DV, Guries RP, Osborn TC (1999) Linkage analysis of molecular markers and quantitative trait loci in populations of inbred backcross lines of *Brassica napus* L. *Genetics* 153:949-964.

Chen W, Zhang Y, Xueping L, Chen B, Tu J, Tingdong F (2007) Detection of QTL for six yield-related traits in oilseed rape (*Brassica napus* L.) using DH and immortalized F2 populations. *Theoretical and Applied Genetics* 115:849-858.

Dellaporta SL, Wood J and Tickes JB (1993) A plant molecular DNA miniprep. Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21.

Delourme R, Falntin C, Huteau V, Clouet V, Horvais R, Gandon B, Specel S, Hanneon L, Dheu JE, Deschamps M, Margale E, Vincourt P (2006) Genetic control of oil content in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 113:1331-1345.

Fares K, Guasmi F, Touil L, Triki T and Ferchichi A (2009) Genetic diversity of Pistachio tree using Inter-Simple Sequence markers (ISSR) supported by

morphological and chemical markers. *Biotechnology* 8:24-34.

Ferreira ME, Satagopan J, Yandell BS, Williams P, Osborn TC (1995) Mapping loci controlling vernalization requirement and flowering time in *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics* 90:727-732.

Haile JK, Hammer K et al (2012) Haplotype analysis of molecular markers linked to stem rust resistance genes in Ethiopian improved durum wheat varieties and tetraploid wheat landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution* 1-12.

Howell PM, Sharpe AG, Lydiate DJ (2003) Homoeologous loci control the accumulation of seed glucosinolates in oilseed rape (*Brassica napus*). *Genome* 46:454-460.

Huang Y, Millett BP et al (2013) Haplotype diversity and population structure in cultivated and wild barley evaluated for *Fusarium* head blight responses. *Theoretical and Applied Genetics* 1-18.

Johnson U, West J, Lister C, Michwels S, Amasino R, Dean C (2000) Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science* 290:344-347.

Li Z, Mei Sh, Mei Zh, Liu X, Fu T, Zhou G, Tu J (2014) Mapping of QTL associated with waterlogging tolerance and drought resistance during the seedling stage in oilseed rape (*Brassica napus*). *Euphytica* 197:341-353.

- Liu S, Anderson JA (2003) Targeted molecular mapping of a major wheat QTL for *Fusarium* head blight resistance using wheat ESTs and synteny with rice. *Genome* 46:817-23.
- Mayerhofer R, Bansal VK, Thiagarajah MR, Stringam GR, Good AG (1997) Molecular mapping of resistance to *Leptosphaeria maculans* in Australian cultivars of *Brassica napus*. *Genome* 40:294-301.
- Mohammadi-Nejad G, Arzani A, Rezai A, Singh RK, Gregorio GB (2008) Assessment of rice genotypes for salt tolerance using microsatellite markers associated with the saltol QTL. *African Journal of Biotechnology* 7:730-736.
- Nei M (1978) Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583-590.
- Ogbonnaya FC, Imtiaz M, Depauw RM (2007) Haplotype diversity of preharvesting QTLs in wheat. *Genome* 50:107-118.
- Osborn TC, Cole C, Parkin IA, Sharpe AG, Kuiper M, Lydiate DJ, Trick M (1997) Comparison of flowering time genes in *Brassica napus*, *Brassica rapa* and *Arabidopsis thaliana*. *Genetic* 146:1123-1129.
- Pilet ML, Delourme R, Foisset N, Renard M (1998) Identification of loci contributing to quantitative field resistance to blackleg disease, causal agent *Leptosphaeria maculans* (Desm) Ces. Et de Not., in winter rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 96: 23-30.
- Powell W, Morgante M, Anderson C, Hanafey M, Vogel J, Tingy S, Rafalaski A (1996) The comparison of RFLP, APD, AFLP and SSR (microsatellite) marker for germplasm analysis. *Journal of Molecular Breeding* 2:225-238.
- Rezaei zad A, Mohammadi VA, Zali AA, Zeinali H, Mardi M (2012) Mapping QTLs controlling yield and yield components of oilseed rape under normal irrigation and drought stress conditions. *Journal of Breeding Seed and Plant* 27:199-218 (In Farsi).
- Shannon CE Weaver W (1949) *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana.
- Shi J, Li R, Qiu D, Jiang C, Long Y, Morgan C, Bancroft I, Zhao J, Meng J (2009) Unraveling the complex trait of crop yield with quantitative trait loci mapping in *Brassica napus*. *Genetics* 182: 851-61.
- Somers DJ, Friesen KRD, Rakow G (1998) Identification of molecular markers associated with linoleic acid desaturation in *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics* 96:897-903.
- Zali H, Sofalian O, Hasanloo T, Asghari A, Hoseini, SM (2015) Appraising of drought tolerance relying on stability analysis indices in canola genotypes simultaneously, using selection index of ideal genotype (SIIG) technique: Introduction of new method. *Biological Forum – An International Journal* 7:425-436.
- Zali H, Sofalian O, Hasanloo T, Asghari A, Zeinalabedini, M (2016) Appropriate strategies for selection of drought tolerant genotypes in canola. *Journal of Crop Breeding* 78:77-90. (In Farsi)
- Zarea R, Mohammadi-Nejad G, Shahsavand-Hassani H (2013) Allelic variation of containing markers in responsible QTL for salinity tolerance (*Saltol*) at seedling stage in Iranian rice cultivars. *Journal of Agricultural Biotechnology* 5:1-14 (In Farsi).
- Zhao J, Meng J (2003) Genetic analysis of loci associated with partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 106:759-764.