

شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفات مورفولوژیکی در خربزه - طالبی ایران

Identification of Informative Markers Associated with Morphological Traits in Iranian Melon

مسعود ملکی^۱، عبدالعلی شجاعیان^{۲*}، سجاد رشیدی منفرد^۳، اعظم نیکزاد قره‌آغاجی^۴ و محسن فلاحتی عنبران^۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۱۶

چکیده

شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش مرتبط با صفات مورفولوژیکی می‌تواند در گزینش گیاهان دارای صفات برتر طی مراحل به‌نژادی و هم‌چنین تهیه نقشه‌های ژنتیک حایز اهمیت باشد. در این مطالعه برای شناسایی نشانگرهای دی‌ان‌ای آگاهی بخش از تجزیه ارتباطی استفاده شد. تجزیه ارتباطی روشی است که می‌تواند برای مطالعه روابط بین تنوع فنوتیپی و چندشکلی‌های ژنتیک و در نتیجه در ترسیم نقشه‌ها مورد استفاده قرار گیرد. در این تجزیه به‌وسیله رگرسیون گام‌به‌گام، ارتباط بین ۱۵ صفت مورفولوژیکی و نشانگرهای حاصل از ۱۰ آغازگر ISSR در ۲۷ توده محلی خربزه-طالبی ایران بررسی شد. در این پژوهش ۱۰ آغازگر ISSR، ۸۸ نشانگر چندشکل تولید نمودند. میانگین تعداد نشانگرهای ISSR تولیدشده برای هر آغازگر ۱۷/۲ بود و میزان چندشکلی ۵۱/۲ درصد به‌دست آمد. میانگین تعداد نشانگر محدوده محتوای اطلاعات چندشکل (PIC) از ۰/۱۵ در (AC)₈G تا ۰/۳۶ در (AG)₈T و (CA)₈A متغیر بود. کم‌ترین مقدار شاخص نشانگر (MI) ۰/۵۴ ((AC)₈YG)) و بیش‌ترین میزان آن ۶/۷۶ ((AG)₈T)) مشاهده گردید. کم‌ترین و بیش‌ترین تعداد نشانگر به‌ترتیب به صفات قطر جفت (۷ نشانگر) و قطر بذر (۲۷ نشانگر) مرتبط شدند. بیش‌ترین ضریب تبیین کل (R^2) (۹۹/۷ درصد) به وزن ۱۰۰ دانه اختصاص داشت. نتایج نشان داد استفاده از نشانگرهای دارای پیوستگی بالا با صفات مورفولوژیکی می‌تواند در شناسایی نشانگرهای آگاهی بخش با این صفات مهم، مفید باشد. هم‌چنین نتایج بیانگر این موضوع است که ارتباط میان آغازگرها با صفات مورفولوژیکی به میزان شاخص نشانگر و محتوای چندشکلی بستگی ندارد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه ارتباطی، ضریب همبستگی پیرسون، محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)

۱ و ۲. به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳. استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۴. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان

۵. استادیار گروه علوم گیاهی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران

* نویسنده مسئول Email: shojaeiyan@modaresac.ir

مواد و روش‌ها

در این پژوهش بذور ۲۷ توده بومی خربزه- طالبی از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شدند (جدول ۱). مواد گیاهی در اردیبهشت سال ۱۳۹۲ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل پنج بوته به فاصله ۵۰ سانتی‌متر بر روی ردیف‌هایی به عرض ۲/۶ متر و عمق ۵-۶ سانتی‌متر در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس کشت شدند. صفات مورفولوژیک شامل نسبت طول به عرض میوه، تعداد روز تا رسیدن اولین میوه بالغ، ضخامت گوشت میوه، ضخامت پوست میوه، قطر جفت، عرض جفت، قطر حفره میانی، میانگین وزن میوه در بوته، طول، عرض و قطر بذر، وزن ۱۰۰ دانه، مقدار کل مواد جامد قابل حل، سفتی پوست به همراه گوشت و وزن خشک میوه مورد بررسی قرار گرفتند. برای ارزیابی ارتباط ۱۵ صفت مورفولوژیک با یکدیگر محاسبه ضریب همبستگی پیرسون با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 انجام گرفت (جدول ۲).

جهت بررسی نمونه‌ها در سطح مولکولی با استفاده از نشانگرهای ISSR، دی‌ان‌ای ژنومی مربوط به ۱۰ فرد از هر توده به روش CTAB تغییر یافته، به‌طور جداگانه استخراج شد (دورادز^۹ و همکاران، ۱۹۹۱). تعداد ۱۰ آغازگر بین‌ریزماهوره‌ای (جدول ۳) به‌طور مجزا برای همه ۱۰ فرد از هر توده، مورد استفاده قرار گرفت. واکنش زنجیره پلی‌مرز در دستگاه ترموسایکلر (BIORAD, C 1000TM Thermal Cycler) در حجم ۱۳ میکرولیتر انجام شد. چرخه حرارتی-زمانی شامل سه مرحله: مرحله اول واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۴°C به مدت سه دقیقه، مرحله دوم شامل سه گام واسرشته‌سازی در دمای ۹۵°C به مدت یک دقیقه، اتصال در دمای ۳۰°C به مدت یک دقیقه و گسترش در دمای ۷۲°C به مدت دو دقیقه بود که در ۳۴ چرخه این گام‌ها تکرار شدند. مرحله سوم (گسترش نهایی) در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. محصولات واکنش زنجیره پلی‌مرز بر روی ژل پلی‌اکریل‌امید ۱۰ درصد بارگذاری شده و سپس به روش رنگ‌آمیزی نیترا-نقره باندها آشکار شدند (بازم^{۱۰} و همکاران، ۱۹۹۱).

خربزه و طالبی متعلق به گونه *mele* جنس *Cucumis*، خانواده Cucurbitaceae و راسته Cucurbitales هستند. تعداد کروموزوم پایه در این جنس $X=12$ می‌باشد (کرج و گرام^۱، ۲۰۰۰). به‌نژادی به کمک نشانگر، راندمان انتخاب گیاهان حاوی ژن‌های مطلوب را به‌طور قابل ملاحظه‌ای بهبود داده است. هر نشانگر ژنتیک، نشانی است که مکان خاصی را در توالی دی‌ان‌ای ژنوم موجودات زنده نشان می‌دهد (فارسی و باقری، ۱۳۸۸). نشانگر بین‌ریزماهوره‌ای^۲ روشی مبتنی بر واکنش زنجیره پلی‌مرز است که شامل تکثیر قطعه دی‌ان‌ای حاضر در فاصله‌ی تکثیرپذیر میان دو ناحیه تکراری ریزماهوره مشابه با جهت‌های معکوس است. در این روش، بیشتر مزایای نشانگرهای AFLP، SSR و RAPD ترکیب شده‌اند. این نشانگر عمدتاً به‌عنوان نشانگر بارز و با توارث‌پذیری ساده مندلی شناخته می‌شود (ردی^۳ و همکاران، ۲۰۰۲). از آنجایی که نشانگرها و ژن‌های نزدیک به هم، روی کروموزوم یکسانی نشان داده می‌شوند، با فرض عدم وجود نوترکیبی بین آن‌ها تمایل به باقی ماندن در کنار هم در هر نسل را دارند. هنگامی که مشخص شود نشانگرها کجای کروموزوم قرار گرفته و چقدر به ژن‌های خاص نزدیک هستند، می‌توان یک نقشه پیوستگی ژنتیک را به‌دست آورد. این قبیل نقشه‌های ژنتیک چندین هدف را دنبال می‌کنند که شامل تجزیه جز به جز برای یافتن ارتباط بین صفات مهم اقتصادی با ژن‌ها یا جایگاه کنترل‌کننده صفات کمی^۴ و تسهیل انتقال ژن‌های مطلوب به‌وسیله گزینش به کمک نشانگر است (سمان^۵ و همکاران، ۲۰۰۶). تجزیه ارتباطی^۶ روشی است که می‌تواند برای مطالعه ارتباط بین تنوع فنوتیپی و چندشکلی‌های ژنتیکی و در نتیجه در ترسیم نقشه‌ها مورد استفاده قرار گیرد (برسگلو و سورلس^۷، ۲۰۰۶). این روش اخیراً در برخی پژوهش‌ها بر روی محصولات باغی نیز استفاده شده است. برای نمونه مارصفری و همکاران (۱۳۹۲) تجزیه ارتباطی برخی صفات مورفولوژیک مهم را با نشانگرهای RAPD در رقم خرما انجام دادند. هدف از این پژوهش شناسایی نشانگرهای آگاهی‌بخش^۸ بین‌ریزماهوره‌ای مرتبط با صفات مورفولوژی مورد بررسی در ۲۷ توده محلی خربزه- طالبی بود.

1. Kerje and Gerum
2. Inter simple sequence repeat
3. Reddy
4. Quantitative trait loci
5. Segmagn
6. Association analysis
7. Bresghello and Sorrells
8. Informative markers

9. Edward
10. Bassam

جدول ۱: جزئیات ۲۷ توده خربزه- طالبی بررسی شده در این پژوهش

Table 1: Details of 27 studied melon accessions

شماره No.	کد Code	نام محلی Local name	خاستگاه	گروه باغبانی Horticultural variety (group)	عرض جغرافیایی Latitude	طول جغرافیایی Longitude
			Origin شهر City			
1	GER	Gergah	گیلانغرب Gilan-e Gharb	var. <i>dudaim</i>	34°10'N	46°00'E
2	MIKE	Mirpanj	کرمانشاه Kermanshah	var. <i>inodorus</i>	34°18'N	47°04'E
3	GES	Garmak	اصفهان Esfahan	var. <i>reticulates</i>	32°38'N	51°39'E
4	SHA	Talebi Shahabadi	اصفهان Esfahan	var. <i>reticulates</i>	32°38'N	51°39'E
5	GOR	Gorgab	اصفهان Esfahan	var. <i>inodorus</i>	32°38'N	51°39'E
6	KONA	Komboze	نجف آباد Najafabad	var. <i>inodorus</i>	32°45'N	51°15'E
7	AHAR	Ahar	اهر Ahar	var. <i>ameri</i>	38°28'N	47°04'E
8	TSAV	Talebi Saveh	ساوه Saveh	var. <i>reticulates</i>	35°01'N	50°21'E
9	BANI	Barge Ney	محلات Mahallat	var. <i>inodorus</i>	33°54'N	50°27'E
10	TONI	Tozard	محلات Mahallat	var. <i>inodorus</i>	33°54'N	50°27'E
11	ZANI	Zard	محلات Mahallat	var. <i>inodorus</i>	33°54'N	50°27'E
12	BONI	Bodagh	محلات Mahallat	var. <i>inodorus</i>	33°54'N	50°27'E
13	AISI	Alashalta Sijaval	بندر ترکمن Bandar Torkaman	ND*	36°54'N	54°04'E
14	KSI	Khiyari Sijaval	بندر ترکمن Bandar Torkaman	ND	36°54'N	54°04'E
15	KHM	Khatoni	نیشابور Neyshabur	var. <i>inodorus</i>	36°12'N	58°47'E
16	NB	Nishbaba	نیشابور Neyshabur	var. <i>ameri</i>	36°12'N	58°47'E
17	SANI	Sabz	نیشابور Neyshabur	var. <i>inodorus</i>	36°12'N	58°47'E
18	GNI	Garmak	نیشابور Neyshabur	var. <i>reticulates</i>	36°12'N	58°47'E
19	GB	Ghanat Boshroye	نیشابور Neyshabur	var. <i>inodorus</i>	36°12'N	58°47'E
20	TS	Tashkandi	نیشابور Neyshabur	var. <i>inodorus</i>	36°12'N	58°47'E
21	TISA	Til Sabz	نیشابور Neyshabur	var. <i>cantalupensis</i>	36°12'N	58°47'E
22	TA	Til Atashi	نیشابور Neyshabur	var. <i>cantalupensis</i>	36°12'N	58°47'E
23	TM	Til Magasi	نیشابور Neyshabur	var. <i>cantalupensis</i>	36°12'N	58°47'E
24	KN	Khaghani	نیشابور Neyshabur	var. <i>inodorus</i>	36°12'N	58°47'E
25	AV	Eyvanaki	قمسر Garmsar	var. <i>inodorus</i>	35°13'N	52°20'E
26	HM	Hajimoshalahi	گنبد Gonabad	var. <i>inodorus</i>	34°21'N	58°41'E
27	CP	Chahpaliz	گنبد Gonabad	var. <i>inodorus</i>	34°21'N	58°41'E

*ND = مشخص نشده

*ND = not determined

جدول ۲: ماتریس ضرایب همبستگی پیرسون بین صفات مختلف در ۲۷ توده بومی خربزه - طالبی

Table 2: Pearson correlation matrix between 15 traits in 27 melon accessions

SFF	D	W	L	DM	TSS	PW	AF	SW	CD	PD	ST	FT	DT	FR	نشان Symbol	صفات Traits
														1	FR	نسبت طول به عرض میوه Fruit length-width ratio
													1	0.68**	DT	روز تا اولین میوه بالغ Days to the first mature fruit
												1	0.39*	-0.05	FT	قطر گوشت Flesh thickness
											1	0.17	0.40*	0.34	ST	قطر پوست Skin thickness
										1	-0.19	0.30	-0.32	0.65**	PD	قطر جفت Placenta diameter
									1	0.65**	-0.28	0.52**	-0.08	-0.54**	CD	قطره حفره میانی Cavity diameter
								1	0.30	0.14	0.46*	0.64**	0.66**	0.31	SW	وزن ۱۰۰ دانه 100- seed weight
							1	0.82**	0.13	-0.12	0.57**	0.54**	0.74**	0.34*	AF	میانگین وزن میوه در بوته Average fruit weight per bush
						1	0.05	0.34	0.67**	0.79**	-0.14	0.46*	-0.14	-0.46*	PW	پهنای جفت Placenta width
					1	0.50**	0.27	0.14	-0.58**	-0.55**	0.41*	0.08	0.46*	0.59**	TSS	محتوای مواد جامد قابل حل کل Total solid soluble content
				1	0.71**	0.50**	0.12	-0.30	-0.66**	-0.53**	0.26	-0.25	0.07	0.34	DM	وزن ماده خشک گوشت Dry matter
			1	-0.21	0.15	0.51**	0.62**	0.80**	0.29	0.19	0.21	0.65**	0.59**	0.36	L	طول بذر Seed Length
		1	0.76**	0.47*	-0.12	0.58**	0.66**	0.87**	0.47*	0.39*	0.33	0.60**	0.44*	0.03	W	عرض بذر Seed width
	1	-0.59**	0.07	0.48*	0.37	-0.26	-0.23	-0.36	0.36	-0.39*	-0.23	-0.10	0.04	0.38*	D	قطر بذر Seed diameter
1	-0.10	0.29	0.25	0.29	0.45*	-0.13	0.53**	0.46*	-0.16	-0.24	0.73**	0.43*	0.39*	0.30	SFF	سفتی گوشت همراه پوست میوه Fruit skin and flesh hardness

** و * : به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

** and * : Significant at the 1 and 5% levels of probability, respectively

۸۸ نشانگر چندشکل (۵۱/۱۶ درصد)، ۹ نشانگر دارای حداکثر ضریب تبیین با صفات مورفولوژیک بودند. از این ۹ نشانگر، آغازگر GAA_6 بیشترین تعداد (۴ عدد) نشانگر با ضریب تبیین بالا را داشت. بیشترین میزان شاخص نشانگری که نشان‌دهنده قدرت تمایز آغازگر می‌باشد مربوط به آغازگر $(AG)_8T$ و بیشترین میزان PIC به آغازگر $(AG)_8T$ و $(CA)_8A$ تعلق داشت (جدول ۳). یلدیز^۵ و همکاران (۲۰۱۱) با پژوهشی بر روی ۶۳ توده بومی خربزه و طالبی ترکیه و ۱۹ توده از سراسر جهان، میزان محتوای اطلاعات چندشکلی را برای ۱۵ آغازگر ISSR ۵۷/۵ درصد به‌دست آوردند.

نتایج رگرسیون گام به گام داده‌های مورفولوژیک و مولکولی در جدول ۴ نشان داده شده است. بیشترین و کمترین تعداد نشانگر به ترتیب به صفات قطر بذر (۲۷ نشانگر) و قطر جفت (۷ نشانگر) مرتبط شدند. همچنین بیشترین مقدار ضریب تبیین (R^2) کل (۹۹/۷ درصد) به صفت وزن ۱۰۰ دانه اختصاص داشت. ضریب تبیین در واقع نشان می‌دهد که از کل تغییرات حاصل از Y چه سهمی مربوط به X است و هرچه این ضریب تبیین بزرگ‌تر باشد؛ به معنی این است که بیشترین تغییرات متغیر وابسته (Y) توسط متغیر مستقل (X) توجیه می‌شود. نشانگر با اندازه ۱۰۴۴ جفت‌باز، مربوط به آغازگر $(TG)_8G$ دارای بیشترین R^2 برای صفت مقدار کل مواد جامد قابل حل، نشانگر با اندازه ۵۳۶ جفت‌باز مربوط به آغازگر $(TG)_8G$ دارای بیشترین R^2 برای صفات عرض بذر و وزن ۱۰۰ دانه، نشانگر با اندازه ۱۰۶۳ جفت‌باز مربوط به آغازگر $(AC)_8YG$ دارای بیشترین R^2 برای صفات نسبت طول به عرض میوه، نشانگر با اندازه ۳۱۰۰ جفت‌باز مربوط به آغازگر $(AC)_8G$ دارای بیشترین R^2 برای صفت طول بذر، نشانگر با اندازه ۲۷۸۵ جفت‌باز مربوط به آغازگر GAA_6 دارای بیشترین R^2 برای صفت قطر بذر، نشانگر با اندازه ۵۸۵ جفت‌باز مربوط به آغازگر GAA_6 دارای بیشترین R^2 برای صفت میانگین میوه در بوته، نشانگر با اندازه ۵۴۳ جفت‌باز مربوط به آغازگر GAA_6 دارای بیشترین R^2 برای صفات قطر جفت و پهنای جفت و نشانگر با اندازه ۲۷۷۰ جفت‌باز مربوط به آغازگر $(CA)_8A$ دارای بیشترین R^2 برای صفات قطر حفره میانی، ماده خشک گوشت میوه و سفتی گوشت همراه پوست میوه بود.

داده‌های مولکولی براساس وجود باند (عدد یک) و عدم وجود آن (عدد صفر) برای هر آغازگر حاصل شد. محتوای اطلاعات چندشکل^۱ نشانگرها، با استفاده از فرمول $PIC=1-[f^2-(1-f^2)]$ (f فراوانی نشانگر در مجموعه داده‌ها) محاسبه شد (د ریک^۲ و همکاران، ۲۰۰۱). شاخص نشانگر^۳ با استفاده از فرمول $MI= PIC.N/\beta$ برای کلیه آغازگرها نیز محاسبه گردید (PIC میانگین اطلاعات چندشکلی برای هر آغازگر، N تعداد کل باندها برای هر آغازگر، β نسبت چندشکلی برای هر آغازگر) (د/نگی^۴ و همکاران، ۲۰۰۴). تجزیه ارتباطی ۱۵ صفت مورفولوژیک و نشانگرهای بین ریزماهوره‌ای در ۲۷ توده خربزه-طالبی با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 با روش رگرسیون گام‌به‌گام انجام شد. در هر بار تجزیه یکی از صفات مورفولوژیک به عنوان متغیر وابسته (Y) و کلیه نشانگرها را به عنوان متغیرهای مستقل (X) در تجزیه وارد شدند. بعد از تعیین نشانگرهایی که درصد بالایی از تغییرات را توجیه نمودند، موقعیت آن نشانگرها روی ژل مشخص گردید.

نتایج و بحث

نتایج همبستگی بین صفات مورفولوژیک نشان داد که صفت روز تا رسیدن میوه با صفات قطر گوشت، قطر پوست، مقدار کل مواد جامد قابل حل، عرض بذر و سفتی گوشت همراه پوست میوه در سطح احتمال یک درصد ارتباط مثبت و معنی‌داری دارد. همچنین این صفت با صفات وزن ۱۰۰ دانه، میانگین وزن میوه در بوته و طول بذر در سطح احتمال پنج درصد، ارتباط مثبت و معنی‌داری را نشان داد. صفت میانگین وزن میوه در بوته رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد با صفت نسبت طول به عرض میوه داشت و به‌علاوه رابطه مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با صفات قطر گوشت، قطر پوست، وزن ۱۰۰ دانه، طول بذر، عرض بذر و سفتی گوشت همراه پوست نشان داد. بیشترین میزان همبستگی، بین دو صفت میانگین وزن میوه در بوته و وزن صد دانه ($r=0/82^{**}$) مشاهده شد. محمدی و همکاران (۱۳۹۳) در پژوهشی بر روی ۴۹ ژنوتیپ طالبی گزارش نمودند که بین صفات میانگین وزن میوه، قطر گوشت و قطر حفره میانی رابطه مثبت و معنی‌داری داشت درحالی‌که با صفات قطر پوست و قطر حفره هیچ‌گونه رابطه معنی‌داری نشان نداد.

در این پژوهش ۱۰ آغازگر ISSR، ۱۷۲ قطعه تکثیر (نشانگر) حاصل گردید که ۸۸ نشانگر چندشکل بودند. از میان

1. Polymorphic Information Content (PIC)
2. De Riek
3. Marker Index (MI)
4. Dangi

جدول ۳: مقادیر محتوای اطلاعات چندشکل (PIC)، شاخص نشانگر (MI) و درصد چندشکلی (PP) برای ۱۰ آغازگر ISSR استفاده شده روی ۲۷ توده خربزه طالبی بومی ایران

Table 3: Polymorphism information content (PIC), marker index (MI), polymorphism percentage (PP) for 10 studied primers on 27 Iranian melon accessions

PP (%)	MI	PIC	توالی (5'-3') Sequence (5'-3')	نام آغازگر Primer name
50.0	2.03	0.20	TGTGTGTGTGTGTGG	(TG) ₈ G
73.08	6.76	0.36	AGAGAGAGAGAGAGT	(AG) ₈ T
70.0	3.46	0.25	GAGAGAGAGAGAGAT	(GA) ₈ T
35.3	0.92	0.15	GAGAGAGAGAGAGAYC	(GA) ₈ YC
10.0	0.54	0.27	ACACACACACACACYG	(AC) ₈ YG
35.7	1.79	0.36	CACACACACACACAA	(CA) ₈ A
50.0	0.76	0.15	ACACACACACACACG	(AC) ₈ G
62.5	2.85	0.29	GAAGAAGAAGAAGAA	(GAA) ₆
84.6	3.30	0.30	GACAGACAGACAGACA	(GACA) ₄
37.5	1.87	0.31	GAGAGAGAGAGAGAA	(GA) ₈ A
50.9	2.43	0.26		میانگین Mean

جدول ۴: تجزیه ارتباط میان داده‌های ۱۵ صفت مورفولوژیکی و داده‌های مولکولی با استفاده از روش رگرسیون گام‌به‌گام

Table 4: Analysis of association between 15 morphological traits and molecular data using stepwise regression

ISSR complete	درجه آزادی منبع واریانس df of Source of Variance		ISSR Max	درجه آزادی منبع واریانس df of Source of Variance		R ² (T) %	R ² (Max) %	تعداد نشانگر No. of marker	صفات Traits
	X	Y		Y	X				
1.6***	44	13	12.8***	56	1	92.8	57.4	15	نسبت طول به عرض میوه Fruit length-width ratio
578***	42	15	2932***	56	1	98.2	32.2	25	روز تا اولین میوه بالغ Days to first mature fruit
101***	46	11	663***	56	1	90.8	54.1	13	ضخامت گوشت میوه Flesh thickness
6.34***	46	11	27.0***	56	1	85.3	33	11	ضخامت پوست Skin thickness
197***	50	7	928***	56	1	83.1	56.4	7	قطر جفت Placenta diameter
719***	45	12	2542***	56	1	92.8	26.5	18	قطر حفره میانی Cavity diameter
4.05***	33	24	49***	56	1	99.7	49.5	28	وزن ۱۰۰ دانه 100- seed weight
1222204***	42	15	7211547***	56	1	96.1	37.1	19	میانگین وزن میوه در بوته Average fruit weight per bush
326***	40	17	2346***	56	1	97.2	53.7	13	پهنای جفت Placenta width
27.0***	48	9	188***	56	1	92.3	72.1	9	محتوای مواد جامد قابل حل کل Total solid soluble content
15.4***	46	11	98.6***	56	1	96.2	55.7	11	مقدار ماده خشک گوشت Dry matter
12.7***	45	12	182***	56	1	97.8	45.5	18	سفتی گوشت همراه پوست میوه Fruit skin and flesh hardness
6.01***	39	18	79.4***	56	1	99.5	68.7	23	طول بذر Seed length
2.21***	46	11	13.7***	56	1	99.6	54.3	13	عرض بذر Seed width
0.09***	40	17	0.53***	56	1	95.2	34.5	27	قطر بذر Seed diameter

***: معنی دار در سطح ۰/۰۰۱، R² adjusted (Max) %: بیشترین ضریب تبیین تعدیل شده مربوط به یک نشانگر برای صفات مورفولوژیکی، R² adjusted T: مجموع کل ضریب تبیین تعدیل شده نشانگرهای آگاهی بخش برای صفات مورفولوژیکی، Max: درصدی از تغییرات که توسط متغیرهای مستقل اول توجیه می‌شود، ISSR Complete: درصدی از تغییرات که توسط کل متغیرهای مستقل توجیه می‌شود

***: Significant at 0.001 level, R² adjusted (Max) %: Maximum adjusted coefficient of determination for a molecular marker related to morphological traits, R² adjusted T: Total adjusted coefficient of determination for a molecular marker related to morphological traits, ISSR, ISSR Max: Percentage of variation that is explained by first independent variables, ISSR complete: Percentage of variation that is explained by total independent variables

دسترس نبودن و زمان بر بودن تهیه جمعیت‌های نقشه‌یابی و نیز عدم پیوستگی مناسب بین صفات و نشانگرها، محدودیت بزرگی در شناسایی نشانگرهای مولکولی برای صفات خاص می‌باشد. به‌منظور غلبه بر این محدودیت‌ها، از نشانگرهای مولکولی پیوسته با صفات موردنظر که از طریق تجزیه ارتباطی شناسایی شده‌اند، به‌درستی می‌توان استفاده نمود (روی^۳ و همکاران، ۲۰۰۶).

نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که بین صفات عرض بذر و وزن ۱۰۰ دانه، قطر جفت و پهنای جفت، قطر حفره میانی و ماده خشک گوشت میوه ارتباط معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد. همان‌طور که پیش‌تر ذکر شد این صفات دارای نشانگر مشترک هستند که این مهم می‌تواند به وجود پیوستگی بین صفات یادشده دلالت داشته باشند. این نتیجه با پژوهش انجام شده توسط مارصفری و همکاران (۱۳۹۲) مطابقت داشت.

نتایج نشان داد که آغازگر^۶ (GAA) با وجود این‌که از نظر شاخص نشانگری و محتوای اطلاعات چندشکلی در حداکثر مقدار قرار نگرفت ولی ارتباط قوی‌تری با صفات مورفولوژیک نسبت به دیگر آغازگرها را نشان داده و بدین ترتیب احتمال وجود توالی آغازگر در نواحی کدکننده صفات مورفولوژیک را بیان می‌کند. مارصفری و همکاران (۱۳۹۲) تجزیه ارتباطی بین ۱۱ صفت مورفولوژیک و ۱۲۲ نشانگر RAPD را در ۱۵ رقم خرما نشان دادند. بیش‌ترین میزان R^2 مربوط به یک نشانگر مرتبط با صفت قطر بذر (۲۶ درصد) و بیش‌ترین R^2 کل مربوط به صفت شکل میوه (۶۷ درصد) بود. آن‌ها نتیجه گرفتند که تعدادی از نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط می‌باشند لذا همبستگی این صفات با یکدیگر بسیار زیاد گزارش شد. رشیدی‌منفرد و همکاران (۱۳۸۷) تجزیه ارتباطی شش صفت زراعی و ۷۴ نشانگر مولکولی SSAP را روی گندم دوروم نشان داده و بیش‌ترین R^2 کل (۷۳ درصد) را به طول گیاه نسبت دادند. این پژوهشگران نتیجه گرفتند، چنانچه ترکیبات آغازگری بیشتری استفاده شود، نشانگرهای دارای همبستگی بیشتر با صفات مربوط به عملکرد و اجزاء عملکرد را می‌توان انتظار داشت. هم‌چنان‌که اطلاعات به‌وسیله پژوهش‌ها بر روی جایگاه‌های صفات کمی به‌دست می‌آید، روش‌هایی نیاز است تا این اطلاعات را به‌طور عملی به ابزار مناسب برای گزینش گیاهان تبدیل کند. تجزیه ارتباطی می‌تواند ابزاری مؤثر برای برطرف نمودن شکاف میان تجزیه QTL و گزینش به کمک نشانگر^۱ باشد (برسگلو و همکاران، ۲۰۰۶). هم‌چنین می‌توان نشانگرهای آگاهی‌بخش شناسایی شده با R^2 بالا را از روی ژل جداسازی نمود و پس از توالی‌یابی و هم‌ردیفی^۲ توالی در پایگاه‌های اطلاعاتی، ژن‌های کاندید با بیش‌ترین شباهت را شناسایی نمود. علاوه بر این می‌توان از توالی موردنظر، آغازگرهای SCAR را برای صفات هدف طراحی نمود و در انتخاب به کمک نشانگر (MAS) جهت برنامه‌های به‌نژادی بهره برد (رشیدی‌منفرد و همکاران، ۱۳۸۷). به‌علاوه، گاهی در

منابع

- رشیدی منفرد، س.، مردی، م.، حسین زاده، ع. ه. و نقوی، م. ر. ۱۳۸۷. تجزیه ارتباطی بین صفات زراعی مهم و نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP در نمونه های گندم دوروم. ژنتیک نوین، ۳ (۲): ۲۹-۳۵.
- فارسی، م. و باقری، آ. ۱۳۸۸. اصول اصلاح نباتات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۳۶۸ صفحه.
- مارصفری، م.، اشرف مهرابی، ع.، طهماسبی، ز. و راهنما، ع. ا. ۱۳۹۲. تجزیه ارتباطی برخی صفات مورفولوژیک مهم با نشانگرهای RAPD در رقم خرماي ایران. نشریه علوم باغبانی، ۲۷ (۴): ۱۴۱-۱۴۴.
- محمدی، ر.، دهقانی، ح.، کریم زاده، ق.، فنی، د. و اکرمی، م. ۱۳۹۳. بررسی رابطه بین عملکرد و اجزای آن در ژنوتیپ های طالبی بومی ایران. نشریه علوم باغبانی ایران، ۴۵ (۱): ۱-۱۰.
- Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G. and Gresshoff, P. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 196 (1): 80-83.
- Breseghele, F. and Sorrells, M. E. 2006. Association analysis as a strategy for improvement of quantitative traits in plants. *Crop Science*, 46 (3): 1323-1330.
- Dangi, R., Lagu, M., Choudhary, L., Ranjekar, P. and Gupta, V. 2004. Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD marker. *BMC Plant Biology*, 4 (1): 1-13.
- De Riek, J., Calsyn, E., Everaert, I., Van Bockstaele, E. and De Loose, M. 2001. AFLP based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1254-1265.
- Kerje, T. and Grum M. 2000. The origin of melon, *Cucumis melo*: a review of the literature. VII Eucarpia Meeting on *Cucurbit* Genetics and Breeding 51, Paris, 37-44.
- Edwards, K., Johnstone, C. and Thompson, C. 1991. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucleic Acids Research*, 19 (6): 1349.
- Reddy, M. P., Sarla, N. and Siddiq, E. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, 128 (1): 9-17.
- Roy, J. K., Bandopadhyay, R., Rustgi, S., Balyan, H. S. and Gupta, P. K. 2006. Association analysis of agronomically important traits using SSR, SAMPL and AFLP markers in bread wheat. *Current Science*, 90 (5): 683-689.
- Semagn, K., Bjornstad, A. and Ndjiondjop, M. 2006. An overview of molecular marker methods for plants. *African Journal of Biotechnology*, 5 (25): 2540-2568.
- Yildiz, M., Ekbic, E., Keles, D., Sensoy, S. and Abak, K. 2011. Use of ISSR, SRAP, and RAPD markers to assess genetic diversity in Turkish melons. *Scientia Horticulturae*, 130: 349-353.

Identification of Informative Markers Associated with Morphological Traits in Iranian Melon

Maleki¹, M., Shojaeiyan^{2*}, A., Rashidi-Monfared³, S., Nikzad Gharehaghaji⁴, A. and Falahati-Anbaran⁵, M.

Abstract

Identification of informative markers associated with morphological traits can be important in breeding programs specifically in selection of elite plants and constructing genetic maps. In this study, association analysis was used to detect informative markers. This technique is applied to study the relation between phenotypic and genetic diversity which allows subsequent constructing genetic maps. Stepwise regression analysis was used to determine the association between 15 morphological traits and 10 ISSR markers in 27 Iranian melon (*Cucumis melo* sp.) accessions. The 10 ISSR primers generated 88 polymorphic markers. The average number of ISSR markers generated was 17.2 per primer and the level of polymorphism was 51.2%. Polymorphism information content (PIC) was ranged from 0.15 for (AC)₈G to 0.36 for (AG)₈T and (CA)₈A. Marker index was ranged from 0.54 (for (AC)₈YG) to 6.67 (for (AG)₈T). Minimum and maximum number of markers was found for placenta diameter (7 markers) and seed diameter (27 markers) respectively. Maximum total adjusted coefficient of determination (R^2) (99.7 %) was estimated for 100-grain weight. Results indicated that the use of markers having high linkage with morphological traits can also be utilized to identify informative markers associated with these traits. This result showed that relation between primers and morphological traits is independence of marker index and polymorphism information content.

Keywords: Association analysis, Pearson's correlation coefficient, Polymorphism information content (PIC)

1 and 2. MSc Graduated and Assistant Professor, Respectively, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran

3. Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran

4. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan

5. Assistant Professor, Department of Plant Science, School of Biology, University of Tehran, Tehran

*: Corresponding author Email: Shojaeiyan@modares.ac.ir