

تجزیه ارتباط عملکرد و برخی صفات گیاهی در ژنوتیپهای کتان ایرانی با استفاده از

نشانگرهای IRAP و REMAP



حسین عباسی هولاسو^۱، بابک عبدالهی مندولکانی^{۲*} و عبدالله حسن‌زاده قورت تپه^۳

^۱ ایران، تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی

^۲ ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی

^۳ ایران، ارومیه، آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، بخش

تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲۵

چکیده

شناسایی نشانگرهای چند شکل مرتبط با صفات کمی امکان استفاده مؤثر از تنوع موجود در بانکهای ژنی را فراهم می‌سازد. در این مطالعه به منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با ۲۰ صفت زراعی-مورفولوژیک در کتان زراعی (*Linum usitatissimum*) از هفت آغازگر IRAP (Inter-retrotransposon amplified polymorphism) و ۱۳ آغازگر REMAP (Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism) و تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (Mixed linear model) استفاده شد. صفات زراعی-مورفولوژیک مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته، وزن ساقه اصلی، وزن شاخه فرعی، تعداد شاخه‌های اولیه، تعداد شاخه‌های ثانویه، تعداد کپسول ساقه اصلی، تعداد کپسول ساقه فرعی، وزن کپسول ساقه اصلی، وزن کپسول ساقه فرعی، وزن برگ، وزن هزار دانه، عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، شاخص برداشت، درجه روز از کاشت تا سبز شدن، درجه روز از کاشت تا گلدهی، درجه روز از کاشت تا کپسول‌دهی، درصد روغن، درصد پروتئین و درصد نیتروژن بود. مطالعه ساختار جمعیت به روش بی‌زیب (Bayesian)، بیانگر وجود دو زیر گروه احتمالی ($K=2$) در جمعیت مورد مطالعه بود. میانگین شاخص تثبیت یا Fixation index (F_{st}) در دو گروه نسبتاً بالا بود که بیانگر تمایز قابل توجه بین دو گروه می‌باشد. بر اساس مدل خطی مخلوط، ۲۱ مکان مرتبط با صفات ($P \leq 0.01$) شناسایی شد. صفت وزن برگ بیشترین تعداد مکان پیوسته را دارا بود. نشانگر LTR1833-LTR1868-3 با نواحی ژنومی کنترل‌کننده صفات شاخص برداشت، درصد پروتئین و درصد نیتروژن پیوسته بود. نتایج مطالعه حاضر می‌تواند به عنوان نقطه شروعی جهت استفاده از گزینش به کمک نشانگر در برنامه‌های اصلاحی کتان مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه بی‌زیب، ساختار جمعیت، عملکرد دانه، کتان، مدل خطی مخلوط

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۳۸۶۹۹۰، پست الکترونیکی: b.abdollahi@urmia.ac.ir

مقدمه

حدود ۳۷۰ Mb می‌باشد (۲۳) و علی‌رغم اهمیت زیاد آن، در کشور ایران کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در مقابل، به دلیل ارزش اقتصادی زیاد بذر آن در جوامع محلی، رویشگاههای این گونه مورد برداشتهای شدید قرار

کتان (*Linum usitatissimum* L., $2n=2x=30$) یکی از گونه‌های ارزشمند جنس لینوم (*Linum*) است که منبع غنی از اسیدهای چرب ضروری به ویژه اسیدهای چرب امگا ۳ و امگا ۶ می‌باشد. گیاه کتان خودگشن و اندازه ژنوم آن

گرفته و سال‌های سال در معرض فرسایش شدید ژنتیکی است. روش‌های اصلاحی مرسوم، پایه و اساس بهبود ژنتیکی کتان شده و ارقام جدیدی با مقاومت پایدار به بیماریها، سازگاری زراعی و پایداری عملکرد بالا تولید شده است. با این وجود، پایه ژنتیکی محدودی جهت توسعه ارقام زراعی کتان مورد استفاده قرار گرفته است (۹). دسترسی محدود به گونه‌هایی با تنوع جدید در این گیاه، کمبود سیستم‌های مؤثر جهت تولید واریته‌های هیبرید و ابزار ژنومیک محدود برای اصلاح مولکولی کتان از جمله مواردی است که مانع تولید ارقامی با عملکرد بالا و کیفیت بهتر صفات کیفی در این گیاه شده است (۱۰) و (۱۳).

در کتان عملکرد دانه و اجزاء عملکرد همانند وزن هزار دانه، تعداد دانه در کپسول، و تعداد کپسول در بوته جزء صفات مهم، پیچیده و کمی محسوب می‌شوند و توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شوند. فهم اساس ژنتیکی صفات مرتبط با عملکرد از ارزش کاربردی برای اصلاح‌گران داراست زیرا چنین اطلاعاتی در طراحی استراتژیهای اصلاحی کمک شایانی خواهد کرد (۳۰). صفات زراعی دیگری همچون زمان گلدهی، ارتفاع گیاه و تعداد شاخه ممکن است به صورت غیر مستقیم توسط مکانیسم‌های فیزیولوژیکی متنوعی بر عملکرد اثر بگذارند (۱۸). تخمین مکانهای ژنتیکی کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) از جمله عملکرد و اجزای آن و دیگر ویژگیهای زراعی در کتان از اهمیت ویژه‌ای برای انتخاب به کمک نشانگر (MAS) برخوردار است (۳۰). با استفاده از انتخاب به کمک نشانگر می‌توان کارایی اصلاح صفات مهمی مانند محتوای روغن و عملکرد را در کتان بهبود بخشید (۲۹). با وجود این، انتخاب به کمک نشانگر نیازمند توسعه ابزار ژنومیک همانند نقشه ژنتیکی و نشانگرهای مولکولی پیوسته با صفات می‌باشد (۹ و ۱۰).

یکی از برنامه‌های کاربردی در مطالعه صفات کمی در دهه اخیر، مکان‌یابی ژنهای کنترل‌کننده صفات کمی (QTL mapping) است. به طور کلی روشهای مورد استفاده در شناسایی و مکان‌یابی جایگاه صفات کمی به دو گروه اصلی نقشه‌یابی پیوستگی (Linkage mapping) و نقشه-یابی ارتباطی (Association mapping) یا نقشه‌یابی عدم تعادل لینکاژی (Linkage disequilibrium mapping) تقسیم می‌شوند. اگرچه نقشه‌یابی ژنهای کنترل‌کننده صفات کمی بر اساس تجزیه پیوستگی برای شناسایی مناطق ژنومی تأثیرگذار روی ساختار کتان مؤثر است (۲۹) ولی محدودیتهایی مانند تعداد کم نوترکیبی و در نتیجه پیوستگی ضعیف بین نشانگر و صفت در جمعیت‌های دو والدی، و در دسترس نبودن جمعیت‌های نقشه‌یابی و احتیاج به زمان زیاد برای تولید آنها، وضوح ژنتیکی نسبتاً پایینی را در این روش فراهم می‌کند (۳۷). امروزه برای غلبه بر این مشکلات از روش تجزیه یا مکان‌یابی ارتباطی به عنوان روش تلفیقی جهت شناسایی ارتباطات بین نشانگر و صفت استفاده می‌شود که به طور گسترده‌ای در ژنتیک انسانی و جانوری که در آنها ایجاد جمعیت‌های در حال تفرق بزرگ غیر ممکن می‌باشد استفاده می‌شود (۱۷). در تجزیه ارتباط، رابطه بین ژنوتیپ و فنوتیپ گیاه مستقیماً برای شناسایی نواحی کروموزومی دخیل در کنترل صفت با استفاده از عدم تعادل پیوستگی موجود در جمعیت‌های طبیعی و مجموعه‌های ژرم‌پلاسم بررسی می‌شود (۷). در اینگونه مطالعات به دلیل اینکه از جوامع طبیعی استفاده می‌شود اولاً تنوع ژنتیکی وسیع‌تری نسبت به جمعیت‌های حاصل از تلاقی دو والدی مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد، ثانیاً از آنجایی که در این نوع نقشه‌یابی تمام رویدادهای میوزی که در طول تاریخچه تکاملی گیاه انباشته شده است در نظر گرفته می‌شود دقت نقشه‌یابی بالاتر است (۳۱).

در پژوهشی سوتو-سردا و همکاران (۲۰۱۴ b) برای شناسایی QTLهای مؤثر در محتوای روغن و اسیدهای چرب کتان، جمعیتی شامل ۳۹۰ ژنوتیپ کتان کانادایی را با

REMAP می‌باشد. شناسایی مکانهای ژنی کنترل‌کننده صفات می‌تواند به اصلاح‌گران در پیشبرد مؤثر برنامه‌های گزینشی در اصلاح ارقام با پتانسیل عملکرد بالا کمک شایانی نماید.

مواد و روشها

مواد گیاهی و ارزیابی فنوتیپی: در این مطالعه ۸۰ فرد متعلق به ۹ جمعیت کتان زراعی (جدول ۱) بر پایه طرح بلوکهای کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی در ۳ تکرار روی خطوطی به طول دو متر کشت شده و ۲۰ صفت زراعی-مورفولوژیک یادداشت گردید. صفات مورد مطالعه شامل ارتفاع بوته (سانتیمتر)، وزن ساقه اصلی (گرم)، وزن شاخه فرعی (گرم)، تعداد شاخه‌های اولیه، تعداد شاخه‌های ثانویه، تعداد کپسول ساقه اصلی، تعداد کپسول ساقه فرعی، وزن کپسول ساقه اصلی (گرم)، وزن کپسول ساقه فرعی (گرم)، وزن برگ (گرم)، وزن هزار دانه (گرم)، عملکرد (کیلوگرم/هکتار)، عملکرد بیولوژیکی (کیلوگرم در هکتار)، شاخص برداشت، روز از کاشت تا سبز شدن، روز از کاشت تا گلدهی، روز از کاشت تا کپسول‌دهی، درصد روغن، درصد پروتئین و درصد نیتروژن بود (۳۰).

استفاده از ۴۶۴ نشانگر SSR در سه سال و در شش محیط مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق نه QTL برای صفت محتوای روغن شناسایی شد، که ۵۸ درصد از اللهای QTL در ارقام کانادایی اختصاصی بودند (۲۹). در مطالعه-ای دیگر تجزیه ارتباط نه صفت زراعی با ۱۱۲ نشانگر SSR در ۵۳۲ ژنوتیپ کتان کانادایی نشان داد که برخی از نشانگرها با بیش از یک صفت در ارتباط هستند (۳۰). گلشن و همکاران (۱۳۹۶) به منظور مطالعه ارتباط ۱۳ آغازگر چند شکل RAPD (آغازگرهای سری OPA، OPB و OPD) با ۱۳ صفت مورفولوژیکی کتان زراعی از تجزیه رگرسیون گام به گام استفاده نمودند. نتایج آنها نشان داد که هر یک از نشانگرهای OPA-06 و OPB-05 با هشت صفت مورد بررسی رابطه معنی‌داری دارند و ضریب تبیین مربوط به این دو نشانگر در حدود ۰/۹۸ بود. سایر صفات نیز با حداقل یک و حداکثر پنج نشانگر (ضریب تبیین حدود ۰/۴۵ الی ۰/۹۹) ارتباط معنی‌داری نشان دادند (۳).

علی‌رغم اهمیت اقتصادی کتان در ایران، در زمینه شناسایی و مکان‌یابی ژنهای کنترل‌کننده صفات مهم در این گیاه تحقیقات زیادی صورت نگرفته است. هدف از این تحقیق، تجزیه ارتباط برای صفات زراعی-مورفولوژیکی در کتان زراعی با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزنی IRAP و

جدول ۱- محل جمع‌آوری، کد جمعیتها، تعداد افراد هر جمعیت و اطلاعات جغرافیایی جمعیت‌های کتان مورد استفاده در این مطالعه

کد جمعیتها	محل جمع‌آوری	تعداد افراد هر جمعیت	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا
TN97-33	زابل	۱۰	۳۱° ۱'	۶۱° ۳۰'	۴۸۳
TN97-55	بناب	۱۰	۳۷° ۲۰'	۴۶° ۳'	۱۲۸۸
TN97-92	شاهیندژ	۱۰	۳۶° ۴۰'	۴۶° ۳۴'	۱۳۷۰
TN97-106	مشکین‌شهر	۱۰	۳۸° ۲۳'	۴۷° ۴۰'	۱۴۲۲
TN97-246	اراک	۸	۳۴° ۵'	۴۹° ۴۱'	۱۷۴۸
TN97-273	اصفهان	۹	۳۲° ۳۹'	۵۱° ۴۰'	۱۵۷۹
TN97-27442	زنجان	۹	۳۶° ۴۰'	۴۸° ۲۸'	۱۶۴۴
TN97-27819	اردبیل	۷	۳۸° ۱۵'	۴۸° ۱۶'	۱۳۴۹
TN97-907A	کرج	۷	۳۵° ۵۰'	۵۰° ۵۶'	۱۳۰۱

استخراج شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز یک درصد و اسپکتوفتومتری (Bio-

ارزیابی ژنتیکی: DNA ژنومی نمونه‌های گیاهی به روش CTAB (۱۵) در پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه

سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه شامل ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۰ ثانیه در ۵۵ درجه سانتی‌گراد، دو دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۸ درصد و بافر TBE نیم برابر در ولتاژ ۸۰ به مدت ۳ ساعت انجام شد. برای رنگ‌آمیزی ژلها از اتیدیوم بروماید استفاده شد.

ارزیابی چندشکلی ادغامی و ثبت ژنوتیپ در افراد مورد مطالعه استفاده شد (جدول ۲). تکثیر قطعات DNA در یک واکنش ۲۰ میکرولیتری حاوی بافر PCR ده برابر، ۰/۲ میکرومولار dNTP، ۱/۵ میلی مولار MgCl₂، ۱۰ پیکومول آغازگر، ۰/۵ واحد آنزیم Taq polymerase و ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی در دستگاه ترموسایکلر اپندورف صورت گرفت. الگوی دمایی واکنشهای PCR شامل واسرشت

جدول ۲- توالی آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه (اسمایکل و همکاران، ۲۰۱۱) (۲۶)

آغازگر	توالی (5'-3')	آغازگر	توالی (5'-3')
LTR1833	CTTGCTGGAAAGTGTGTGAGAGG	UBC443	ACACACACACACACACT
LTR1854	GCATCAGCCTGGACCAGTCCTCGTCC	UBC815	CTCTCTCTCTCTCTTT
LTR1868	CACTTCAAATTTTGGCAGCAGCGGATC	UBC825	ACACACACACACACT
LTR1886	ATTCTCGTCCGCTGCGCCCTACA	UBC826	ACACACACACACACC
A13	GTGTGTGTGTGTCC	UBC848	CACACACACACACARG
UBC425	GAGAGAGAGAGACC	UBC855	ACACACACACACACYT

R: پورین (A/G)، Y: پیریمیدین (C/T)

R: purine (A/G), Y: pyrimidine (C/T)

بررسی در سطح معنی‌دار یک درصد مشخص شد. در مدل MLM علاوه بر ساختار جمعیت (ماتریس Q)، روابط خویشاوندی بین افراد جمعیت (ماتریس K) نیز در تجزیه ارتباط به عنوان متغیر کمکی در نظر گرفته می‌شود و بنابراین ارتباطات و پیوستگیهای کاذب بین نشانگر و صفت به حداقل می‌رسد (۳۴ و ۳۶).

نتایج

ساختار ژنتیکی جمعیت: چهار آغازگر منفرد، سه ترکیب آغازگری IRAP و ۱۳ ترکیب آغازگری REMAP الگوی بانندی چندشکل و قابل امتیازدهی تولید کردند (شکل ۱). در کل ۲۱۰ مکان تکثیر شد که از این تعداد، ۱۱۹ مکان (۵۶/۶۷ درصد) چند شکل بودند. مهمترین محدودیت جهت استفاده از تجزیه ارتباط در گیاهان زراعی، ناشناخته بودن ساختار جمعیت و اختلاط جمعیت به علت فاکتورهایی همانند اهلی کردن و سازگاری جمعیت می‌باشد

تجزیه‌های آماری: باندهای حاصل از هر دو نشانگر به صورت یک (حضور) و صفر (عدم حضور) امتیازدهی و ماتریس حاصل برای بررسی ساختار جمعیت استفاده شد. ساختار جمعیت و تعداد زیرجمعیت‌های احتمالی بر اساس داده‌های حاصل از تلفیق دو نشانگر با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE 2.3.4 و مدل بی‌زین (۲۱) در حالت Admixture با ۵۰۰۰۰ بار Burn-in و ۵۰۰۰۰ بار تکرار ماتریس سهم عضویت (Q) برآورد شد. همچنین میانگین شاخص تثبیت (Fst) برای زیرگروه‌های احتمالی نیز با استفاده از همین نرم‌افزار برآورد گردید. عدد K بهینه (تعداد زیرجمعیت‌های احتمالی) بر اساس روش Delta K (۱۲) با استفاده از نرم‌افزار STRUCTURE HARVESTER (۱۱) تعیین شد. ماتریس روابط خویشاوندی افراد (ماتریس Kinship) و تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (MLM) با نرم‌افزار TASSEL 3 انجام گرفت (۵) و نشانگرهای پیوسته با صفات مورد

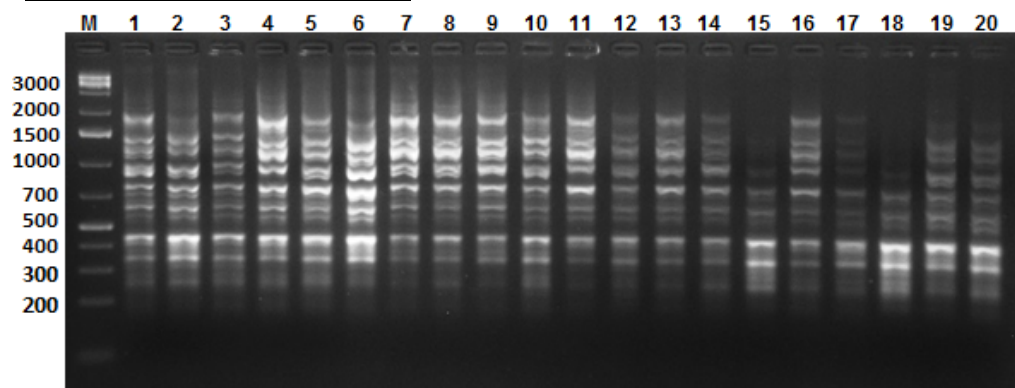
سهم عضویت افراد در این دو گروه (جدول ۳) نیز نشان داد که ژنوتیپها با ضرایب بالایی به یک گروه تعلق دارند.

جدول ۳- ماتریس سهم عضویت جمعیت‌های کتان در هر کلاستر بر

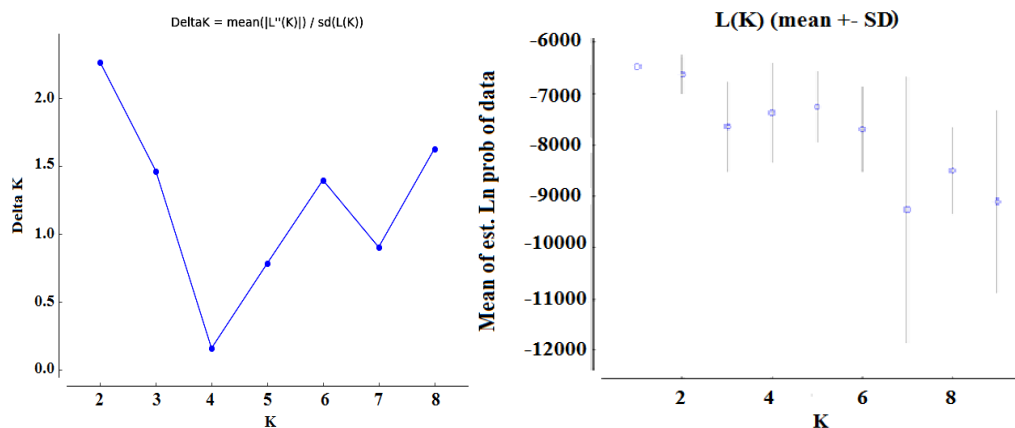
اساس محاسبات نرم‌افزار Structure 2.3.1 در $K=2$

جمعیت	گروه	
	۱	۲
زابل	۰/۷۵	۰/۲۵
بناب	۰/۹۴	۰/۰۶
شاهیندژ	۰/۸۸	۰/۱۲
مشکین‌شهر	۰/۸۰	۰/۲۰
اراک	۰/۸۶	۰/۱۴
اصفهان	۰/۸۶	۰/۱۴
زنجان	۰/۸۷	۰/۱۳
اردبیل	۰/۷۸	۰/۲۳
کرج	۰/۶۳	۰/۳۷

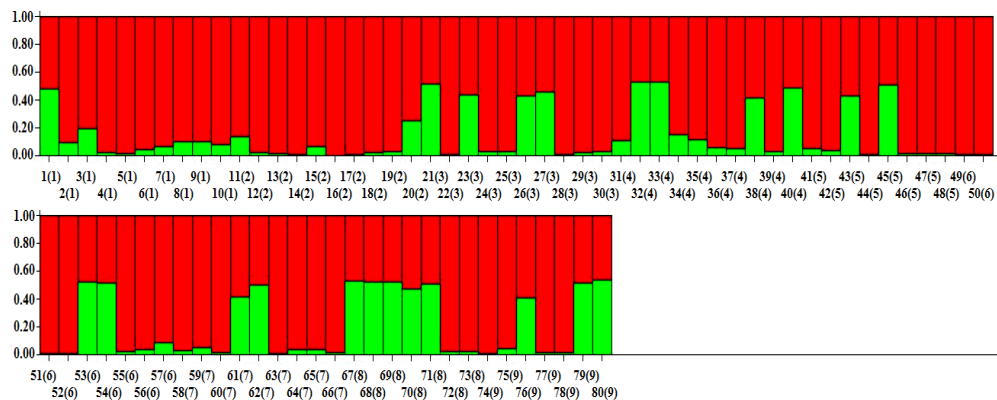
(۳۲). در بررسی ساختار جمعیت بر اساس مقادیر $\ln P(D)$ و ΔK ، دو زیر جمعیت (شکل ۲) در بین ۸۰ فرد مشخص و مقدار $K=2$ مناسب‌ترین عدد برای محاسبه متوسط شاخص تثبیت برای هر گروه برآورد شد. در بارپلات ارائه شده، محور افقی مربوط به افراد و محور عمودی سهم تعلق افراد به هر گروه را نشان می‌دهد (شکل ۳). همچنین در این پلات هر گروه با رنگی متمایز مشخص شده است که دو رنگ مجزا از هم برای هر فرد نشان دهنده تعلق آن فرد به یکی از دو گروه یا هر دو گروه می‌باشد. متوسط شاخص تثبیت برای گروه‌های احتمالی I و II به ترتیب ۰/۲۵ و ۰/۱۲ بود. در هر دو گروه مقادیر متوسط F_{st} نسبتاً بالا بود که نشان‌دهنده متمایز بودن ژنوتیپهای مورد مطالعه در دو گروه احتمالی است. ماتریس



شکل ۱- الگوی بانندی مربوط به آغازگر منفرد LTR1854. M: نشانگر وزن مولکولی بر حسب bp، اندازه باندها بر حسب جفت باز می‌باشد، ۱۰ نمونه اول از سمت چپ مربوط به جمعیت شاهیندژ و ۱۰ نمونه دوم مربوط به جمعیت زابل می‌باشد.



شکل ۲- نمودارهای دو سویه برای تعیین تعداد مناسب زیر جمعیت در ژنوتیپهای کتان زراعی مورد مطالعه ($K=2$) بر اساس نشانگرهای رتروترانسپوزونی IRAP و REMAP با استفاده از نرم‌افزار Structure 2.3.1



شکل ۳- تجزیه کلاستر مبتنی بر مدل بی‌زیان (Bayesian) برای ۸۰ فرد کتان مورد مطالعه بر اساس ۲۰ آغازگر IRAP و REMAP ($K=2$). هر رنگ یک زیر جمعیت یا کلاستر را نشان می‌دهد. اعداد روی محور افقی و عمودی به ترتیب شماره افراد و ضریب تعلق هر فرد به هر کلاستر را نشان می‌دهد.

تجزیه ارتباط: در این مطالعه برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مورد مطالعه و حذف پیوستگیهای دروغین نشانگر-صفت از روش MLM استفاده شد. از ۲۱۰ نشانگر تکثیری، ۲۱ نشانگر (۱۳ نشانگر REMAP و هشت نشانگر IRAP) با ۱۱ صفت پیوستگی معنی داری ($P \leq 0.01$) نشان دادند (جدول ۴).

جدول ۴- نشانگرهای پیوسته با صفات مورد مطالعه در ۸۰ فرد کتان

R^2	P-value	نوع مارکر	مکان	صفت
۰/۰۹۵	۰/۰۰۹	REMAP	LTR1868-UBC848-4	وزن برگ
۰/۰۹۷	۰/۰۰۹	REMAP	LTR1868-UBC848-6	
۰/۱۳۳	۰/۰۰۱	REMAP	LTR1886-A13-8	
۰/۱۸۳	۰/۰۰۰۲	REMAP	LTR1886-A13-11	شاخص برداشت
۰/۱۰۰	۰/۰۰۶	IRAP	LTR1833-LTR1868-3	
۰/۱۱۷	۰/۰۰۴	IRAP	LTR1854-LTR1868-9	
۰/۰۹۵	۰/۰۰۷	REMAP	LTR1868-A13-9	درجه روز تا گلدهی
۰/۱۱۱	۰/۰۰۳	REMAP	LTR1886-UBC425-5	
۰/۱۰۲	۰/۰۰۵	REMAP	LTR1854-UBC848-4	
۰/۱۵۱	۰/۰۰۰۸	REMAP	LTR1854-A13-4	درصد پروتئین (%)
۰/۱۰۰	۰/۰۰۶	IRAP	LTR1833-LTR1868-3	
۰/۱۱۶	۰/۰۰۳	REMAP	LTR1868-UBC826-10	
۰/۱۰۰	۰/۰۰۶	IRAP	LTR1833-LTR1868-3	درصد نیتروژن (%)
۰/۱۱۶	۰/۰۰۳	REMAP	LTR1868-UBC826-10	
۰/۰۹۷	۰/۰۰۷	IRAP	LTR1868-LTR1886-7	
۰/۲۳۷	۰/۰۰۰۰۵	REMAP	LTR1854-UBC443-4	وزن کپسول ساقه اصلی
۰/۰۹۸	۰/۰۰۷	IRAP	LTR1854-4	عملکرد بیولوژیکی
۰/۰۹۰	۰/۰۰۸	IRAP	LTR1854-LTR1868-13	وزن شاخه فرعی
۰/۱۰۶	۰/۰۰۵	REMAP	LTR1854-UBC443-3	تعداد کپسول ساقه اصلی
۰/۰۹۶	۰/۰۰۷	IRAP	LTR1886-3	وزن کپسول ساقه فرعی
۰/۲۰۸	۰/۰۰۰۱	REMAP	LTR1854-UBC443-5	درجه روز تا کپسول‌دهی

(۲۶). در مطالعه ملنیکوا و همکاران (۲۰۱۴)، از بین آغازگرهای مورد مطالعه دو آغازگر LTR1845 و LTR1899 با فعالیت ادغامی بالا به عنوان آغازگرهای منحصر به فرد شناخته شده و برای بررسی تنوع ژنتیکی واریته‌های کتان مورد استفاده قرار گرفتند (۲۰).

ساختار ژنتیکی جمعیت نشان‌دهنده اثر متقابل بین گونه‌ها با توجه به تاریخ تکامل طولانی مدت، جهش و نوترکیبی، رانده‌شدگی ژنتیکی، سیستم تولید مثل، جریان ژنی و انتخاب طبیعی می‌باشد (۲۵). بنابراین ارزیابی ساختار ژنتیکی پیش نیاز حفاظت و استفاده کارآمد از ژرم‌پلاسم در دسترس برای برنامه‌های اصلاحی می‌باشد (۱۹). همچنین در مطالعات تجزیه ارتباط در حالت ایده‌آل نباید ساختاری در جمعیت مورد مطالعه وجود داشته باشد، یعنی جمعیت نباید خود به لحاظ ساختاری به زیر گروه‌ها تقسیم شود، زیرا وجود ساختار در جمعیت می‌تواند عامل بازدارنده در جهت دستیابی به نتایج قابل اعتماد باشد. در صورتی که اثر ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی در تجزیه ارتباط در نظر گرفته نشوند، احتمال حصول نتایج مثبت کاذب در مطالعه وجود خواهد داشت (۶). بنابراین آگاهی از ساختار جمعیت به عنوان یک پیش‌نیاز در نقشه‌یابی ارتباطی می‌تواند به منظور اجتناب از ارتباطات دروغین بین نشانگرها و صفات استفاده شود (۲۲). به همین منظور، در این تحقیق ساختار ژنتیکی جمعیت و تعداد مناسب زیر جمعیتها بر اساس روش بیزین در نرم‌افزار Structure برآورد شد تا به عنوان کواریت در تجزیه ارتباط در نظر گرفته شود. بر اساس نتایج حاصل، دو زیرجمعیت احتمالی در ژرم‌پلاسم مورد مطالعه شناسایی شد (شکل ۲) که به عنوان K بهینه در تخمین ساختار جمعیت و ماتریس سهم عضویت افراد در هر کلاستر (ماتریس Q) در نظر گرفته شد. در گروه اول متوسط شاخص تثبیت بیش از ۰/۲۱ بود که نشان‌دهنده تمایز نسبتاً بالا و جریان ژنی نسبتاً پایین بین جمعیتها می‌باشد (۸).

مقدار شاخص R^2 (ضریب تغییرات فنوتیپی توجیه شده) از ۰/۰۹۰ (LTR1854-LTR1868-13) تا ۰/۲۳ (LTR1854-LTR1843-4) متغیر بود. مقدار احتمال (P -value) از ۰/۰۰۰۵۰۹ (LTR1854-UBC443) تا ۰/۰۰۹ (LTR1868-UBC848-6 و LTR1868-UBC848-4) متغیر بود. تعداد چهار مکان پیوسته با صفت وزن برگ، سه مکان پیوسته با شاخص برداشت، سه مکان پیوسته با درجه روز تا گلدهی، دو مکان پیوسته با وزن کپسول ساقه اصلی، دو مکان پیوسته با درصد پروتئین، دو مکان پیوسته با درصد نیتروژن، یک مکان پیوسته با عملکرد بیولوژیکی، یک مکان پیوسته با وزن شاخه فرعی، یک مکان پیوسته با تعداد کپسول ساقه اصلی، یک مکان پیوسته با وزن کپسول ساقه فرعی و یک مکان پیوسته با درجه روز تا کپسول‌دهی شناسایی شد.

بحث

با توجه به اینکه در تجزیه ارتباط و شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات، یکی از ارکان اساسی بررسی ساختار جمعیت است، بنابراین ابتدا ساختار جمعیت مورد مطالعه با استفاده از هفت آغازگر IRAP و ۱۳ آغازگر REMAP مورد بررسی قرار گرفت. این آغازگرها در کل ۱۱۹ مکان ژنومی را تکثیر نمودند که ۵۶/۶۷ درصد مکانهای تکثیری دارای چندشکلی بودند. چندشکلی نسبتاً بالای حاصل در پژوهش حاضر را می‌توان به فعالیت بالای رتروترانسپوزونها در ژنوم کتان و درج آنها در نواحی یوکروماتینی و ژنی و وسعت مناطق جغرافیایی نمونه-برداری شده نسبت داد (۲۶). اسمایکل و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از روش ipBS حدود ۹۰ خانواده رتروترانسپوزونی LTR دار کتان (*L. usitatissimum*) شناسایی و گزارش نمودند که این رتروترانسپوزونها در گونه‌های مختلف جنس لینوم (*Linum*) فعال بوده و چندشکلی قابل توجهی نشان می‌دهند و می‌توان از آنها به عنوان نشانگرهای مولکولی در این جنس استفاده نمود

و مطمئن بوده و نشانگرهای حاصل از این مطالعات می‌تواند در برنامه‌های گزینش به کمک نشانگر و تهیه جمعیت‌های نقشه‌یابی استفاده شوند (۱). هوشیار دل و همکاران (۱۳۹۴) جهت شناسایی مکانهای ژنی کنترل‌کننده زمان گلدهی در جمعیت ژنتیکی شامل ۱۰۰ فرد F_2 حاصل از تلاقی ژنوتیپ توتون شرقی SPT406 (والد پدری) و Basma seres 31 (والد مادری) با استفاده از روشهای مکان‌یابی فاصله‌ای ساده و مرکب به ترتیب ۹ و ۲ QTL برای صفت مورد مطالعه شناسایی کردند (۴). در مطالعه حاضر از روش MLM جهت شناسایی مکانهای پیوسته با ژنهای کنترل‌کننده صفات زراعی-مورفولوژیک استفاده شد که در نهایت ۲۱ مکان پیوسته با ۲۰ صفت شناسایی شد. سوتو-سردا و همکاران (۲۰۱۴ a) با استفاده از نشانگرهای SSR، نه نشانگر را در Pale flax و پنج نشانگر را در کتان زراعی شناسایی نمودند که رابطه معنی‌داری با صفات مختلف زراعی-مورفولوژیک نشان می‌دادند (۲۸). بیشترین تعداد مکان پیوسته (چهار مکان) برای صفت وزن برگ و کمترین تعداد (یک مکان) برای صفات عملکرد بیولوژیکی، وزن شاخه فرعی، تعداد کپسول ساقه اصلی، وزن کپسول ساقه فرعی و درجه روز تا کپسول‌دهی شناسایی شد (جدول ۴). نتایج حاصله با نتایج سوتو-سردا و همکاران (۲۰۱۴ c) که وزن هزار دانه (با پنج مکان) بیشترین تعداد مکان پیوسته را به خود اختصاص داد مغایر بود (۳۰). این تفاوت ممکن است به دلیل نوع نشانگرهای مورد استفاده و اندازه جمعیت در هر تحقیق باشد. مکان LTR1854-UBC443-4 (مرتبط با صفت وزن کپسول ساقه اصلی) بیشترین مقدار ضریب تغییرات فنوتیپی توجیه شده (R^2) را داشت. از این رو می‌توان گفت که ۲۳ درصد از تنوع فنوتیپی صفت وزن کپسول ساقه اصلی توسط این مکان توجیه می‌شود. کم بودن مقدار ضریب تبیین (R^2) برای اکثر نشانگرهای مرتبط مؤید ماهیت توارث کمی و چندژنی صفات مورد ارزیابی می‌باشد و نشان‌دهنده توجیه بخش کمی از تغییرات این صفات از طریق مکانهای ژنی

نقشه‌یابی ارتباطی به منظور تشخیص و شناسایی ارتباط بین نشانگر-صفت نیازمند وجود تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بالا در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد (۳۷). وجود ساختار و روابط خویشاوندی در جمعیت مورد مطالعه منجر به ایجاد ارتباط کاذب نشانگر-صفت در نقشه‌یابی ارتباطی می‌شود (۲). مدل‌های مختلفی برای کاهش نتایج مثبت کاذب در تجزیه ارتباط مورد استفاده قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان به ماتریس K در داخل مدل K و ماتریس Q در داخل مدل Q اشاره نمود. مدل دیگر Q+K می‌باشد که ترکیبی از دو مدل قبلی است و تأثیر آن در کاهش نتایج مثبت کاذب بیشتر از دو مدل Q و K می‌باشد (۳۳).

در مدل خطی عمومی (GLM) تنها ساختار جمعیت، ولی در مدل خطی مخلوط (MLM) علاوه بر ماتریس ساختار جمعیت (ماتریس Q)، ماتریس روابط خویشاوندی (ماتریس K) بین افراد جمعیت نیز در تجزیه ارتباط به-عنوان کوواریت در نظر گرفته می‌شوند و بنابراین ارتباطات و پیوستگیهای دروغین بین نشانگر و صفت به حداقل می‌رسد. همچنین میزان تأثیر نشانگرها به وسیله ضریب Benferroni تصحیح گردید که این تصحیح نیز باعث کاهش ارتباطات دروغین نشانگر صفت می‌شود (۳۵). با کاربرد مدل MLM در کتان نیز، بهبود معنی‌داری در کاهش نتایج مثبت دروغین در بررسی صفاتی مانند وزن هزار دانه، ارتفاع گیاه، شروع گلدهی، پایان گلدهی و شاخه‌دهی گیاه در مقایسه با مدل‌های خطی منفرد K یا Q نشان داده شده است (۳۰). سوتو-سردا و همکاران (۲۰۱۳) در مکان‌یابی ارتباطی در ژرم‌پلاسم کتان روغنی و فیبری اظهار داشتند که استفاده از مدل MLM به کاهش نتایج مثبت دروغین (ارتباطات کاذب نشانگر-صفت) و اریبی کمتر نتایج کمک زیادی می‌کند (۲۷). عبدالهی مندولکانی و عزیزی (۱۳۹۳) برای شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مورفولوژیک در یونجه از تجزیه ارتباط مبتنی بر نشانگرهای ISSR استفاده نمودند و بیان کردند که این روش برای شناسایی مکانهای آگاهی بخش مرتبط با صفات مورفولوژیک مفید

عملکرد بذر و عملکرد روغن کتان بهره جست. عملکرد روغن از ترکیب عملکرد بذر و مقدار روغن به دست می‌آید. بنابراین کاهش عملکرد دانه باعث کاهش عملکرد روغن می‌شود (۳۰). نتایج این تحقیق می‌تواند در انتخاب غیر مستقیم صفات از طریق نشانگرهای مرتبط و پیوسته با آنها مفید باشد. البته برای اطمینان از وجود ارتباط پیوستگی بین نشانگرها و صفات مختلف زراعی-مورفولوژیک نیاز به تهیه جمعیت‌های تفرق مانند F_2 ، RIL و DH می‌باشد تا بر اساس این جمعیت‌ها نقشه‌های پیوستگی تهیه و سپس محل مکانهای کنترل‌کننده این صفات روی کروموزومها مشخص شود (۲۴). نتایج مطالعه حاضر بیانگر کارایی مدل MLM در شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مهم مرتبط با عملکرد دانه در ژنوتیپهای کتان زراعی می‌باشد. البته بهتر است جهت افزایش کارایی شناسایی نشانگرهای مرتبط، از نشانگرهای بیشتر و مؤثرتر مانند نشانگرهای SNP و SSR در مطالعات تجزیه ارتباط استفاده شود. همچنین لازم است نشانگرهای شناسایی شده در چنین مطالعاتی در جمعیت‌های بزرگ با تنوع ژنتیکی بالا مورد بررسی قرار گیرند تا از ارتباط آنها با صفات مورد مطالعه اطمینان حاصل شود و بدین ترتیب کارایی کاربرد این نشانگرها در برنامه‌های به‌نژادی کتان زراعی افزایش یابد.

شناسایی شده و بنابراین تأثیر بیشتر اثر محیط روی تغییرات این صفات می‌باشد. در این تحقیق، برای برخی از صفات مکانهای مشترک شناسایی شد. به عنوان مثال مکان LTR1833-LTR1868-3 با سه صفت زراعی-مورفولوژیک مورد مطالعه پیوستگی نشان داد (جدول ۴). شناسایی مکانهای مشترک می‌تواند ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی دخیل در کنترل این صفات باشد (۱۶). وجود چنین حالتی کارایی گزینش بر اساس نشانگر را افزایش داده و موجب می‌شود به دنبال اصلاح یک صفت در یک گیاه، احتمال افزایش یا کاهش ارزش صفات همبسته دیگر نیز وجود داشته باشد (۱۴). بهبود عملکرد کتان از طریق اجزاء عملکرد و صفات وابسته همانند زمان گلدهی می‌تواند مفید باشد. از طرف دیگر عملکرد بذر به عنوان صفت اقتصادی مهم در این گیاه به شمار می‌آید که عوامل زیادی همچون ژنوتیپ و محیط روی آن تأثیر می‌گذارند (۳۰). بنابراین از مکانهای LTR1833-LTR1868-3، LTR1854-LTR1868-9، LTR1868-A13-9، LTR1868-LTR1886-7، LTR1854-، UBC-4 و LTR1854-4 در صورت تأیید می‌توان برای گزینش افراد جهت افزایش شاخص برداشت، وزن کپسول ساقه اصلی و عملکرد بیولوژیکی و در نتیجه افزایش

منابع

- ۱-عبداللهی مندولکانی، ب. و عزیزی، ح. ۱۳۹۳. شناسایی نشانگرهای ISSR پیوسته با صفات مورفولوژیک در جمعیت‌های یونجه زراعی (*Medicago sativa* L.). مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۲۷(۲): ۲۶۰-۲۶۸.
- ۲-عطایی، ر.، محمدی، و.، طالعی، ع. و نقوی، م. ۱۳۹۲. نقشه‌یابی ارتباطی صفات ریشه در جو. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. ۴۴(۲): ۳۵۷-۳۴۷.
- ۳-گلشن، م.، رحمانی، ف. و عباسی هولاسو، ح. ۱۳۹۶. شناسایی نشانگر RAPD پیوسته با صفات مورفولوژیک و تعیین ساختار جمعیت در ارقام کتان زراعی (*Linum usitatissimum* L.). پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی. ۲۱(۹): ۱۶۵-۱۵۶.
- ۴-هوشیاردل، ف.، درویش‌زاده، ر. و حاتمی ملکی، ح. ۱۳۹۴. شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده زمان گلدهی توتون تیپ شرقی. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۲۸(۳): ۴۲۸-۴۴۷.
- 5-Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y. and Buckler, E.S. 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23: 2633-2635.
- 6-Breseghele, F. and Sorrells, M.E. 2006. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, 172: 1165-1177.
- 7-Buckler, E.S. and Thornsberry, J.M. 2002. Plant molecular diversity and applications to genomics. *Current Opinion in Plant Biology*, 5: 107-111.

- 8-Carvalho, A., Guedes-Pinto, H. and Lima Brito, J.E. 2011. Genetic diversity in old Portuguese durum wheat cultivars assessed by retrotransposon-based markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 30: 578-589.
- 9-Cloutier, S., Niu, Z., Datla, R. and Duguid, S. 2009. Development and analysis of EST-SSRs for flax (*Linum usitatissimum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 119: 53-63.
- 10-Cloutier, S., Miranda, E., Ward, K., Radovanovic, N., Reimer, E., Walichnowski, A., Datla, R., Rowland, G., Duguid, S. and Ragupathy, R. 2012. Simple sequence repeat marker development from bacterial artificial chromosome end sequences and expressed sequence tags of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 125:685-694.
- 11-Earl, D.A., Louie, K.D., Bardeleben, C., Swift, C.C. and Jacobs, D.K. 2010. Rangewide microsatellite phylogeography of the endangered tidewater goby, *Eucyclogobius newberryi* (Teleostei: Gobiidae), a genetically subdivided coastal fish with limited marine dispersal. *Conservation Genetics*, 11: 103-114.
- 12-Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.
- 13-Green, A.G., Chen, Y., Singh, S.P. and Dribnenki, J.C.P. 2008. Flax. In: Kole C, Hall TC, eds. *Compendium of Transgenic Crop Plants: Transgenic Oilseed Crops*. Blackwell Publishing Ltd., Oxford. pp. 199-226.
- 14-Hittalmani, S., Huang, N., Courtois, B., Venuprasad, R., Shashidhar, H.E., Zhuang, J.Y., Zheng, K.L., Liu, G.F., Wang, G.C., Sidhu, J.S., Srivantaneeyakul, S., Singh, V.P., Bagali, P.G., Prasanna, H.C., McLaren, G. and Khush, G.S. 2003. Identification of QTL for growth and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 679-90.
- 15-Hosseinzadeh Colagar A., Saadati, M., Zarea, M. and Ahmadi Talei, S. 2010. Genetic variation of the Iranian *Sclerotinia sclerotiorum* isolates by standardizing DNA polymorphic fragments. *Biotechnology (-Pakistan)*, 9(1): 67-72.
- 16-Jun, T.H., Van, K., Kim, M.Y., Lee, H.S. and Walker, D.R. 2008. Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. *Euphytica*, 162: 179-191.
- 17-Karlsson, E.K., Baranowska, I., Wade, C.M., Hillbertz, N.H.C.S. and Zody, M.C. 2007. Efficient mapping of Mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics*, 39: 1321-1328.
- 18-Li, Y., Smulders, M.J.M., Chang, R. and Qiu, L. 2011. Genetic diversity and association mapping in a collection of selected Chinese soybean accessions based on SSR marker analysis. *Conservation Genetics*, 12(5):1145-1157.
- 19-Li, M., Zhao, Z., Miao, X. and Zhou, J. 2014. Genetic diversity and population Structure of Siberia apricot (*Prunus Siberia* L.) in China. *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 377-400.
- 20-Melnikova, N.V., Kudryavtseva, A.V., Zelenin, A.V., Lakunina, V.A., Yurkevich, O.Y., Speranskaya, A.N., Dmitriev, A.A., Krinitsina, A.A., Belenikim, M.S., Uroshlev, L.A., Snezhkina, A.V., Sadritdinova, A.F., Koroban, N.V., Amosova, A.V., Samatadze, T.E., Guzenko, E.V., Lemeshev, V.A., Savilova, A.M., Rachinskaya, O.A., Kishlyan, N.V., Rozhmina, T.A., Bolsheva, N.L. and Muravenko, O.V. 2014. Retrotransposon-based molecular markers for analysis of genetic diversity within the genus *Linum*. *BioMed Research International*, 23:1589.
- 21-Pritchard, J.K., Stephanes, M., Rosenberg, N.A. and Donnelly, P. 2000. Association mapping in structured populations. *American Journal of Human Genetics*, 67: 170-181.
- 22-Pritchard, J.K. and Donnelly, P. 2001. Casecontrol studies of association in structured or admixed populations. *Theoretical Population Biology*, 60: 227-237.
- 23-Ragupathy, R., Rathinavelu, R. and Cloutier, S. 2011. Physical mapping and BAC-end sequence analysis provide initial insights into the flax (*Linum usitatissimum* L.) genome. *BMC Genomics*, 12(1):217. doi: 10.1186/1471-2164-12-217.
- 24-Russo, M.A., Ficco, D.B.M., Marone, D., De Vita, P., Vallega, V., Pasam, R.K., Sharma, R., Malosetti, M., van Eeuwijk, F.A. and Haseneyer, G. 2012. Genome-wide association studies for agronomical traits in a worldwide spring barley collection. *BMC Plant Biology*, 12: 16.
- 25-Schaal, B.A., Hayworth, D.A., Olsen, K.M., Rauscher, J.T. and Smith, W.A. 1998. Phylogeographic studies in plants: Problems and prospects. *Molecular Ecology*, 7(4): 465-474.
- 26-Smykal, P., Bacova-Kertesova, N., Kalendar, R., Corander, J., Schlman, A.H. and Pavelek, M. 2011. Genetic diversity of cultivated flax

- (*Linum usitatissimum* L.) germplasm assessed by retrotransposon-based markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 122: 1385-1397.
- 27-Soto-Cerda, B.J., Diederichsen, A., Ragupathy, R. and Cloutier, S. 2013. Genetic characterization of a core collection of flax (*Linum usitatissimum* L.) suitable for association mapping studies and evidence of divergent selection between fiber and linseed types. *BMC Plant Biology*, 13:78. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-78>.
- 28-Soto-Cerda, B.J., Diederichsen, A., Duguid, S., Booker, H., Rowland, G. and Cloutier, S. 2014a. The potential of pale flax as a source of useful genetic variation for cultivated flax revealed through molecular diversity and association analysis. *Molecular Breeding*, 34(4): 2091-2107.
- 29-Soto-Cerda, B.J., Duguid, S., Booker, H., Rowland, G., Diederichsen, A. and Cloutier, S. 2014b. Association mapping of seed quality traits using the Canadian flax (*Linum usitatissimum* L.) core collection. *Theoretical and Applied Genetics*, 127(4): 881-896.
- 30-Soto-Cerda, B.J., Duguid, S., Booker, H., Rowland, G., Diederichsen, A. and Cloutier, S. 2014c. Genomic regions underlying agronomic traits in linseed (*Linum usitatissimum* L.) as revealed by association mapping. *Journal of Integrative Plant Biology*, 56: 75-87.
- 31-Tommasini, L., Schnurbusch, T., Fossati, D., Mascher, F. and Keller, B. 2007. Association mapping of *Stagonospora nodorum* blotch resistance in modern European winter wheat varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 115: 697-708.
- 32-Wright, S.I. and Gaut, B.S. 2005. Molecular population genetics and the search for adaptive evolution in plants. *Molecular Biology and Evolution*, 22:506-519.
- 33-Yan, J., Shan, T., Warburton, M., Buckler, E., McMullen, M. and Crouch, J. 2009. Genetic characterization and linkage disequilibrium estimation of a global maize collection using SNP markers. *PLoS ONE*, 4: 8451.
- 34-Yu, J., Pressoir, G., Briggs, W.H., Vroh, B.I., Yamasaki, M. and Doebley, J.F. 2006. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *National Genetics*, 38: 203-208.
- 35-Zhang, Z., Ersoz, E., Lai, C.Q., Todhunter, R.J., Tiwari, H.K., Gore, M.A., Bradbury, P.J., Yu, J., Arnett, D.K., Ordovas, J.M. and Buckler, E.S. 2010. Mixed linear model approach adapted for genomewide association studies. *Nature Genetics*, 24: 355-362.
- 36-Zhang, Q., Wu, C., Ren, F., Li, Y. and Zhang, C. 2012. Association analysis of important agronomical traits of maize inbred lines with SSRs. *Australian Journal of Crop Science* 6(6): 1131-1138.
- 37-Zhu, C.M., Gore, E., Buckler, S. and Yu, J. 2008. Status and prospects of association mapping in plants. *The Plant Genome*, 1: 5-20.

Association analysis for yield and plant characteristics in Iranian flax genotypes (*Linum usitatissimum* L.) using IRAP and REMAP markers

Abbasi Holasou H.,¹ Abdollahi Mandoulakani B.² and Hassanzadeh Ghorttapeh A.³

¹ Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, Tabriz University, Tabriz, I.R. of Iran.

² Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran.

³ Seed and Plant Improvement Dept., West Azerbaijan Agricultural, and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, I.R. of Iran.

Abstract

The identification of polymorphic markers associated with various quantitative traits allows us to test their performance for the exploitation of the extensive quantitative variation maintained in gene banks. In the current investigation, 7 IRAP and 13 REMAP primers and mixed linear model (MLM)-based association analysis was used to identify molecular markers associated with 20 agro-morphological traits in cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.). Agro-morphological traits studied, were plant height, primary stem weight, secondary stem weight, number of primary branches, number of secondary branches, number of capsules per primary stem, number of capsules per secondary stem, weight of primary stem capsules, weight of secondary stem capsules, leaf weight, thousand seed weight, grain yield, biological yield, harvest index, days to growing, days to flowering, days to capsuling, oil, protein, and nitrogen percentages. Analysis of population structure revealed two possible subgroups (K=2) in the studied population. Fst mean values of the groups were relatively high, indicating remarkable differentiation among the groups. Association analysis using mixed linear model (MLM) identified 21 loci significantly ($P < 0.01$) associated with agro-morphological traits. The maximum number of associated loci was identified for leaf weight. LTR1833-LTR1868-3 marker was associated with harvest index, protein and nitrogen percentage. The results of the current study could be as a starting point for using MAS in flax breeding programs.

Key words: Bayesian analysis, Population structure, Seed yield, Flax, Mixed linear model