"مجله علوم زراعی ایران"
جلد نوزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۶

ارزیابی علل بروز چند شاخگی در لاین مادری هیبرید آذرگل آفتابگردان (*Helianthus annus* L.)

Assessment of branching phenomenon in the female parental inbred line of hybrid sunflower (*Helianthus annus* L.) cv. Azargol

سیده منیره سجادی[۱]، مسعود سلطانی نجف آبادی[۲] و بهرام ملکی زنجانی[۳]

چکیده

سجادی. س.م.، م. سلطانی نجف آبادی و ب. ملکی زنجانی. ۱۳۹۶. ارزیابی علل بروز چند شاخگی در لاین مادری هیبرید آذرگل آفتابگردان (*Helianthus annus* L.). **مجله علوم زراعی ایران. ۱۹(۳): ۲۶۹-۲۵۵.**

حفظ خلوص ژنتیکی والدین ارقام هیبرید، از ضرورت‌های تجاری سازی این ارقام است، معهذا تولید فنوتیپ‌های جدید، باعث ایجاد شبهه از بین رفتن خلوص ژنتیکی این والدین شده و تولید بذرهای یکنواخت ارقام هیبرید را با چالش مواجه می‌سازد. بروز انواع چندشاخه در لاین مادری هیبرید آذرگل آفتابگردان از جمله این موارد چالش برانگیز محسوب می‌شود. این آزمایش در چند مرحله شامل ۱- مرحله ژنتیکی مشتمل بر انواع تلاقی‌ها بین بوته‌های تک‌شاخه، دوشاخه و سه‌شاخه (بوته‌های مشکوک) طی سال‌های ۱۳۹۲ تا ۱۳۹٤ در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر انجام شده و نتاج حاصله با والد تک‌شاخه تلاقی برگشتی داده شدند، ۲- مرحله مولکولی که طی آن نشانگرهای مولکولی مربوط به چندشاخگی که قبلاً شناسایی شده بودند روی بوته‌هایی از والد مذکور و نیز ژنوتیپ‌های تک‌شاخه و چندشاخه واقعی آفتابگردان آزمون شدند و ۳- مرحله بیوانفورماتیک که طی آن وجود عناصر سیس مرتبط با پاسخ ژن به عوامل محیطی در پروموتر ژن‌های عامل چندشاخگی که در سایر گونه‌های گیاهی شناسایی شده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه و تحلیل ژنتیکی نشان داد که در تمام تلاقی‌ها، کلیه نتاج (۲۳۹ بوته) تک شاخه بودند. در ارزیابی مولکولی، الگوی نواربندی بوته‌های مشکوک با الگوی نواربندی لاین‌های تک‌شاخه واقعی کاملاً مشابه بود و هر دوی آنها متفاوت از الگوی نواربندی لاین‌های چندشاخه واقعی بودند. در بررسی‌های بیواینفورماتیکی مشخص شد که پروموتر ژن‌های عامل شاخه دهی سایر گونه‌های گیاهی واجد حداقل یک عنصر سیس مرتبط با پاسخ به عوامل محیطی نظیر سرما و خشکی بودند. بر اساس نتایج مراحل مختلف این تحقیق، دلایل کافی جهت دخالت عوامل ژنتیکی در بروز پدیده چندشاخگی در لاین مورد بررسی بدست نیامد.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، چندشاخگی، عناصر سیس و نشانگرهای مولکولی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۱۰ تاریخ پذیرش:۱۹ /۱۳۹۶/۰۷ این مقاله مستخرج از طرح تحقیقاتی شماره ۹۱۲۰۰-۰۳-۰۳-۰۰ مصوب سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی می‌باشد.

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

۲- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (مکاتبه کننده)

(پست الکترونیک: m.soltanioil@yahoo.com)

۳- استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

مقدمه

آفتابگردان زراعی (*Helianthus annuus* L.) پس از سویا (*Glycine max* L.)، کلزا (*Brassica campestris* and *B. napus* L.) و بادام زمینی (*Arachis hypogea* L.)، چهارمین گیاه زراعی یکساله در جهان است که بخاطر روغن خوراکی آن کشت می‌شود (FAO 2014). کشت آفتابگردان عمدتاً به دو صورت؛ کشت ارقام آزاد گرده افشان و کشت ارقام هیبرید صورت می‌گیرد. برای تولید موفقیت‌آمیز یک هیبرید و تداوم کشت آن، یکنواختی هیبرید در درجه اول اهمیت قرار دارد. خلوص ژنتیکی والدین از اصول اولیه و مهم تولید بذور هیبرید می‌باشد. این خلوص باید همواره توسط دارندگان هسته اولیه والدین هیبرید حفظ شود و از سوی نهادهای مسئول کنترل شود. در کشور ایران، موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال متصدی این کنترل می‌باشد.

ارقام آفتابگردان زراعی که به‌منظور استخراج روغن کشت می‌شوند، در طی تکامل و اهلی‌سازی از فرم وحشی چندشاخه و بوته‌ای به فرم تک‌شاخه تبدیل شده‌اند (Mandel *et al.*, 2014). شاخه‌دهی در آفتابگردان وحشی اغلب توسط ژن‌های غالب کنترل می‌شود (Heiser 1954; Shull, 1908). در این خصوص یک تک ژن غالب (*Br*) توسط پوت (Putt, 1940) شناسایی شد. وی دو دهه بعد وجود یک آلل مغلوب b1 در لوکوسی دیگر (غیر از *Br*) را گزارش نمود که کنترل کننده شاخه‌دهی فراوان در آفتابگردان است (Putt, 1964). آلل b1 که مسئول شاخه‌دهی انتهایی است در تولید بذر هیبرید به طور گسترده‌ای به کار گرفته شده است (Fick and Miller 1997). کواچیک و اسکالود (Skaloud and Kovacik, 1990) وجود دو آلل b1 و b2 را در آفتابگردان مورد بررسی قرار دادند که در صورت هموزیگوس مغلوب بودن گیاهان شاخه‌دار را تولید نموده و بوجود آورنده نسبت تفکیک ۷:۹ (بدون شاخه: شاخه دهنده) بودند. این محققان وجود یک کنترل مغلوب الیگوژنتیکی با تأثیر متقابل تکمیلی را پیشنهاد کردند. نتایج تحقیقات دیگری نیز نشان دادند که شاخه‌دهی ساقه توسط آلل‌های نهفته کنترل می‌شود. این آلل‌ها در یک لوکوس قرار دارند و این نشان دهنده وجودیک سری آلل‌های چندگانه است. به نظر می‌رسد که این آلل‌ها موتانت‌هایی از انواع وحشی‌شان هستند (Sanda *et al.*, 1999). بورک و همکاران (Burke *et al.*, 2002) عنوان کردند که اساس ژنتیکی کنترل شاخه‌دهی در آفتابگردان بر وجود چندین لوکوس کنترل کننده صفت کمی (QTL) با اثرات کوچک که در سراسر ژنوم گیاه توزیع شده است، قرار دارد. گزارش شده است که انواع شاخه‌دهی به وجود ژن‌های مختلف (*Br1-Br3*) و تعامل میان آنها بستگی دارد. آلل‌های نهفته (b1-b3) نیز می‌توانند شاخه‌دهی را کنترل کنند. این لوکوس‌ها اغلب وارد لاین‌های برگشت‌دهنده باروری می‌شوند تا این لاین‌ها واجد شاخه‌های فرعی فراوانی شوند (Terzic *et al.*, 2006). تاکنون توالی ژنی و یا اطلاعات مولکولی در خصوص ژن‌های مسئول شاخه‌دهی در آفتابگردان گزارش نشده است. تنها گزارش موجود به استفاده از نشانگر TRAP توسط روجاس- باروس و همکاران (Rojas-Barros *et al.*, 2008) مربوط می‌شود. این محققان با استفاده از هم‌ردیفی توالی ژن‌های عامل چندشاخگی در گیاهان گوناگون نظیر نخود فرنگی، توتون و ذرت، آغازگرهای ثابت طراحی نمودند و سپس در ترکیب با چندین آغازگر تصادفی، موفق به تمایز ژنوتیپ‌های چندشاخه از تک‌شاخه شدند.

تغییر اقلیم که پیامد نخست آن گرم شدن کره زمین است، بر بسیاری از فرایندهای رشد و نموی گیاهان تاثیر می‌گذارد (Franks and Hoffmann, 2012). این اثرات اغلب با اثرات اپی‌ژنتیکی ترکیب شده و باعث بروز تغییرات ناهمسان در ریخته‌های ارثی مشابه می‌شود (Liu, 2013). لاین‌های اینبرد بواسطه چندین نسل متمادی خویش‌آمیزی دچار پس‌روی ناشی از

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

خویش‌آمیزی شده (Fehr *et al*., 1987) و مستعد پاسخ به تغییرات محیطی ناشی از تغییر اقلیم و تغییرات اپی‌ژنتیکی می‌باشند.

نشانگر مولکولی TRAP (Target Region Amplification Polymorphism) زمانی که اطلاعات توالی برای همه گونه‌ها در دسترس نمی‌باشد، نشانگر مناسبی برای شناسایی حضور و یا عدم حضور توالی خاصی در بین گونه‌های مختلف است. در این شرایط، ترکیب یک جفت آغازگر ثابت و تصادفی مورد استفاده قرار می‌گیرد. آغازگر ثابت بر اساس نواحی حفاظت شده ژن مورد نظر بین چندین گونه طراحی می‌شود و آغازگر تصادفی صرفاً برای افزایش امکان اتصال به DNA الگو و بالا بردن احتمال تکثیر به‌همراه آغازگر ثابت به‌کار می‌رود. از این سیستم نشانگری برای شناسایی ژن‌های آنالوگ مقاومت در ژرم‌پلاسم تربچه استفاده شده است (Cheng *et al*., 2013). بعلاوه برای متمایز کردن لاین چند شاخه از تک شاخه در آفتابگردان، سیستم نشانگری TRAP کارآیی خوبی نشان داده است (Rojas-Barros *et al*., 2008).

در سال‌های اخیر وقوع پدیده چندشاخگی در لاین والد مادری هیبرید آذرگل به موضوع چالش برانگیز تولید بذر این هیبرید در کشور تبدیل شده است، به گونه‌ای که تایید مزارع تولید بذر این هیبرید توسط موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال کشور اغلب مقدور نبوده و به احتمال اختلاط ژنتیکی داده شده است. هدف این پژوهش، ارزیابی عوامل بروز چند شاخگی در این لاین آفتابگردان بوده است.

مواد و روش‌ها

ماده ژنتیکی مورد استفاده در این پژوهش، لاین مادری هیبرید آذرگل آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) یعنی A-19 بود. این هیبرید در سال ۱۳۷۱ توسط موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر معرفی شده است. این لاین در زمان معرفی هیبرید مربوطه به صورت تک شاخه (تک طبق) گزارش گردید. علاوه بر لاین یاد شده، سه نوع ماده ژنتیکی دیگر در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند که عبارت بودند از: لاین اینبرد تک‌شاخه A-1221، لاین‌های اینبرد چندشاخه (RF154، R39 و R14)، و تک بوته‌های دو یا سه‌شاخه که در مزرعه تکثیر لاین A-19 مشاهده شدند و به شکل زیر نامگذاری شدند: #۲ (سه‌شاخه)، #۳ (دوشاخه)،#۶ (دوشاخه)،#۷ (دوشاخه)، #۸ (سه‌شناخه)، #۹ (سه‌شاخه)، #۱۳ (بیش از سه‌شاخه) و #۱۶ (دوشاخه) (جدول ۱). از آن‌جا که موضوع اصلی این تحقیق در خصوص بررسی علت چندشاخگی در بوته‌های اخیر بود، در پژوهش حاضر این بوته‌ها در مجموع "بوته‌های مشکوک" نامیده شدند.

این تحقیق در مزرعه تکثیر لاین A-19 موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر در سال ۱۳۹۲ شروع شد. در این مزرعه خطوط نرعقیم (A-line) و نگهدارنده (B-line) مربوط به لاین نرعقیم به نسبت شش خط نرعقیم و دو خط نگهدارنده کاشته شدند و تعدادی از بوته‌های مشکوک در خطوط نرعقیم و نگهدارنده با پوشاندن طبق، نشانه‌گذاری شدند. بوته‌های دوشاخه و سه‌شاخه‌ای که در بین خطوط لاین نگهدارنده دیده شدند به عنوان والد پدری در تلاقی‌ها استفاده شدند (جدول ۱). بذر لاین‌های اینبرد تک‌شاخه A-1221 و لاین‌های اینبرد چندشاخه RF154، R39 و R14 (از مجموعه ژرم‌پلاسم آفتابگردان موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر) در پاییز ۱۳۹۲ در گلخانه کشت شده و از برگ آنها برای تجزیه‌های مولکولی استفاده شد.

نتاج حاصل از تلاقی‌ها در سال دوم (۱۳۹۳) در مزرعه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و نیز در گلخانه‌های موسسه یادشده کشت شده و فنوتیپ آنها از نظر شاخه‌دهی ثبت گردید. با توجه به اینکه همه

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

جدول ۱- مشخصات مواد ژنتیکی آفتابگردان مورد ارزیابی و انواع تلاقی‌های انجام شده

Table1. Characterization of the sunflower genetic materials and the of crosses

والد پدری Paternal line	والد مادری Maternal line	نتاج نسل اول First generation (F_1)	نتاج تلاقی F_1 با والد نگهدارنده تک‌شاخه Progeny of crossing F_1 with single head maintainer parent	اندازه جمعیت نتاج Population size of progenies
تک‌شاخه SH*	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	18
تک‌شاخه SH	#3 (دوشاخه) (TH)3#	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	13
تک‌شاخه SH	#6(TH) (دوشاخه)	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	14
دوشاخه §TH	#6(TH) (دوشاخه)	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	16
دوشاخه TH	#16(TH) (دوشاخه)	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	18
دوشاخه TH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	17
دوشاخه TH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	22
سه‌شاخه £ThH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	14
سه‌شاخه ThH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	21
سه‌شاخه ThH	#6(TH) (دوشاخه)	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	31
سه‌شاخه ThH	#16(TH) (دو شاخه)	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	18
سه‌شاخه ThH	#2(ThH) (سه‌شاخه)	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	26
سه‌شاخه ThH	#8(ThH) (سه‌شاخه)	تک‌شاخه SH	تک‌شاخه SH	11

*: SH: Single head, §TH: Two heads, £ThH: Three heads

نتاج نرعقیم بودند، برای ادامه تلاقی‌ها و ایجاد نسل در حال تفرق، نتاج همه تلاقی‌ها به عنوان پایه مادری با لاین نگهدارنده تک‌شاخه به‌عنوان والد پدری تلاقی داده شدند و نتاج آن تلاقی‌ها در سال سوم (۱۳۹۴) در مزرعه موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کشت شده و فنوتیپ آن‌ها از نظر تعداد طبق ثبت گردید (جدول ۱).

آزمایش مزرعه‌ای در سال اول (۱۳۹۲)، سال دوم (۱۳۹۳) و سال سوم (۱۳۹۴) با فاصله روی ردیف کاشت ۲۵ و بین ردیف ۶۰ سانتی‌متر انجام شد. آبیاری با دور ۱۰ روز یک بار و به صورت نشتی انجام گرفت. در کشت گلخانه‌ای شرایط دمایی روز ۳۲ و شب ۲۵ درجه سانتی گراد بود. برای استخراج DNA ژنومی، جوان‌ترین برگ بوته‌ها برداشت شده و سریعاً به فریزر ۷۰- درجه سانتی گراد انتقال داده شد.

استخراجDNA ژنومی به روش لی و همکاران (Li *et al.*, 2007) و بر پایه روش CTAB انجام گرفت. برای حذف RNA موجود در نمونه‌ها، از تیمار با *RNase*I (ساخت شرکت Thermo Fisher Scientific) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. بعد از تیمار با *RNase*I، غلظت DNA به روش اسپکتروفتومتری با قرائت در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر تعیین شد. کیفیت و سلامت DNA تیمار شده با *RNase*I با بارگیری روی ژل آگارز یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. (منظور از DNA، در واقع DNA تیمار شده با *RNase*I می‌باشد). حذف RNA از محیط DNA، امکان غلظت سنجی دقیق برای تشکیل بالک‌های DNA را فراهم می‌سازد. مقدار ۳۰ نانوگرم از DNA هر یک از لاین‌های اینبرد تک‌شاخه A-1221 و A-19 با یکدیگر مخلوط شده و بالک تک‌شاخه تشکیل داده شد. مخلوط ۳۰ نانوگرم DNA هر یک از لاین‌های اینبرد چندشاخه (RF154 و R39) نیز تشکیل بالک چندشاخه‌ها را داد. تشکیل این بالک‌ها باعث کاهش تعداد واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) گردید. با توجه به اینکه اطلاعات مولکولی و توالی برای ژن های عامل چند شاخگی در آفتابگردان منتشر نشده است، برای انجام PCR از سیستم نشانگریTRAP مورد استفاده توسط روجاس- باروس و همکاران (Rojas-Barros *et al.*, 2008) استفاده شد. آغازگرهای ثابت بر مبنای توالی ژن‌های عامل چندشاخگی

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

در برنج، باقلا، نخود و آرابیدوپسیس طراحی شده‌اند (Rojas-Barros *et al*., 2008). مشخصات آغازگرهای مورد استفاده (ثابت و تصادفی) در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش (Rojas-Barros *et al*., 2008)

Table 2. Characteristics for primers used in this experiment (Rojas-Barros *et al.*, 2008)

نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر ('3---5') Primer sequence (5'---3')	نوع آغازگر Primer type	توصیف Description
MOC1R3	CTAACTAGAGATCGAGTAGC	ثابت Fixed	بر اساس ژن *MOC1* از برنج According to *MOC1* in rice
Ga5	GGAACCAAACACATGAAGA	تصادفی Arbitrary	-
CTG5177L	TGGCACTTTCCCTAACAAAGAG	ثابت Fixed	مشابه ژن‌های شاخه‌دهی *MAX3, MAX4, RMS1* Similar to branching genes *MAX3, MAX4, RMS1*
Odd26	CTATCTCTCGGGACCAAAC	تصادفی Arbitrary	-

ترکیب‌های آغازگری CTG5177L/Odd26، CTG5177L/Odd26 و MOC1R3/Ga5 برای بررسی‌های مولکولی مورد استفاده قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه بایوراد در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر شامل اجزای زیر بود: ۱۰-۲۰ نانوگرم DNA (مربوط به یک نمونه و یا از بالک DNA)، ۱/۵ میکرولیتر از بافر 10X PCR، یک میکرولیتر از محلول ۲۵ میلی مولار $MgCl_2$، یک میکرولیتر مخلوط پنج میلی مولار dNTPs، ۰/۳ پیکومول از هر آغازگر در مخلوط آغازگر تصادفی و ثابت و ۱/۵ واحد *Taq* DNA polymerase (سینا کلون). نیمرخ حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز عبارت بود از؛ واسرشته سازی اولیه DNA در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، و سپس پنج چرخه دمای ۹۴ سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، ۳۷ سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، آنگاه ۳۳ چرخه دمای ۹۴سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و سرانجام ۷۲ سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه. پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگیری و از یکدیگر تفکیک شدند. پس از آن ژل در محلول معرف safestain رنگ آمیزی و DNA زیر نور ماوراء بنفش آشکار سازی شد.

با توجه به اینکه اطلاعات مولکولی و توالی ژن‌های عامل چند شاخگی در آفتابگردان منتشر نشده بود، از اطلاعات گونه آرابیدوپسیس به عنوان گیاه مدل استفاده شد. با استفاده از واژه کلیدی "Branching genes" در بانک اطلاعاتی NCBI، ژن‌های عامل شاخه دهی آرابیدوپسیس و ID مربوط به هر ژن استخراج شد (جدول ۳) و توالی پروموتری آن‌ها (۳۰۰۰ جفت باز بالادست ژن) از سایت http://www.arabidopsis.org (TAIR) استخراج شد. آنگاه عناصر سیس شناخته شده در توالی پروموتری مذکور با استفاده از پایگاه اینترنتی PLACE (http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/) استخراج شدند.

نتایج و بحث

نتاج F_1 حاصل از کلیه تلاقی ها در گلخانه و مزرعه دارای یک طبق بودند (جدول ۱). نتاج حاصل

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

جدول ۳- اسامی ژن‌های مورد مطالعه و ID آن‌ها (پایگاه اطلاعات NCBI)

Table 3. Name of genes and their IDs in the experiment (NCBI)

نام ژن	نام اختصاری	ID ژن	ویژگی
AUXIN RESISTANT 1	*AXR1*	*At1g05180*	پروتئین وابسته به E1 E1 associated protein
LEAFY	*LAS*	*At1g55580*	فاکتور رونویسی GRAS GRAS transcription factor
LATERAL SUPPRESSOR	*LFY*	*At5g61850*	فاکتور رونویسی Transcription factor
MORE AXILLARY GROWTH 1	*MAX1*	*At2g26170*	سیتوکروم P450 (CYP711A) Cyrochrome P450 (CYP711A)
MORE AXILLARY GROWTH 2	*MAX2*	*At2g42620*	پروتئین F-box F-box protein
MORE AXILLARY GROWTH 3	*MAX3*	*At2g44990*	دی‌اکسیژناز شکاف‌دهنده کاروتنوئید ۷ (CCD7) Carotenoid cleavage dioxygenease 7 (CCD7)
MORE AXILLARY GROWTH 4	*MAX4*	*At4g32810*	دی‌اکسیژناز شکاف‌دهنده کاروتنوئید ۸ (CCD8) Carotenoid cleavage dioxygenease 8 (CCD8)
PINFORMED 1	*PIN1*	*At1g73590*	پروتئین حامل جریان اکسین Auxin efflux carrier family
REGULATOR OF AXILLARYMERISTEMS 1	*RAX1*	*At5g23000*	فاکتور رونویسیMyb37 Myb37 transcription factor
REGULATOR OF AXILLARY MERISTEMS 2	*RAX2*	*At2g36890*	فاکتور رونویسی Myb38 Myb38 transcription factor
REGULATOR OF AXILLARY MERISTEMS 3	*RAX3*	*At3g49690*	فاکتور رونویسی Myb84 Myb84 transcription factor
REVOLUTA	*REV*	*At5g60690*	پروتئین زیپ‌دار لیوسین Homeodomain Leucine Homeobox -leucine zipper protein
SUPERSHOOT 1	*SPS1*	*At1g16410*	سیتوکروم p450 (CYP79F1) Cytochrome p450 (CYP79F1)
SHOOT MERISTEMLESS	*STM*	*At1g62360*	Knotted-like homeodomain protein
TERMINAL FLOWER 1	*TFL1*	*At5g03840*	پروتئین تعیین‌کننده گل انتهایی Terminal flower 1protein
TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE	*TIR1*	*At3g62980*	پروتئین F-box F-box protein

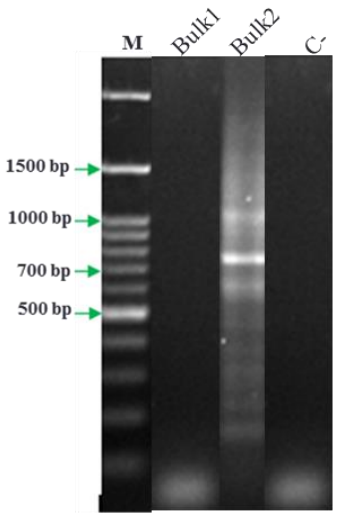
از این تلاقی‌ها با لاین نگهدارنده تک شاخه نیز در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تمامی افراد نسل تلاقی برگشتی از کلیه تلاقی‌ها واجد یک طبق انتهایی بودند. تلاقی انواع بوته‌های تک و چند شاخه از لاین نگه دارنده B-19 با بوته‌های تک و چندشاخه از لاین نرعقیم A-19 منجر به ایجاد بوته‌های تک شاخه در سال بعد گردید. از آنجا که در تمامی لاین‌های مورد آزمون، ژن برگشت دهنده باروری وجود نداشت، تمامی نتاج نسل اول این تلاقی‌ها عقیم بودند، بنابراین برای امکان تداوم تلاقی‌ها، نتاج نسل اول همگی به عنوان پایه مادری با لاین نگهدارنده تک‌شاخه، به عنوان پایه پدری تلاقی داده شدند (جدول ۱).

الگوی نوار‌بندی حاصل از ترکیب آغازگری MOC1R3/Ga5 مورد استفاده توسط روجاس-باروس و همکاران (Rojas-Barros *et al.*, 2008) بین دو بالک در شکل ۱ نشان داده شده است. با استفاده از این جفت آغازگر، نوارهایی با وزن مولکولی حدود ۷۵۰ جفت باز و ۶۵۰ جفت باز در بالک چند شاخه‌ها دیده شد، درحالی که بالک تک شاخه ها قادر به تکثیر هیچ قطعه‌ای توسط این جفت آغازگر نبود.

استفاده از جفت آغازگر CTG5177L/Odd26 نیز منجر به مشاهده تکثیر چند نوار در بالک تک‌شاخه

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

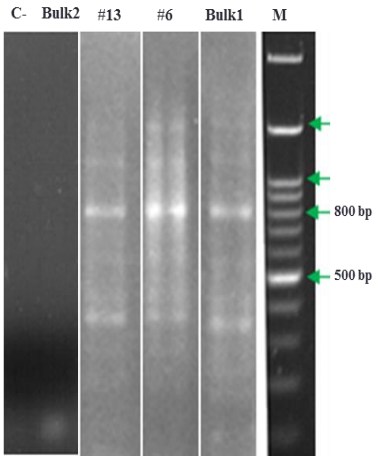
[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]



شکل ۱- الگوی نواربندی بین دو بالک تک شاخه (Bulk1) و چندشاخه (Bulk2) با استفاده از جفت آغازگر MOC1R3/Ga5 C- کنترل منفی و M نشانگر وزن مولکولی1Kb است

Fig 1. Banding pattern between two bulks single head (Bulk1) and multi heads (Bulk2) created using primer pairs MOC1R3/Ga5. C: stands for negative control. M: 1Kb molecular size marker

و عدم تکثیر در بالک چندشاخه‌ها گردید. درحالی که الگوی نوار بندی دو تک بوته مشکوک مشابه با الگوی نوار بندی بالک تک شاخه‌ها بود (شکل ۲).



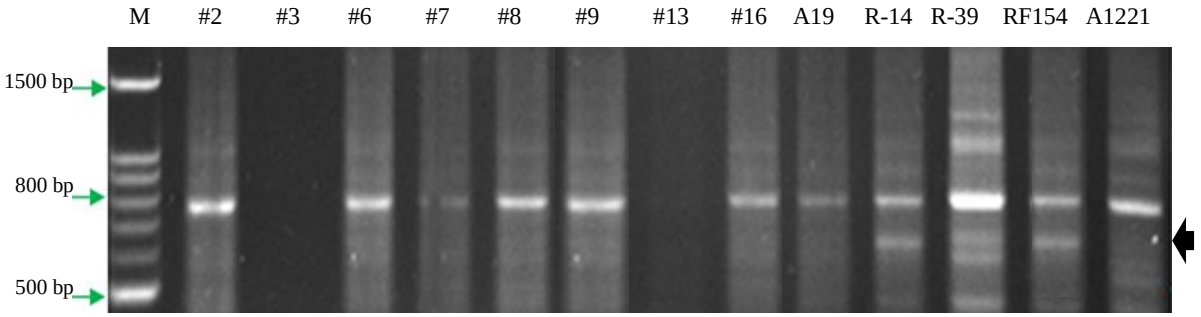
شکل ۲- الگوی نواربندی حاصل از PCR با استفاده از جفت آغازگر CTG5177L/Odd26 در بالک چند شاخه ها (Bulk2)، بالک تک شاخه‌ها (Bulk1) و دو تک بوته مشکوک #13 و #6. -C: کنترل منفی، M: نشانگر وزن مولکولی1Kb

Fig 2. Banding patterns derived by PCR using primer pairs CTG5177L/Odd26 in multi heads (Bulk 2), single heas (Bulk1), and two suspicious plants #13 and #6. C-: negative control. M: 1Kb molecular size marker

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

پس از مشاهده الگوی نواری بندی بین بالک‌های تک شاخه و چند شاخه، الگوی نواربندی بین تک بوته‌های مشکوک (۸ مورد)، سه لاین چند شاخه و دو لاین تک شاخه با استفاده از جفت آغازگر MOC1R3/Ga5 مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۳).



شکل ۳- الگوی نواربندی حاصل از PCR با استفاده از جفت آغازگر MOC1R3/Ga5 بین تک بوته‌های مشکوک (با # نشان داده شده اند، رجوع به جدول ۱)، سه لاین چند شاخه واقعی (R-14، R-39 و RF154) و دو لاین تک شاخه واقعی (A19 و A1221). نوار متمایز کننده لاین‌های تک شاخه از چند شاخه، با علامت پیکان در سمت راست ژل مشخص شده است

M: نشانگر وزن مولکولی 1Kb

Fig 3. Banding pattern derived by PCR using primer pairs MOC1R3/Ga5 between suspicious plants (indicated by #, Table 1), three real multi head lines (RF154, R-39, and R-14) and two real single head lines (A1221 and A19). Band differentiating single head from multi head lines is indicated by arrow at the right side of the gel

M: 1Kb molecular size marker

بر اساس شکل ۳، نواری با اندازه حدود ۶۵۰ جفت باز در سه لاین چند شاخه وجود داشت، در حالی‌که این نوار در لاین‌های تک‌شاخه و تک بوته‌های مشکوک وجود نداشت.

حضور و فراوانی عناصر سیس در توالی پروموتر ژن‌های عامل چند شاخگی مورد بررسی قرار گرفتند، لیکن با توجه به اینکه اطلاعات ژنی و ژنومیک آفتابگردان هنوز کامل نشده است، در این آزمایش از اطلاعات گیاه مدل آرابیدوپسیس استفاده شد. تعداد هر یک از عناصر سیس در پروموتر ژن‌های دخیل در شاخه‌دهی در آرابیدوپسیس در جدول ۴ ارائه شده است. در پروموتر ژن‌ها، تعداد زیادی عنصر سیس وجود دارد، لیکن در این آزمایش صرفاً عناصری که محل اتصال عوامل رونویسی دخیل در فرایندهای نموی (که شاخه‌دهی از آن جمله محسوب می‌شود) و یا پاسخ به عوامل محیطی بودند، مورد توجه قرار گرفتند که شامل ABREATCONSENSUS، DRE1COREZMRAB17، LTRECOREATCOR15، MYB1AT (MYB2AT)، MYB2CONSENSUSAT، MYBATRD22 و MYBCORE) و SREATMSD بودند. فهرست این عناصر به همراه تعداد آنها در پروموتر ژن‌های دخیل در شاخه‌دهی آرابیدوپسیس در جدول ۴ ارائه شده است.

چند شاخگی پدیده‌ای است که تحت کنترل عوامل ژنتیکی و محیطی متعددی قرار دارد (Leyser 2009, Malamy 2005, Nakamura *et al.*, 2013, Takeda *et al.*, 2003, Terzić *et al.*, 2006). شناسایی سازوکارهای مولکولی دخیل در فرایند

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

جدول ۴- انواع عناصر سیس واکنش دهنده به شرایط محیطی و دخیل در فرایندهای نموی و تعداد آن‌ها در نواحی پروموتری ژن‌های مسئول شاخه‌دهی در گیاه آرابیدوپسیس

Table 5. Cis-elements responsive to environmental condition and involved in developmental stages and their respected number promoters of branching genes in Arabidopsis

	Cis elements عناصر سیس								
Genes	ABRE	DRE	LTRE	SRE	MYB1AT	MYB2AT	MYB2CONSENSUSAT	MYBATRD22	MYBCORE
AXR1	–	2	4	2	8	1	4	–	11
LAS	1	2	2	2	4	–	–	1	3
LFY	3	–	3	2	2	3	5	1	9
MAX1	1	–	1	1	6	1	4	–	–
MAX2	1	2	2	2	7	1	1	1	3
MAX3	1	5	4	3	3	1	4	1	–
MAX4	–	–	2	2	6	–	2	–	–
PIN1	–	2	2	2	9	–	5	2	10
RAX1	–	–	2	2	4	1	2	–	–
RAX2	–	–	–	–	8	1	4	–	10
RAX3	1	–	–	–	7	–	2	–	4
REV	–	3	3	1	3	1	2	–	5
SPS1	–	2	8	6	7	2	3	1	6
STM	–	–	3	5	7	3	4	1	7
TFL1	–	5	12	–	13	–	–	–	11
TIR1	2	1	3	2	4	–	1	–	7

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

شاخه‌دهی در بسیاری از گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است، با این حال در خصوص گیاه آفتابگردان هنوز سازوکار و ژن‌های موثر در شاخه‌دهی شناسایی نشده است. به همین دلیل بررسی وقوع پدیده چند شاخگی در لاین اینبرد A-19 که والد مادری هیبرید داخلی آذرگل است، نیازمند بررسی‌های ژنتیکی، مولکولی و بیواینفورماتیکی بود. تلاقی بین افراد با فنوتیپ متفاوت و ردیابی فنوتیپ مورد نظر در نسل‌های در حال تفرق (F_2 یا BC) با در نظر گرفتن نسبت‌های فنوتیپی، از دیر باز به عنوان یک روشی کارآمد برای استنتاج ماهیت و روابط ژنی دخیل در بروز پدیده‌ها مطرح بوده است (Hockett and Knowles 1970). با توجه به ضعیف بودن لاین های اینبرد که پیامد چندین نسل خویش‌آمیزی هستند، تعداد نتاج حاصل از تلاقی بین بوته‌های یک لاین اینبرد اغلب کم است (جدول ۱)، با این حال مشاهده فنوتیپ صددرصد تک‌شاخه بین نتاج همه تلاقی‌ها می‌تواند گواهی بر عدم دخالت عوامل ژنتیکی هسته‌ای در بروز پدیده چند شاخگی در لاین مورد آزمایش باشد (جدول ۱). همچنین مشاهده نتایج یکسان در نتاج تلاقی‌های برگشتی (جدول ۱)، نشان دهنده عدم دخالت عوامل خارج هسته‌ای در بروز این پدیده است.

هرچند اطلاعات مولکولی در خصوص ژن‌های عامل شاخه‌دهی در آفتابگردان اخیرا منتشر شده است (Baute *et al*., 2015, Mandel *et al*., 2014, Nambeesan *et al*.,2015)، اما ردیابی مولکولی ژن‌های عامل چند شاخگی در آفتابگردان از چند سال پیش آغاز شده و برای تعدادی از آن‌ها نشانگرهای مولکولی طراحی شده است (Rojas-Barros *et al*., 2008). در این پژوهش نخست جفت آغازگرهایی که توسط Rojas –Barros و همکاران برای تمایز بین لاین تک‌شاخه و چندشاخه مورد استفاده قرار گرفته بودند، بین دو بالک DNA (یکی متشکل از لاین‌های چندشاخه و دیگری از لاین‌های تک‌شاخه) مورد آزمون قرار گرفتند. از این بین فقط دو جفت آغازگر قادر به تمایز بین این دو بالک بودند، بنابراین این آغازگرها قابلیت متمایز کردن لاین‌های چندشاخه واقعی از لاین‌های تک‌شاخه را دار ا می‌باشند. در یکی از این آغازگرها، تک بوته‌های مشکوک و لاین‌های تک شاخه در یک گروه قرار گرفتند، در حالی که لاین‌های چند شاخه الگوی منحصر به فرد داشتند. با توجه به اینکه با استفاده از نشانگرهای معرفی شده توسط این محققان، شباهتی در الگوی نواربندی بین تک بوته‌های مشکوک و لاین‌های چندشاخه واقعی مشاهده نشد و الگوی نواربندی بین لاین‌های تک شاخه واقعی و تک بوته‌های مشکوک مشابه بود، به نظر می‌رسد که بروز چند شاخگی در لاین A-19 احتمالاً ناشی از عدم وجود کنترل ژنتیکی بوده باشد.

ارزیابی‌های ژنتیکی و مقایسه الگوی نواربندی در لوکوس‌های مرتبط با چند شاخگی بین لاین‌های چندشاخه واقعی، لاین‌های تک شاخه واقعی و نیز تک بوته‌های مشکوک، احتمالا ناشی از عدم دخالت عوامل ژنی در ظهور پدیده چند شاخگی در لاین A-19 است. با این حال، برای بررسی بیشتر علل این پدیده و با توجه به حفاظت شدگی زیاد سازوکارهای موثر در شاخه‌دهی گونه‌های مختلف (Leyser 2009، Yaish *et al*., 2010)، تجزیه پروموتر ژن‌های شناسایی شده موثر در شاخه دهی از نظر وجود عناصر سیس کنترل کننده پاسخ گیاهان به عوامل نموی و تنش‌های غیر زنده در گیاه مدل آرابیدوپسیس انجام گرفت. بعنوان مثال ABRE عنصر پاسخ به اسید آبسیسیک (ABA) است که دخالت آن در مسیرهای انتقال پیام تنش‌های غیرزیستی به اثبات رسیده است (Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki 2005). عنصر DRE توالی از پروموتر است که نقش اساسی در پاسخ ژن‌ها به شرایط تنش اسمزی، کم آبی و نیز دماهای پایین ایفا می‌کند (Nakashima *et al*., 2009). عنصر LTR پاسخ دهی گیاه به دمای پایین را کنترل

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

می‌کند (Dang *et al*., 2011, Yamaguchi-Shinozaki and Shinozaki 2005) و SRE یک عنصر پاسخ دهنده به قند است که در پروموتر ژن‌هایی دیده شده که بعد از قطع ساقه اصلی در آرابیدوپسیس، دچار کاهش بیان می‌شوند (Tatematsu *et al*., 2005,). MYB2AT عنصری است که محل اتصال عامل رونویسی ATMYB2 است و در گیاه آرابیدوپسیس در تنظیم ژن‌های پاسخ دهنده به تنش خشکی دخالت دارد و از طرفی در تنظیم پیری، با سازوکار غالبیت انتهایی، از طویل شدن جوانه‌های جانبی جلوگیری می‌کند (Harb, 2010). MYB1AT، MYBATRD22 و MYB2CONSENSUS هر سه عنصر جایگاه تشخیص و اتصال MYB هستند که در پروموتورهای ژن rd22 و بسیاری دیگر از ژن‌های پاسخ به تنش خشکی و کم آبی در آرابیدوپسیس یافت می‌شوند و دخالت آنها در مسیرهای انتقال پیام پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی اثبات شده است (Akagi *et al*., 2009). تعداد این عناصر در پروموتر یک ژن مورد نظر نشان می‌دهد که چندین محل احتمالی اتصال برای فاکتورهای رونویسی متعددی که بیان آن‌ها تحت شرایط محیطی متفاوت القا شده است، وجود دارد. برای مثال، حضور ۱۳ عنصر MYB1AT و ۱۱ عنصر MYBCORE در پروموتر ژن *TFL1* که خود یک پروتئین فاکتور رونویسی را رمز می‌کند، نشان دهنده محل اتصال بسیاری از فاکتورهای رونویسی است که هر کدام تحت شرایط متفاوتی ممکن است به این قسمت از پروموتر متصل شوند و فنوتیپ متفاوتی را برای ژن ایجاد کنند. همچنین، حضور ۱۲ عنصر LTRE در ناحیه پروموتری همین ژن، نشان می‌دهد که بیان این ژن احتمالا تحت شرایط دمایی پایین قرار می‌گیرد که با مشاهدات افزایش بروز شاخه دهی در ارقام مختلف آفتابگردانی که دیر هنگام کشت شده بوده و در مرحله گلدهی با سرمای پاییز مصادف شده بودند، مطابقت دارد (فرخی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مکاتبات شخصی).

ارزیابی‌های ژنتیکی با حضور تک بوته‌های تک‌شاخه و تک بوته‌های مشکوک، دوشاخه، و سه‌شاخه (شاخه دهی از بالای گیاه) و ارزیابی بر اساس نشانگرهای مولکولی، دلالت بر عدم وابستگی احتمالی فتوتیپ شاخه‌دار شدن لاین A-19 آفتابگردان به عوامل ژنتیکی، حداقل در بین مواد ژنتیکی آزمون شده در این آزمایش، دارد. از طرفی مشاهدات *in silico* روی ناحیه پروموتری ژن‌های عامل شاخه‌دهی در سایر گیاهان و نیز در نظر گرفتن این حقیقت که سازوکار مولکولی چندشاخگی در بین گیاهان مختلف تا حد زیادی حفظ شده است، احتمال ایفای نقش عناصر سیس پاسخ دهنده به شرایط محیطی نظیر خشکی و سرما در ژن‌های مسئول چندشاخگی در آفتابگردان را مطرح می‌نماید. نتایج تحقیقات منتشر نشده محققان اصلاح آفتابگردان (فرخی و خدابنده، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مکاتبات شخصی) نیز نشان دهنده تاثیر عواملی نظیر دماهای پایین در چند شاخه شدن بوته‌های آفتابگردان دارد. در پژوهش حاضر دلیل کافی برای وجود اثرات ژنی برای بروز پدیده چندشاخگی از بالای بوته‌های لاین A-19 آفتابگردان بدست نیامد و برعکس، نتایج تحقیقات *in silico* بر اهمیت اثر عوامل محیطی نظیر دماهای پایین و خشکی بر بروز این پدیده دلالت دارند.

این تحقیق در نوع خود از اولین پژوهش‌های مربوط به شناسایی علل پدیده چندشاخگی در یک لاین اینبرد در آفتابگردان است و هرچند شواهد مولکولی ارائه شده باید با روش‌های تکمیلی مانند ابزارهای ترانسکریپتومیکس و پروتئومیکس آزمون شوند، دلایل ژنتیکی ارائه شده از استحکام خوبی برخوردار است و می‌تواند به عنوان معیاری برای برای بهره‌برداری در تایید مزارع تولید بذر والد مادری هیبرید آفتابگردان آذرگل توسط موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال استفاده شده

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

و وقـوع ایـن پدیـده، اخـتلاط و یـا ناخالصـی ژنتیکـی تلقی نشود.

بخشی از این تحقیق در پژوهشکده ژنتیک و زیست فن‌آوری طبرستان، ساری، انجام گرفـت کـه بدینوسـیله تشکر و قدردانی می‌شود.

تشکر و قدردانی

منابع مورد استفاده References

Akagi, T., A. Ikegami, T. Tsujimoto, S. Kobayashi, A. Sato, A. Kono and K. Yonemori. 2009. DkMyb4 is a Myb transcription factor involved in panthocyanidin biosynthesis in psimmon fruit. Plant Physiol. 151: 2028–2045.

Baute, G. J., N. C. Kane, C. J. Grassa, Z. Lai and L. H. Rieseberg. 2015. Genome scans reveal candidate domestication and improvement genes in cultivated sunflower, as well as post-domestication introgression with wild relatives. New Phytol. 206: 830–838.

Burke, J. M., S. Tang, S. J. Knapp and L. H. Rieseberg. 2002. Genetic analysis of sunflower domestication. Genetics, 161: 1257-1267.

Cheng, D., F. Zhang, L. Liu, L. Xu, Y. Chen, W. Wang, C. Limera, R. Yu and Y. Gong. 2013. TRAP markers generated with resistant gene analog sequences and their application to genetic diversity analysis of radish germplasm. Scientia Hortic. 161: 153-159.

Dang, H. Q., N. Q. Tran, R. Tuteja and N. Tuteja. 2011. Promoter of a salinity and cold stress-induced MCM6 DNA helicase from pea. Plant Signal Behav. 6: 1006–1008.

FAO. 2014. FAO Year Book Statistics.

Fehr, W. R., E. L. Fehr and H. J. Jessen. 1987. Principles of Cultivar Development: Theory and Technique: Macmillan.

Fick, G. N. and J. F. Miller. 1997. Sunflower breeding. In Sunflower Technology and Production *in:* Schneiter, A. A. (Ed.) Madison, Wisconsin, USA, CSSA, and SSSA.

Franks, S. J. and A. A. Hoffmann. 2012. Genetics of climate change adaptation. Annu. Rev. Genet. 46: 185-208.

Harb, A. M. 2010. Dissection of drought responses in Arabidopsis. *In:* Virginia Polytechnic Institute. Virginia: Virginia Polytechnic Institute and State University.

Heiser, C. B. 1954. Variation and subspeciation in the common sunflower, *Helianthus annuus*. Am. Midland Nat. 51: 287-305.

Hockett, E. A. and P. F. Knowles. 1970. Inheritance of branching in sunflowers, *Helianthus annuus* L. Crop Sci. 10: 432-436.

Kovacik, A. and V. Skaloud. 1990. Results of inheritance evaluation of agronomically important traits in sunflower. Helia, 13: 41-46.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

Leyser, O. 2009. The control of shoot branching: an example of plant information processing. Plant Cell Environ. 32: 694-703.

Li, J. T., J. Yang, D. C. Chen, X. L. Zhang and Z. S. Tang. 2007. An optimized mini-preparation method to obtain high-quality genomic DNA from mature leaves of sunflower. Genet. Mol. Res. 6: 1064-1071.

Liu, Q. A. 2013. The impact of climate change on plant epigenomes. Trend. Genet. 29: 503-505.

Malamy, J. E. 2005. Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. Plant Cell Environ. 28: 67-77.

Mandel, J. R., E. V. McAssey, S. Nambeesan, E. Garcia-Navarro and J. M. Burke. 2014. Molecular evolution of candidate genes for crop-related traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.). PLoS ONE, 9: e99620.

Nakamura, H., Y. L. Xue, T. Miyakawa, F. Hou, H. M. Qin, K. Fukui, X. Shi, E. Ito, S. Ito, S. H. Park, Y. Miyauchi, A. Asano, N. Totsuka, T. Ueda, M. Tanokura and T. Asami. 2013. Molecular mechanism of strigolactone perception by *DWARF14*. Nat. Commun. 4: 2613.

Nakashima, K., Y. Ito and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2009. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. Plant Physiol. 149: 88-95.

Nambeesan, S. U., J. R. Mandel, J. E. Bowers, L. F. Marek, D. Ebert, J. Corbi, L. H. Rieseberg, S. J. Knapp and J. M. Burke. 2015. Association mapping in sunflower (*Helianthus annuus* L.) reveals independent control of apical vs. basal branching. BMC Plant Biol. 15: 84.

Putt, E. D. 1940. Observation on morphological characters and flowering process in the sunflower (*Helianthus annuus* L.). Sci. Agrc. 21: 167-179.

Putt, E. D. 1964. Recessive branching in sunflowers. Crop Sci. 4: 444-445.

Rojas-Barros, P., J. Hu and C. C. Jan. 2008. Molecular mapping of an apical branching gene of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). Theor. Appl. Genet. 117: 19-28.

Terzic, S., M. Zoric and F. Miladinovic. 2006. Phenotype variability and inheritance of plant height and branching in F1 generation of sunflower. Helia, 44: 87-94.

Sanda, I., A. V. Vranceanu and M. Pacureanu-Joila. 1999. Analysis of the genetic control of branching types in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Roman. Agric. Res. 11-12: 17-19.

Shull, G. H. 1908. Some new cases of Mendelian inheritance. Bot. Gaz. 45: 103-116.

Takeda, T., Y. Suwa, M. Suzuki, H. Kitano, M. Ueguchi-Tanaka, M. Ashikari, M. Matsuoka and C. Ueguchi. 2003. The *OsTB1* gene negatively regulates lateral branching in rice. Plant J. 33: 513-520.

Tatematsu, K., S. Ward, O. Leyser, Y. Kamiya and E. Nambara. 2005. Identification of cis-elements that regulate gene expression during Initiation of axillary bud outgrowth in Arabidopsis. Plant Physiol. 138: 57-766.

Terzić, S., M. Zorić and F. Miladinović. 2006. Phenotype variability and inheritance of plant height and branching in F1 generation of sunflower. Helia, 29: 87-94.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

Yaish, M. W., D. R. Guevara, A. El-kereamy and S. J. Rothstein. 2010. Axillary shoot branching in plants. *In:* E. C. Pua and M. R. Davey (Eds.). Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives, Vol 1. pp.37-52. Springer.

Yamaguchi-Shinozaki, K. and K. Shinozaki. 2005. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic- and cold-stress-responsive promoters. Trends Plant Sci. 10: 88-94.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

Assessment of branching phenomenon in the female parental inbred line of hybrid sunflower (*Helianthus annus* L.) cv. Azargol

Sajadi, S. M.[1], M. Soltani Najafabadi[2] and B. Maleki Zanjani[3]

ABSTRACT

Sajadi, S. M. M. Soltani Najafabadi and B. Maleki Zanjani. 2017. Assessment of branching phenomenon in teh female parental inbred line of hybrid sunflower (*Helianthus annus* L.) cv. Azargol**. Iranian Journal of Crop Sciences. 19(3): 255-269. (In Persian).**

Maintenance of genetic purity of parents of hybrid is important in hybrid development and commercialization. Branching phenotype in maternal line of Azargol, an Iranian sunflower hybrid, is a challenging. This experiment was carried out to understand thae basis of this phenomenon, and included three phases. Genetic phase, all possible crosses between plants possessing one, two, and/or three heads (suspicious plants) were made during 2013 to 2015 in Seed and Plant Improvement Institute, Iran and their progenies were backcrossed to single-headed parent. Molecular phase, previously published branching-linked molecular markers were evaluated on individuals from the parents, original single –headed, and original multi head genotypes. Bioinformatics phase, presence of environmentally responsive *cis*-regulatory elements in the promoters of branching genes characterized in other plant species were investigated. Genetic analysis indicated that progenies of all crosses (239 indivudials) appeared to be single headed plants. Similar banding pattern was observed among suspicious plants and original single-headed lines, but differed from original multi head genotypes. At least one *cis*-regulatory elements responding to cold and drought stress were found in the promoters of branching genes in other plant species. Results of the three phases of this experiment revealed insufficient evidence to attribute the branching phenotype in the inbredline of interest to genetic factors.

Key words: Branching, *cis*-elements, Molecular markers and Sunflower.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-11-17]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1396.19.3.6.6]

Received: May 2017 Accepted: October 2017

1. Former MSc student, Zanjan University, Zanjan, Iran
2. Assistant Prof., Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran (Corresponding author) (Email: m.soltanioil@yahoo.com)
3. Assistant Prof., Zanjan Univesrisy, Zanjan, Iran