



شناسایی نشانگرهای رتروترانسپوزونی مرتبط با صفات آگرومورفولوژیک در جمعیت‌های مختلف آفتابگردان آجیلی (*Helianthus annuus* L.) تحت شرایط نرمال و تنش خشکی

مرجان جنت دوست^۱، رضا درویش زاده^۲، حیدر عزیزی^۳، محمدعلی ابراهیمی^۴، رقیه ضیایی فرد^۱ و اسماعیل قلی نژاد^۵

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه

۲- استاد، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

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

۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران

۵- دانشیار، گروه علمی علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۱۰

چکیده

در این مطالعه به منظور شناسایی نشانگرهای ملکولی مرتبط با ۲۲ صفت آگرومورفولوژیک در ۴۸ توده مختلف آفتابگردان آجیلی بر اساس مدل‌های GLM و MLM، از ۱۲ آغازگر مبتنی بر رتروترانسپوزون (۷ آغازگر IRAP و ۵ آغازگر REMAP) استفاده شد. تجزیه کلاستر با روش Neighbor Joining، توده‌های آفتابگردان مورد مطالعه را به ۳ گروه اصلی تقسیم‌بندی کرد. مطالعه ساختار جمعیت به عنوان پیشنیازی برای انجام تجزیه ارتباط به روش بی‌زین، نشان داد که ۲ زیر گروه احتمالی ($K=2$) در جمعیت مورد مطالعه وجود دارد. در تجزیه ارتباط به روش GLM و MLM، به ترتیب ۱۳۱ و ۱۱۷ مکان مرتبط ($P < 0.01$) با صفات مورد مطالعه در محیط‌های مختلف تحت بررسی شناسایی شدند. وجود نشانگرهای مشترک در میان برخی صفات بررسی شده در مطالعه حاضر ممکن است ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی دخیل در کنترل صفات باشد. نتایج بدست آمده از این مطالعه اطلاعات ارزشمندی در زمینه مبنای ژنتیکی صفات مورد مطالعه ارائه داد که از این اطلاعات می‌توان در برنامه‌های اصلاحی و تولید ارقام با میزان عملکرد بالا در آفتابگردان استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، تنش کم آبی، عدم تعادل پیوستگی، نشانگرهای مولکولی

مقدمه

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) گیاهی یکساله، دگرگرده افشان، دیپلوئید و با تعداد کروموزوم $2n=2x=34$ می‌باشد (۳۳). مرکز پیدایش این گیاه، احتمالاً جنوب غربی آمریکا و مکزیک است. ارقام زراعی آفتابگردان دارای دو تیپ روغنی و آجیلی می‌باشند. در تیپ آجیلی وزن ۱۰۰ دانه بین ۱۰ تا ۲۰ گرم متغیر بوده و برای مصارف آجیلی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در این تیپ درصد پروتئین بالا، ولی درصد روغن آن‌ها کمتر از ۳۰ درصد می‌باشد (۱۶). خشکسالی یک پدیده مهم و قابل توجه در کشاورزی سراسر جهان است. بنابراین یکی از اهداف مهم در اصلاح‌نباتات، زادآوری و باروری گیاهان زراعی و همچنین بهبود محصولات گیاهان در شرایط خشک است (۳۶). رفتارهای سازگاری گیاه به تنش نقش مهمی در تحمل به تنش ایفا می‌کنند. این رفتارها توسط ژن‌ها کنترل می‌شوند و می‌توانند تحت شرایط تنش و گاهی در شرایط غیرتنش عمل کنند. در صورتی که بتوان با اعمال روش‌های مناسب، تعداد ژن‌ها، جایگاه ژنومی و سهم هر یک از آن‌ها را در کنترل تنوع فنوتیپی صفات مرتبط با تنش خشکی مشخص نمود، شاید بتوان همانند صفات تک ژنی به اصلاح این صفات پرداخت. روش‌های تجزیه QTL راهکاری جدید و مناسب برای رسیدن به این هدف بوده و می‌توان از نتایج آن به خوبی در برنامه‌های به‌زادای آینده استفاده نمود. مکان‌یابی صفات

مرتبط با تنش خشکی می‌تواند در طراحی استراتژی‌های اصلاحی برای تحمل به تنش و به ویژه برای انتخاب در شرایط تنش که معمولاً وراثت‌پذیری صفات پایین است، مورد استفاده قرار گیرد.

شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات کمی (تجزیه QTL) عمدتاً به دو روش نقشه‌یابی پیوستگی^۱ و نقشه‌یابی ارتباطی یا عدم تعادل پیوستگی انجام می‌گیرد. روش نقشه‌یابی پیوستگی (لینکاژی) مبتنی بر تفرق همزمان آللهای نشانگر با مشاهدات فنوتیپی روی خانواده‌های یک جمعیت در حال تفرق جهت مکان‌یابی صفات کمی می‌باشد. در یک جمعیت نقشه‌یابی دو والدی یا لینکاژی، نتاج و به عبارتی افراد مورد مطالعه معمولاً تعداد نسل کمی از دو والد مشترک خود فاصله دارند که منجر به عدم تعادل لینکاژی بالا، یعنی ارتباط غیر تصادفی آللهای بین دو مکان می‌شود. بنابراین حتی نشانگرهایی با فاصله بیشتر نیز ممکن است با صفت مورد نظر تفرق همزمان نشان دهند (۲۴). اگرچه موفقیت نقشه‌یابی لینکاژی در شناسایی QTL ها برای صفات متعدد و در بسیاری از گونه‌ها به اثبات رسیده است (۲۱، ۱۷)، ولی با توجه به اینکه منطقه QTL شناسایی شده بیشتر از چند سانتی‌مورگان و شامل صدها ژن می‌باشد، شناسایی QTL های کاندیدی مناسب را با مشکل مواجه می‌سازد. همچنین ساخت جمعیت‌های نقشه‌یابی مانند لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب

1- Quantitative trait loci

2- Linkage mapping or family mapping

3- Association or linkage disequilibrium mapping or population mapping

مبتنی بر رتروترانسپوزون IRAP و REMAP در شرایط عادی و تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی صفات آگرومورفولوژیک

۵۶ توده مختلف آفتابگردان آجیلی به طور جداگانه تحت ۳ شرایط مختلف آبیاری نرمال (آبیاری بعد از ۵۰ درصد آب قابل استفاده)، تنش ملایم (آبیاری بعد از ۷۰ درصد آب قابل استفاده) و تنش شدید (آبیاری بعد از ۹۰ درصد آب قابل استفاده) (۱۱) در قالب ۳ طرح لاتیس مستطیل ساده (۸×۷) با دو تکرار در مزرعه تحقیقاتی ساعت‌لوی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی کشت شد. در این بررسی از اطلاعات فنوتیپی ۴۸ توده استفاده شد (جدول ۱). با توجه به پتانسیل قابل توجه استان آذربایجان غربی به لحاظ موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی در تولید آفتابگردان آجیلی و سطح زیر کشت گسترده این گیاه در استان، اکثر توده‌ها از سطح این استان و به صورت مستقیم از زارعین تهیه شد. توده‌های دیگر از مناطقی از کشور که کشت آفتابگردان آجیلی مرسوم می‌باشد، جمع‌آوری شدند. خاک محل آزمایش دارای بافت لومی رسی، با pH حدود ۸ و هدایت الکتریکی حدود ۰/۸ دسی‌زیمنس بر متر بود که برای کشت آفتابگردان مشکلی را ایجاد نمی‌کند. فواصل بوته روی ردیف ۲۵ سانتی‌متر و فاصله بین ردیف‌ها ۶۰ سانتی‌متر بودند و هر کرت دارای ۶ خط کاشت به طول ۶ متر بود. از زمان کاشت تا مرحله استقرار گیاهچه (مرحله ۷ تا ۸ برگی) آبیاری‌ها پس از تخلیه ۵۰ درصد آب قابل دسترس در کلیه تیمارها انجام و پس از این مرحله تا ۱۰ روز پیش از رسیدگی فیزیولوژیکی گیاه، تیمارهای آبیاری دقیقاً اعمال گردید. صفات آگرومورفولوژیکی ارزیابی شده شامل وزن تر و خشک برگ، تعداد برگ فعال، وزن تر و خشک طبق، قطر طبق، وزن تر و خشک طبق با دانه، وزن هزار دانه، ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک ساقه، قطر و محیط ساقه، شاخص برداشت، محتوای کلروفیل، تلاش بازآوری، عملکرد بیولوژیکی، تعداد دانه در طبق، درصد پوکی، عملکرد دانه و تعداد دانه در واحد سطح بود. کلیه ارزیابی‌ها بر روی ۵ بوته در هر تکرار که بطور تصادفی انتخاب شدند، انجام گرفت و محاسبات بر مبنای میانگین آن‌ها صورت گرفت. برداشت دانه در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی از سطحی معادل ۳/۶ متر مربع از ۲ خط وسطی انجام گرفت. در این موقع پشت طبق‌های آفتابگردان به رنگ زرد متمایل به قهوه‌ای بودند.

(Recombinant inbred lines: RILs) از طریق تلاقی‌های کنترل شده و سپس چندین نسل خودگشنی زمان‌بر بوده و این نیز خود یکی دیگر از محدودیت‌های استفاده از نقشه‌های لینکاژی می‌باشد.

نقشه‌یابی ارتباطی یک روش جایگزین و یا مکمل جهت شناسایی ارتباطات بین نشانگر و صفت می‌باشد که بطور گسترده‌ای در ژنتیک انسانی و جانوری که در آن‌ها ایجاد جمعیت‌های در حال تفرق بزرگ غیر ممکن می‌باشد، و همچنین اخیراً در ژنتیک گیاهی، استفاده می‌شود (۱۴). این روش دارای مزایای زیادی نسبت به نقشه‌یابی پیوستگی (Linkage mapping) از جمله افزایش وضوح QTL، استفاده از ژرمپلاسم طبیعی و افزایش پوشش آلی می‌باشد (۳۵). همچنین بر خلاف تجزیه پیوستگی، در این روش ارتباط بین ژنوتیپ و فنوتیپ افراد مستقیماً برای شناسایی نواحی کروموزومی دخیل در کنترل صفات، بررسی می‌شود (۱۹).

آفتابگردان جزء محصولات نیمه حساس به خشکی طبقه‌بندی می‌شود. مشخص شده است که کمیت و توزیع آب اثر مهمی روی محصول بذر آفتابگردان دارد. بیشترین کاهش محصول آفتابگردان تحت شرایط تنش خشکی زمانی رخ می‌دهد که گیاه در مرحله گلدهی با کمبود آب مواجه شود. اصلاح ژنوتیپ‌هایی با مقاومت بالا به خشکی موفقیت آمیزترین و ارزان‌ترین راهکار برای مقابله با این تنش است. این گیاه به علت ساختار ویژه ریشه، ساقه، برگ و طبق، به طور موفقیت‌آمیزی در خاک‌های حاشیه‌ای و شرایط نیمه خشک پرورش داده شده و نسبت به تنش‌های غیرزیستی در مقایسه با سایر گیاهان مقاوم است (۱۵، ۲۸).

علی‌رغم اهمیت اقتصادی آفتابگردان آجیلی در ایران (۳۷)، در زمینه شناسایی نشانگرهای مولکولی و مکان‌های ژنتیکی صفات مهم مرتبط با دانه در شرایط تنش خشکی در این گیاه تحقیقات زیادی صورت نگرفته است. هرچند در زمینه آفتابگردان روغنی می‌توان به مکان‌یابی ژنتیکی برخی صفات مهم زراعی در شرایط تنش خشکی (۱)، عملکرد (۳۲) و مکان‌یابی QTL های مرتبط با تحمل به سرما (۳) و مقاومت به بیماری‌ها (۶) اشاره نمود.

با توجه به اینکه تاکنون از تجزیه ارتباط برای شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات آگرومورفولوژیک آفتابگردان آجیلی استفاده نشده است، هدف از مطالعه حاضر شناسایی مکان‌های ژنومی مرتبط با صفات زراعی و مورفولوژیک در آفتابگردان آجیلی با استفاده از نشانگرهای

جدول ۱- کد، نام و مشخصات محل جمع آوری توده های آفتابگردان آجیلی مورد مطالعه

Table 1. Code, name and longitude (N) and latitude (E) of collection site of confectionery sunflower accessions used in the present study

| شماره | کد | محل جمع آوری | طول | عرض | شماره | کد | محل جمع آوری | طول | عرض |
|-------|----|---------------------------|---------|---------|-------|----|------------------------|---------|---------|
| ۱ | ۱ | پیرانشهر (بالابان) | 45° | 36° | ۲۵ | ۲۶ | مرند (دیج- قلمی) | 45° 45' | 38° 30' |
| ۲ | ۲ | ارومیه (نوشین شهر) | 45° 39' | 37° 53' | ۲۶ | ۲۷ | مرند (بامچی- پسته ای) | 45° 45' | 38° 30' |
| ۳ | ۳ | بوکان | 46° 12' | 36° 31' | ۲۷ | ۲۸ | بانه ۳ | 45° 53' | 35° 59' |
| ۴ | ۴ | بوکان محلی | 46° 12' | 36° 31' | ۲۸ | ۲۹ | ارومیه (وقاصولوی سفلی) | 45° 0' | 37° 40' |
| ۵ | ۵ | ارومیه (اردوشاهی ۱) | 45° 0' | 37° 40' | ۲۹ | ۳۰ | همدان ۲ | 48° 32' | 34° 52' |
| ۶ | ۶ | سلماس (قره قشلاق- قلمی) | 44° 47' | 38° 11' | ۳۰ | ۳۱ | بانه ۱ | 45° 53' | 35° 59' |
| ۷ | ۷ | پیرانشهر (اندیزه) | 45° | 36° | ۳۱ | ۳۲ | شبیستر (کوزه کنان ۲) | 45° | 38° |
| ۸ | ۸ | سلماس (قره لجه ۲) | 45° 46' | 38° 17' | ۳۲ | ۳۳ | بانه ۲ | 45° 53' | 35° 59' |
| ۹ | ۹ | سلماس (قره قشلاق- بادامی) | 44° 47' | 38° 11' | ۳۳ | ۳۴ | ملایر- سفید ۳ | 48° 51' | 34° 19' |
| ۱۰ | ۱۰ | سقز ۵ | 46° 20' | 36° 15' | ۳۴ | ۳۵ | شبیستر (کوزه کنان ۳) | 45° | 38° |
| ۱۱ | ۱۱ | سقز ۴ | 46° 20' | 36° 15' | ۳۵ | ۳۶ | مازندران (تیرتاش) | 52° 0' | 36° 30' |
| ۱۲ | ۱۲ | مشهد | 59° 35' | 36° 20' | ۳۶ | ۳۷ | شاهرود ۲ | 54° 58' | 36° 25' |
| ۱۳ | ۱۳ | اصفهان (طلخونچه) | 51° 43' | 32° 39' | ۳۷ | ۳۸ | سردشت | 48° 52' | 32° 32' |
| ۱۴ | ۱۴ | سلماس (صدقیان) | 44° 47' | 38° 11' | ۳۸ | ۳۹ | شاهرود ۱ | 54° 58' | 36° 25' |
| ۱۵ | ۱۵ | پیرانشهر (سروکانی) | 45° | 36° | ۳۹ | ۴۰ | مرند ۱ - ۱۳۸۹ | 45° 45' | 38° 30' |
| ۱۶ | ۱۶ | اصفهان (دولت آباد) | 51° 43' | 32° 39' | ۴۰ | ۴۱ | سقز | 46° 20' | 36° 15' |
| ۱۷ | ۱۷ | ارومیه (انگنه ۴) | 45° 0' | 37° 40' | ۴۱ | ۴۲ | خوی ۶ | 45° 00' | 38° 35' |
| ۱۸ | ۱۸ | میانه (بسین) | 47° 40' | 37° 30' | ۴۲ | ۴۳ | ارومیه (بابانگنه ۶) | 45° 0' | 37° 40' |
| ۱۹ | ۱۹ | ارومیه (وقاصولوی اولیا) | 45° 0' | 37° 40' | ۴۳ | ۴۴ | ارومیه (باروج) | 45° 0' | 37° 40' |
| ۲۰ | ۲۰ | ارومیه (جبل کندی ۲) | 45° 0' | 37° 40' | ۴۴ | ۴۵ | ارومیه (علی بگلو) | 45° 0' | 37° 40' |
| ۲۱ | ۲۱ | مرند ۲ - ۱۳۸۹ | 45° 45' | 38° 30' | ۴۵ | ۴۶ | سقز ۳ | 46° 20' | 36° 15' |
| ۲۲ | ۲۲ | شبیستر کوزه کنان ۱ | 45° | 38° | ۴۶ | ۴۷ | سقز ۱ | 46° 20' | 36° 15' |
| ۲۳ | ۲۳ | همدان ۱ | 48° 32' | 34° 52' | ۴۷ | ۴۸ | سنندج | 46° 31' | 35° 31' |
| ۲۴ | ۲۴ | خوی ۱۰ | 45° 00' | 38° 35' | ۴۸ | ۴۹ | ارومیه (للو ۵) | 45° 0' | 37° 40' |

ارزیابی مولکولی

DNA ژنومی توده ها به روش CTAB (۷) استخراج شد. برای هر توده از مخلوط برگ های ۱۰ فرد استفاده شد (۲). کیفیت و کمیت DNA استخراج شده به ترتیب با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و اسپکتوفتومتری ارزیابی شد. برای ثبت ژنوتیپ در افراد مورد مطالعه از ۱۲ آغازگر مبتنی بر رتروترانسپوزون شامل ۷ آغازگر IRAP (CR-U81, CF-CR, U81, CR, CF, LTR1062) و ۵ آغازگر REMAP (U81-U82, U82-U82, U81-UBC827, CR-UBC816, UBC826, UBC827 و LTR1063-UBC826) استفاده شد (جدول ۲).

واکنش های PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، حاوی ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲ میکرولیتر بافر PCR ۱۰ برابر (500 mM KCl, 500 mM Tris-HCl pH: 8.4)، ۰/۷ میکرولیتر از کلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار (شرکت سیناژن، تهران، ایران)، ۰/۲۵ میلی مول از هر dNTP (Biofluxbiotech)، ۱/۱ واحد از آنزیم تگ پلی مرز (شرکت سیناژن، تهران، ایران) و ۱۰ میکرومول از هر آغازگر به همراه آب دیونیزه در دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. برنامه دمایی واکنش زنجیره ای پلی مرز بصورت: ۴ دقیقه واسرشت سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی گراد و ۳۶ چرخه شامل ۴۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی گراد (جهت واسرشت سازی)، ۴۰ ثانیه در دمای اتصال اختصاصی مربوط به هر آغازگر (جهت اتصال) و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد (جهت بسط) و بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. تفکیک محصولات

تکثیر با استفاده از ژل آگارز ۱/۸ درصد صورت گرفت. برای تعیین اندازه باندها نیز از نشانگر اندازه O'GeneRuler™ (شرکت فرمنتاز) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده ها

باندهای حاصل از نشانگرهای مورد استفاده بصورت یک (حضور) و صفر (عدم حضور) امتیازدهی شد. تجزیه کلاستر توده ها با روش Neighbor Joining با استفاده از نرم افزار DARwin5 نسخه 5.0.158 و با Bootstrap ۱۰۰ (دقت برآورد برای فرارگیری ژنوتیپها) انجام گردید (۲۲). معمولاً این روش مشکل زنجیره ای شدن (Chaining problem) در تجزیه خوشه ای را برطرف می کند. به دلیل استفاده از جمعیت های طبیعی در تجزیه ارتباطی، وجود نیروهای تکاملی در آن ها اجتناب ناپذیر بوده و نادیده گرفتن آن ها باعث ایجاد پیوستگی های دروغین نشانگر- صفت می شود. لذا به همین منظور ساختار ژنتیکی جمعیت و تعیین زیر جمعیت های احتمالی با روش گروه بندی Bayes و با استفاده از نرم افزار Structure (۲۳) انجام گرفت. ساختار جمعیت بر اساس داده های نشانگرها با استفاده از نرم افزار Structure 2.3.4 در حالت admixture با ۱۰۰۰۰ بار Burn-in و ۱۰۰۰۰ بار تکرار Markov Chain Monte Carlo در مقادیر مختلف K از ۱ تا ۱۰ (۵ تکرار برای هر K) بررسی شد. عدد K بهینه (تعداد زیرجمعیت های احتمالی) براساس روش delta K (K) تعیین گردید (۸). در بارپلات حاصل، یک ژنوتیپ وقتی درصد عضویت اش بیشتر یا مساوی ۰/۷ باشد، به یک کلاستر خاص نسبت داده می شود، ولی در صورتی که درصد عضویت آن کمتر از این مقدار باشد، به عنوان ژنوتیپ ترکیبی (مخلوط شده) تعریف می شود (۳۰).

از ۵۶ تا دارای مقادیر گم شده بودند و در نظر گرفتن آن‌ها به هنگام بررسی ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس ساختار (ماتریس Q) احتمالاً باعث اریبی نتایج می‌گردید، بنابراین برای محاسبه ماتریس ساختار جمعیت و در نظر گرفتن آن به عنوان کوواریت در تجزیه ارتباطی با استفاده از نرم افزار TASSEL، اطلاعات مربوط به این هشت توده در نظر گرفته نشد و در کل از اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی ۴۸ توده از ۵۶ توده کشت شده برای انجام تجزیه ارتباطی استفاده گردید.

تجزیه ارتباط به روش GLM وابسته به ماتریس Q (ماتریس ضرایب ساختار جمعیت) و همچنین MLM وابسته به ماتریس Q+K (ماتریس ضرایب ساختار جمعیت + ماتریس روابط خویشاوندی)، جهت جلوگیری از ارتباط کاذب بین نشانگر- صفت با استفاده از نرم افزار TASSEL 2.1 انجام و در نهایت نشانگرهای مرتبط با صفات مورد مطالعه با توجه به مقادیر P-value معنی‌دار انتخاب شدند. با توجه به اینکه اطلاعات ژنوتیپی مربوط به هشت توده

جدول ۲- نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده در این بررسی

| Table 2. Name and sequence of primers used in the presnt study | | توالی آغازگر (۵-۳) | |
|--|---------------------------|--------------------|--------------------|
| آغازگر رتروترانسپوزون | توالی آغازگر (۵-۳) | آغازگر ISSR | توالی آغازگر (۵-۳) |
| LTR-1062 | TCTCTATTATAGCCGGAGAGGTG | UBC-816 | CACACACACACACAT |
| LTR-1063 | GATCCGGTTTCACGGGACTTAC | UBC-826 | ACACACACACACACAC |
| LTR-1064 | CGAAGAACAACCGAATCACC | UBC-827 | ACACACACACACACG |
| CF | GGTTTAGGTTCTGTAATCCTCCGCG | - | - |
| CR | ACAGACACCAGTGGCACCAAC | - | - |
| U81(UF) | TAACGGTGTCTGTTTTGCAGG | - | - |
| U82(URI) | AGAGGGGAATGTGGGGGTTTCC | - | - |

۷ آغازگر IRAP و ۵ آغازگر REMAP (جدول ۲) مورد بررسی قرار گرفت. این آغازگرها در کل ۱۳۸ مکان ژنومی را تکثیر نمودند که ۸۶/۳ درصد مکان‌های تکثیری دارای چندشکلی بودند (شکل ۱). چندشکلی نسبتاً بالای حاصل در پژوهش حاضر را می‌توان به کارایی بالای نشانگرهای مورد استفاده، وسعت مناطق جغرافیایی نمونه‌برداری شده، هتروزیگوسیتی و دگرگشتی آفتابگردان نسبت داد (۱۸). تجزیه کلاستر با روش Neighbor Joining با استفاده از نرم‌افزار DARwin5، توده‌های آفتابگردان مورد مطالعه را به ۳ گروه تقسیم‌بندی کرد (شکل ۲)، که هر یک از گروه‌ها شامل توده‌هایی از مناطق مختلف جغرافیایی بود. مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت با استفاده از نرم افزار Structure، ۲ زیر جمعیت احتمالی ($K=2$) را در توده‌های مورد مطالعه شناسایی نمود و $K=2$ به عنوان K بهینه در تخمین ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس سهم عضویت افراد در هر کلاستر (ماتریس Q) تعیین شد (شکل ۳). بر اساس نتایج ارائه شده در بارپلات (شکل ۳)، با احتمال بیشتر از ۷۰ درصد، عضویت ۲۸ فرد متعلق به زیر ساختار اول (قرمز) و با احتمال بیشتر از ۷۰ درصد، عضویت ۱۸ فرد متعلق به زیر ساختار دوم (سبز) می‌باشد. لذا در مجموع ۹۵/۸۳ درصد افراد مورد مطالعه دارای درصد عضویت بیشتر و یا مساوی ۰/۷ و حدود ۴/۱۷ درصد افراد باقیمانده دارای سهم عضویت کمتر از ۰/۷ می‌باشند (شکل ۴).

نتایج و بحث

بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت

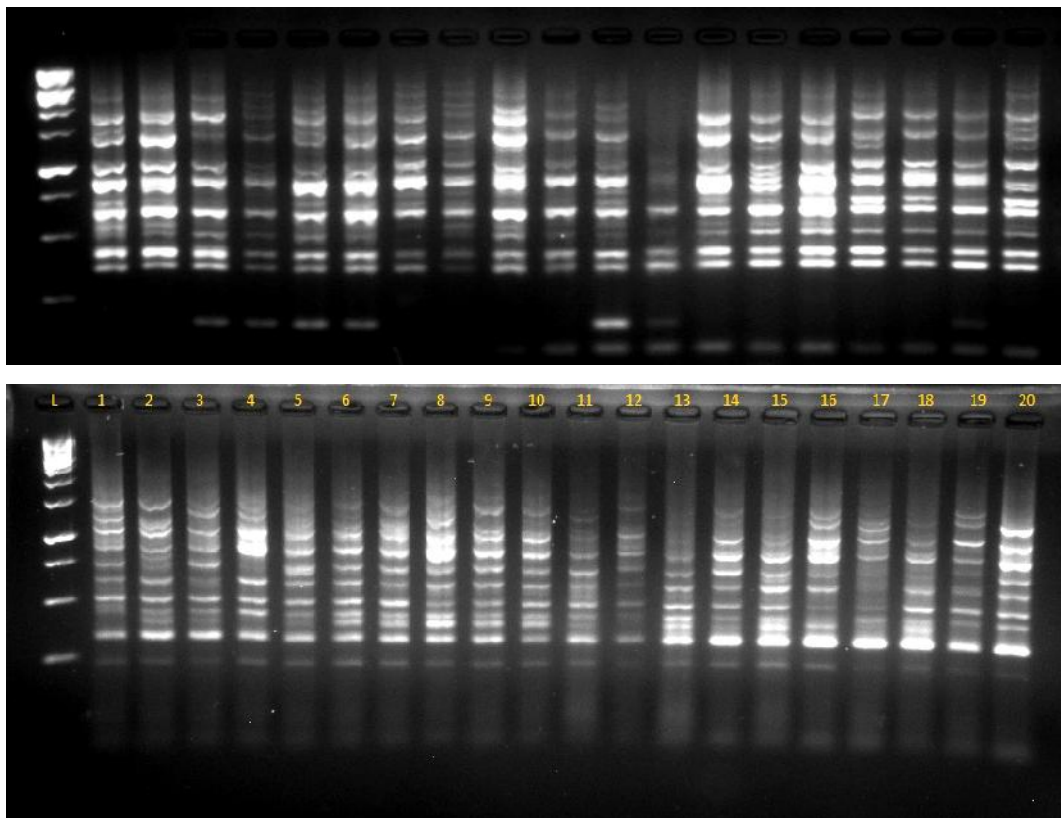
مقادیر حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و ضریب تغییرات فنوتیپی صفات مورد ارزیابی تحت سه شرایط نرمال، تنش ملایم و شدید خشکی در جدول ۳ آمده است. پارامتر ضریب تغییرات یکی از مهم‌ترین و با ارزش‌ترین شاخص‌های برآورد تنوع در جمعیت‌ها بوده و به دلیل این که این معیار تحت تأثیر واحد اندازه‌گیری صفت و یا دامنه تغییرات آن قرار نمی‌گیرد، بنابراین نسبت به دیگر معیارهای تنوع از اهمیت بیشتری برخوردار است. تنوع زیاد برای یک صفت در مواد اصلاحی موفقیت پروژه‌های اصلاحی را تضمین می‌کند. صفات با ضریب تغییرات پایین از شانس کمتری جهت انتخاب برخوردار هستند. بالاترین ضریب تغییرات فنوتیپی تحت شرایط نرمال، تنش ملایم و شدید خشکی به ترتیب مربوط به صفات درصد پوکی، وزن خشک و تر ساقه بود. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۳ می‌توان نتیجه‌گیری نمود که منابع ژنتیکی مورد مطالعه از لحاظ اکثر صفات ارزیابی شده از تنوع مناسبی برخوردار بوده و می‌توانند در برنامه اصلاحی از طریق انتخاب مورد استفاده به‌نژادگر قرار گیرند.

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

جدول ۳- آماره‌های توصیفی صفات مورد ارزیابی در توده‌های آفتابگردان آجیلی تحت شرایط محیطی نرمال، تنش ملایم و شدید خشکی

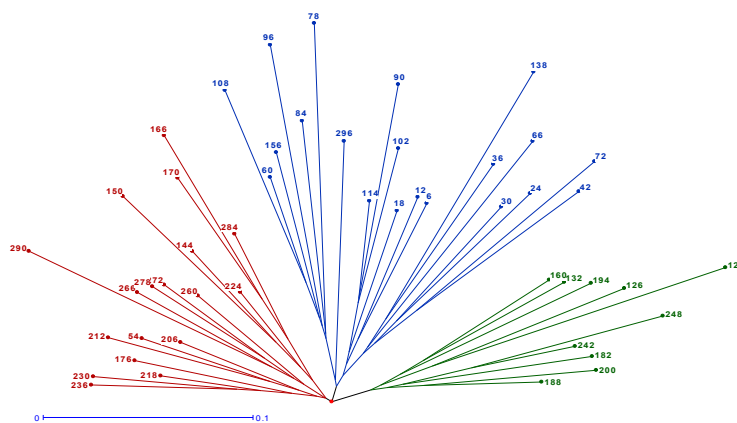
Table 3. Simple statistics of evaluated characters in confectionery sunflower accessions under normal, moderate and sever drought stressed conditions

| صفت | حداقل | | | حداکثر | | | میانگین | | | انحراف معیار | | | ضریب تغییرات | | |
|--|-----------|--------|--------|-----------|---------|---------|-----------|---------|---------|--------------|--------|--------|--------------|-------|-------|
| | شرایط تنش | | | شرایط تنش | | | شرایط تنش | | | شرایط تنش | | | شرایط تنش | | |
| | نرمال | ملایم | شدید | نرمال | ملایم | شدید | نرمال | ملایم | شدید | نرمال | ملایم | شدید | نرمال | ملایم | شدید |
| وزن خشک برگ (کیلوگرم در هکتار) | ۸۴/۰/۲ | ۴۲/۱ | ۷۹/۸ | ۷۸۲۶/۰/۲ | ۵۱۰۰/۹ | ۳۸۴۶/۲ | ۳۵۵۸/۹ | ۲۱۷۰/۱ | ۱۳۷۸/۴ | ۱۴۹۵/۳ | ۹۶۳/۹ | ۶۸۹/۱ | ۴۲/۰/۲ | ۴۴/۴۲ | ۴۹/۹۰ |
| وزن تر برگ (کیلوگرم در هکتار) | ۳۳۷/۸ | ۱۶۹/۱ | ۲۸۸/۵ | ۳۱۲۴/۷ | ۲۰۳۹۷/۷ | ۱۵۳۸۹/۷ | ۱۴۰۷/۲ | ۸۶۸۴/۹ | ۵۵۱۷/۶ | ۵۶۵/۶ | ۳۸۸۳/۸ | ۲۷۸۳/۲ | ۴۰/۱/۹ | ۴۴/۷۲ | ۵۰/۴۴ |
| تعداد برگ فعال | ۵/۷۴ | ۱/۵۹ | ۰/۷۷ | ۳/۳۵ | ۲۶/۶۹ | ۲۴/۸۸ | ۲۱/۲۲ | ۱۶/۹۲ | ۱۴/۳۷ | ۴/۶۴ | ۴/۵۱ | ۴/۸۰ | ۲۱/۸۷ | ۲۶/۶۵ | ۳۳/۴۰ |
| وزن خشک طبق (کیلوگرم در هکتار) | ۸۶۹/۰/۴ | ۲۲۱/۳ | ۶۹۳/۵ | ۷۸۴۱/۹ | ۷۱۱۷/۹ | ۴۵۵۱/۳ | ۴۴۷۵/۵ | ۳۱۶۷/۵ | ۲۲۳۸/۵ | ۱۴۸۱/۹ | ۱۰۹۲/۷ | ۶۹۳/۸ | ۳۳/۱۱ | ۳۴/۵۰ | ۳۱/۰۰ |
| وزن تر طبق (کیلوگرم در هکتار) | ۴۷۲/۳ | ۱۹۶۶/۴ | ۳۳۷۰/۲ | ۳۹۰۵/۵ | ۲۵۶۹/۵ | ۲۲۵۹۵/۰ | ۲۲۲۵/۲ | ۱۵۸۵۱/۸ | ۱۱۱۹۲/۹ | ۷۱۷/۵ | ۵۴۴۵/۷ | ۳۴۸۸/۸ | ۳۲/۲۴ | ۳۴/۳۵ | ۳۱/۱۷ |
| قطر طبق (سانتی متر) | ۱۵/۸۹ | ۱۱/۷۷ | ۹/۹۱ | ۲۸/۵۷ | ۲۷/۹۱ | ۲۶/۱۱ | ۲۰/۲۴ | ۱۸/۳۲ | ۱۵/۷۱ | ۳/۰۸ | ۳/۲۸ | ۲/۵۳ | ۱۵/۲۲ | ۱۷/۹۰ | ۱۶/۱۰ |
| وزن تر طبق با دانه (کیلوگرم در هکتار) | ۷۶۱۲/۱ | ۳۳۱۷/۸ | ۵۵۵۸/۱ | ۵۵۱۸۸/۸ | ۵۰۳۳۲/۲ | ۳۰۸۰۶/۴ | ۳۱۸۹۷/۶ | ۲۴۲۴۴/۲ | ۱۷۲۵۰/۲ | ۹۸۵۷/۵ | ۸۰۴۹/۸ | ۵۱۳۵/۶ | ۳۰/۹۰ | ۳۳/۲۰ | ۲۹/۷۷ |
| وزن خشک طبق با دانه (کیلوگرم در هکتار) | ۱۷۰۳/۳ | ۷۳۷/۲ | ۱۲۱۸/۷ | ۱۱۸۳۷/۴ | ۱۰۷۲۹/۴ | ۶۵۳۶/۷ | ۷۱۲۹/۷ | ۵۲۳۱/۱ | ۳۶۳۲/۳ | ۲۰۵۳/۵ | ۱۷۱۱/۶ | ۱۰۴۶/۲ | ۲۸/۸۰ | ۳۳/۷۱ | ۲۸/۸۱ |
| وزن هزار دانه (گرم) | ۴۳/۹ | ۶۸/۲ | ۶۳/۹ | ۱۹۵/۶ | ۲۰۵/۰ | ۲۱۳/۱ | ۱۳۸/۲ | ۱۳۲/۹ | ۱۱۴/۵ | ۳۲/۲۱ | ۳۳/۱۶ | ۲۸/۴۰ | ۲۳/۳۱ | ۲۴/۹۵ | ۲۴/۸۰ |
| ارتفاع گیاه (سانتی متر) | ۱۳۲/۸ | ۱۰۷/۹ | ۱۱۵/۸ | ۲۷۱/۲ | ۲۵۵/۷ | ۲۶۴/۸ | ۲۱۲/۷ | ۱۸۹/۱ | ۱۶۹/۸ | ۳۳/۴۰ | ۳۵/۵۰ | ۲۶/۱۰ | ۱۵/۷۰ | ۱۸/۷۷ | ۱۵/۳۷ |
| وزن خشک ساقه (کیلوگرم در هکتار) | ۲۳۳۰/۶ | ۴۶۰/۰ | ۶۴۱/۱ | ۱۸۰۰۳/۶ | ۱۰۶۷۳/۳ | ۷۴۵۹/۴ | ۸۷۳۸/۵ | ۵۴۷۹/۱ | ۳۵۷۶/۸ | ۲۴۷۹/۸ | ۱۲۴۴/۴ | ۲۴۷۹/۸ | ۳۹/۸۲ | ۴۵/۱۱ | ۳۴/۷۹ |
| وزن تر ساقه (کیلوگرم در هکتار) | ۹۳۲/۳ | ۲۵۶۸/۵ | ۲۰۸۹/۶ | ۷۲۰۱/۳ | ۴۹۷۹۵/۵ | ۲۹۸۶۰/۱ | ۳۴۳۱/۸ | ۲۲۴۴۵/۰ | ۱۴۳۷۵/۴ | ۱۳۱۹/۷ | ۹۸۰۸/۱ | ۵۱۴۶/۹ | ۳۸/۴۶ | ۴۲/۷۰ | ۵۲/۴۸ |
| قطر ساقه (سانتی متر) | ۱/۸۸ | ۱/۳۲ | ۱/۵۳ | ۳/۹۶ | ۳/۰۹ | ۲/۷۴ | ۲/۷۸ | ۲/۳۷ | ۲/۱۲ | -/۴۵ | -/۴۱ | -/۲۵ | ۱۶/۱۹ | ۱۷/۳۰ | ۱۱/۷۹ |
| محیط ساقه | ۵/۹۲ | ۴/۱۸ | ۴/۸۰ | ۱۲/۴۵ | ۹/۶۶ | ۸/۶۰ | ۸/۷۳ | ۷/۴۴ | ۶/۶۸ | ۱/۴۳ | ۱/۲۹ | ۰/۸۰ | ۱۶/۲۸ | ۱۷/۳۴ | ۱۱/۹۸ |
| شاخص برداشت | ۱۱/۷۰ | ۱۱/۳۱ | ۸/۰۸ | ۲۵/۴۶ | ۲۱/۸۸ | ۲۵/۸۱ | ۱۸/۰۱ | ۱۶/۲۴ | ۱۴/۶۲ | ۳/۹۱ | ۲/۵۱ | ۲/۷۴ | ۲۱/۷۱ | ۱۵/۴۶ | ۱۸/۷۴ |
| کلروفیل | ۳۷/۵۴ | ۳۷/۲۷ | ۱۹/۷۴ | ۴۶/۰۵ | ۳۹/۹۶ | ۳۲/۶۸ | ۳۴/۸۸ | ۳۰/۴۶ | ۲۶/۹۰ | ۴/۵۱ | ۲/۸۹ | ۳/۹۷ | ۱۲/۹۳ | ۱۲/۷۷ | ۱۴/۷۶ |
| تلاش بازآوری | ۰/۲۹ | ۰/۲۹ | ۰/۳۰ | -/۵۲ | -/۵۴ | -/۵۸ | -/۳۷ | -/۴۱ | -/۴۳ | -/۰۵ | -/۰۶ | -/۰۶ | ۱۳/۵۱ | ۱۴/۶۳ | ۱۳/۹۵ |
| عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار) | ۲۸۷۴/۰ | ۱۲۳۹/۳ | ۳۱۶۹/۴ | ۲۴۷۸۷/۰ | ۲۳۰۹۰/۵ | ۱۸۸۴۲/۴ | ۱۶۰۴۱/۷ | ۱۲۸۹۹/۲ | ۹۵۸۴/۷ | ۵۵۲۶/۸ | ۴۶۸۳/۸ | ۲۶۶۷/۸ | ۳۴/۴۵ | ۳۶/۳۱ | ۲۷/۸۳ |
| تعداد دانه در طبق | ۵۱۹/۰ | ۳۸۳/۲ | ۱۸۹/۰ | ۱۵۹۰/۰ | ۸۰۷/۳ | ۸۰۷/۳ | ۸۸۶/۱ | ۷۲/۲ | ۵۷۴/۵ | ۲۲۷/۴ | ۲۰۰/۶ | ۱۲۲/۶ | ۲۵/۶۶ | ۳۷/۸۱ | ۲۱/۳۴ |
| درصد پوکی (%) | ۱/۷۷ | ۱/۴۱ | ۶/۵۸ | ۲۴/۵۱ | ۳۵/۸۳ | ۵۲/۶۷ | ۱۰/۷۴ | ۱۷/۲۴ | ۳۰/۰۳ | ۶/۶۴ | ۹/۹۹ | ۶/۶۳ | ۴۳/۲۰ | ۳۸/۲۷ | ۳۳/۲۷ |
| عملکرد دانه (کیلوگرم در هکتار) | ۸۰۷/۳ | ۴۹۳/۴ | ۴۹۰/۲ | ۶۳۱۰/۸ | ۳۷۷۸/۸ | ۲۳۱۷/۹ | ۲۷۴۸/۵ | ۲۰۶۴/۶ | ۱۳۹۳/۹ | ۸۸۴/۹ | ۷۱۹/۸ | ۴۱۹/۴ | ۳۲/۲۰ | ۳۴/۸۶ | ۳۰/۰۹ |
| تعداد دانه در واحد سطح | ۳۱۲۹/۷ | ۲۱۲۸/۹ | ۲۰۰۰/۶ | ۸۱۳۶/۸ | ۶۶۵۹/۴ | ۳۴۸۴/۵ | ۴۹۰۵/۴ | ۴۰۰۵/۹ | ۳۲۳۲/۳ | ۱۱۶۹/۳ | ۱۱۱۴/۲ | ۶۲۶/۷ | ۲۲/۸۴ | ۲۷/۸۱ | ۱۹/۴۴ |



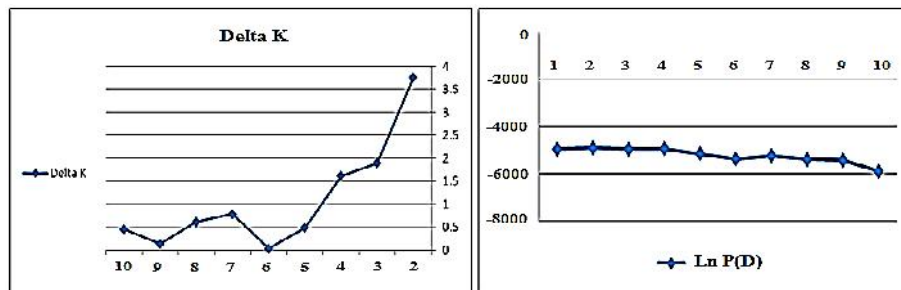
شکل ۱- الگوی بانندی تکثیر شده توسط جفت آغازگر U81-U82 (IRAP - شکل بالایی) و U82-UBC827 (REMAP - شکل پایینی) در تعدادی از توده‌های آفتابگردان مورد مطالعه

Figure 1. IRAP (U81-U82; the figure up) and REMAP (U82-UBC827; the figure below) fingerprints of some confectionery sunflower genotypes



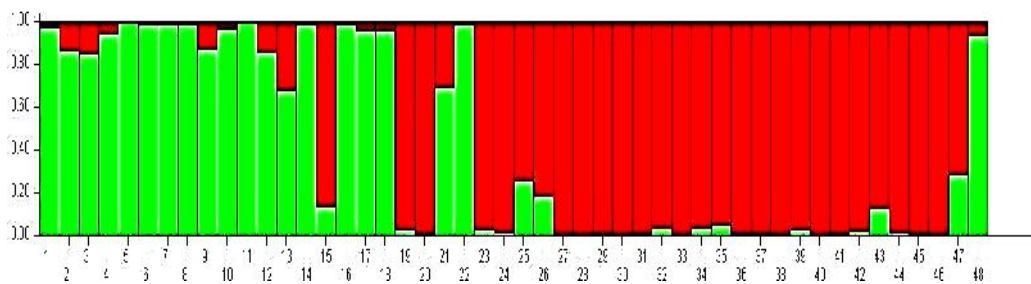
شکل ۲- دندروگرام توده‌های مختلف آفتابگردان آجیلی مورد مطالعه به روش Neighbor Joining. بر اساس ۱۲ آغازگر IRAP و REMAP

Figure 2. Cluster analysis of confectionery sunflower accessions by using Neighbor Joining method based on retrotransposon-based molecular markers data



شکل ۳- نمودارهای دوسویه برای تعیین تعداد مناسب زیر جمعیت در توده‌های آفتابگردان آجیلی مورد مطالعه ($K=2$) براساس نشانگرهای مبتنی بر رتروترانسپوزون IRAP و REMAP با استفاده از نرم‌افزار Structure

Figure 3. Bilateral charts to access the optimal number of sub-populations in studied confectionery sunflower panel ($K = 2$) based on retrotransposon-based molecular markers data in Structure software



شکل ۴- تجزیه کلاستر مبتنی بر مدل Bayesian برای ۴۸ توده آفتابگردان مورد مطالعه بر اساس ۱۲ 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.

Figure 4. Cluster analysis of 48 confectionery sunflower accessions based on retrotransposon-based molecular markers data by using Bayesian method in the software package of Structure. Each color shows one subpopulation or cluster. The numbers on horizontal and vertical axes correspond to the number and the membership coefficient of each genotype, respectively.

ایستازی، نوآرایی‌های ژنومی، رانده شدن و ایزولاسیون ژنتیکی، ساختار جمعیت، اندازه کوچک جمعیت، انتخاب و درجه خویشاوندی اشاره کرد. در حالیکه دگرآمیزی (آلوگامی)، تبدیل ژنی، مقادیر بالای نوترکیبی و موتاسیون و همچنین موتاسیون‌های دوره‌ای از عوامل کاهشدهنده مقدار LD می‌باشند (۲۰،۴).

بر اساس نتایج حاصل از این بررسی، شاخص عدم تعادل با احتمال ۹۰ درصد، ۱/۲۱ در نظر گرفته شد (شکل ۴). با توجه به اینکه در نقشه‌یابی ارتباطی تمام رویدادهای می‌وزی که در طول تاریخچه تکاملی گیاه انباشته شده است، در نظر گرفته می‌شود، بنابراین عدم تعادل لینکاژی در این جمعیت‌ها بسیار سریع‌تر از جمعیت‌های نقشه‌یابی لینکاژی از بین می‌رود. پس نقشه‌یابی ارتباطی می‌تواند وضوح بیشتری از چند شکلی و تغییرات صفات را در اختیار قرار دهد (۳۱،۲۹). همچنین درجه و قدرت وضوح نقشه‌یابی به دامنه LD بستگی دارد (۲۶)، لذا زمانیکه LD با افزایش فاصله ژنتیکی به سرعت کاهش می‌یابد، وضوح بیشتری انتظار می‌رود که نتایج حاصل از این بررسی تا حدود زیادی مؤید این واقعیت می‌باشد.

در مطالعات ژنتیکی، ساختار جمعیت برای توضیح روابط بین افراد درون و بین جمعیت‌ها استفاده می‌شود و چشم‌اندازی را در رابطه با روابط تکاملی افراد در یک جمعیت ارائه می‌کند. وجود چنین چیزی که در جمعیت‌های نقشه‌یابی در نظر گرفته نمی‌شود، به افزایش احتمال اشتباه نوع اول که خود باعث ارزیابی برآوردهای اثرات آلی می‌شود، منجر می‌شود (۲۴). به علاوه نادیده گرفتن ساختار جمعیت در جمعیت‌های نقشه‌یابی، به علت همبستگی کمتر بین نشانگرها و ژن‌ها که ناشی از کاهش عدم تعادل پیوستگی (LD) است، باعث کاهش قدرت آماری می‌شود (۱۲). بنابراین در نظر گرفتن ساختار جمعیت در مطالعات نقشه‌یابی ارتباطی به منظور شناسایی واریانت‌های کمیاب در مکان‌هایی که بین جمعیت‌ها متغیر هستند، ولی بطور شایعی درون زیرجمعیت‌ها تثبیت شده‌اند، مهم می‌باشد (۵،۹).

عدم تعادل پیوستگی (LD)

علاوه بر در نظر گرفتن ساختار جمعیت در مطالعات نقشه‌یابی ارتباطی، وجود عدم تعادل پیوستگی در منطقه ژنومی مورد نظر نیز یک پیش نیاز می‌باشد (۴). از عوامل افزایش دهنده مقدار LD می‌توان به سیستم اتوگامی،

مکان‌یابی ارتباطی تحمل به شوری در ژرم‌پلاسم پنبه اظهار داشتند که استفاده از مدل MLM به کاهش نتایج مثبت دروغین (ارتباطات کاذب نشانگر- صفت) و اریبی کمتر نتایج کمک زیادی می‌کند.

در این بررسی برای اکثر صفات ارزیابی شده، تعدادی نشانگر مشترک هم با مدل خطی عمومی و هم با مدل خطی مخلوط شناسایی شدند. به عنوان مثال نشانگرهای LTR1064-UBC826 و U81-U82 با استفاده از هر دو مدل ارتباطی مذکور به عنوان نشانگرهای مرتبط با صفت عملکرد دانه شناسایی شدند.

وجود نشانگرهای مشترک در میان برخی صفات بررسی شده در مطالعه حاضر ممکن است ناشی از اثرات پلیوتروپی و یا پیوستگی نواحی ژنومی دخیل در این صفات باشد (۱۳). علاوه بر این در این بررسی وجود نشانگرهای مشترک برای یک صفت خاص در محیط‌هایی با سطوح تنش مختلف (به عنوان مثال ارتباط نشانگر U82-UBC857 با صفت وزن خشک برگ تحت هر سه شرایط نرمال، تنش ملایم و شدید) می‌تواند حاکی از عدم وجود اثر متقابل بین این نشانگرها با محیط باشد. بنابراین می‌توان از آن‌ها به عنوان نشانگرهای پیوسته با این صفات و مستقل از محیط، در برنامه‌های مختلف اصلاح آفتابگردان استفاده نمود.

با توجه به محدودیت‌های روش نقشه‌یابی لینکاژی از قبیل در دست نبودن جمعیت‌های در حال تفرق و زمان طولانی لازم جهت ایجاد آن‌ها، روش تجزیه ارتباطی با از بین بردن این محدودیت‌ها اطلاعات نشانگری مناسبی را در اختیار محققان قرار می‌دهد. بدیهی است پس از آزمایش‌های تکمیلی و تأیید نتایج، می‌توان از نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات زراعی مهم با ایجاد نشانگرهای SCAR در روش اصلاحی انتخاب به کمک نشانگر (MAS) و مطالعه ساختار جمعیت‌ها استفاده نمود (۲۵). همچنین با توالی‌یابی QTL‌های دارای R^2 بالا می‌توان برای شناسایی ژن‌های کد کننده صفات اقدام نمود.

پنجاه و چهار مکان مرتبط تحت شرایط تنش شدید شامل ۲ مکان با وزن خشک برگ، ۲ مکان با وزن تر برگ، ۴ مکان با تعداد برگ فعال، ۷ مکان با وزن خشک طبق، ۴ مکان با وزن تر طبق، ۷ مکان با قطر طبق، ۵ مکان با وزن خشک طبق با دانه، ۱ مکان با ارتفاع گیاه، ۲ مکان با وزن خشک ساقه، ۲ مکان با وزن تر ساقه، ۲ مکان با قطر ساقه، ۲ مکان با محیط ساقه، ۱ مکان با شاخص برداشت، ۱ مکان با کلروفیل، ۱ مکان با تلاش بازآوری، ۳ مکان با عملکرد بیولوژیک، ۲ مکان با تعداد دانه در طبق، ۱ مکان با درصد پوکی، ۳ مکان با عملکرد دانه و ۲ مکان با تعداد دانه در واحد سطح می‌باشند.

تعداد مکان‌های ژنی مرتبط (۲۳ مکان) تحت شرایط آبیاری نرمال شامل ۲ مکان با وزن خشک برگ، ۱ مکان با وزن تر برگ، ۶ مکان با تعداد برگ فعال، ۳ مکان با ارتفاع گیاه، ۱ مکان با وزن خشک ساقه، ۱ مکان با وزن تر ساقه، ۱ مکان با قطر ساقه، ۱ مکان با محیط ساقه، ۲ مکان با شاخص برداشت، ۱ مکان با تلاش بازآوری، ۱ مکان با عملکرد بیولوژیک، ۱ مکان با تعداد دانه در طبق، ۱ مکان با درصد پوکی و ۲ مکان با تعداد دانه در واحد سطح می‌باشند. وانیتا و همکاران (۳۲) با استفاده از نشانگرهای SSR، ۲۹ نشانگر را در آفتابگردان شناسایی نمودند که رابطه معنی‌داری با صفات مختلف آگرومورفولوژیک نشان می‌دادند. همچنین فوزاری و همکاران (۱۰) با روش تجزیه ارتباط، مکان‌های ژنی کنترل‌کننده مقاومت به بیماری اسکروتینیا در آفتابگردان را شناسایی کردند.

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 بعنوان کواریت در نظر گرفته می‌شوند و بنابراین ارتباطات و پیوستگی‌های دروغین بین نشانگر و صفت به حداقل می‌رسد. با کاربرد مدل MLM در ذرت نیز، بهبود معنی‌داری در کاهش نتایج مثبت دروغین در بررسی صفاتی مانند زمان گلدهی، وزن خوشه و قطر خوشه در مقایسه با مدل‌های خطی منفرد K یا Q نشان داده شده است (۳۵). همچنین سعید و همکاران (۲۷) در

جدول ۴- نشانگرهای پیوسته با صفات ارزیابی شده در توده‌های آفتابگردان آجیلی بر اساس مدل GLM
 Table 4. Retrotransposon-based molecular marker identified for evaluated traits in confectionery sunflower panel by using general linear model (GLM)

| صفت | تنش | نشانگر | P-value | R ² | صفت | تنش | نشانگر | P-value | R ² | | |
|------------------|---------------|----------|----------|----------------|------------------|---------|-----------------|---------|----------------|-------|------|
| وزن بخش میانی | ملایم | U82-857 | ./۰۰۳ | ./۱۸ | مقاوم به پوسیدگی | ملایم | - | - | - | | |
| | | 1063-826 | ./۰۰۳ | ./۱۹ | | | شدید | CR-UR1 | ./۰۰۶ | ./۱۲ | |
| | | U82-857 | ./۰۰۹ | ./۱۲ | | | شدید | CR-UR1 | ./۰۰۱ | ./۱۵ | |
| | نرمال | 1063-826 | ./۰۰۹ | ./۱۷ | | نرمال | CR-UR1 | ./۰۰۷ | ./۱۱ | | |
| | | U82-857 | ./۰۰۸ | ./۱۵ | | ملایم | CR | ./۰۰۵ | ./۰۹ | | |
| | | 1063-826 | ./۰۰۸ | ./۱۴ | | | u81-u82 | ./۰۰۳ | ./۱۲ | | |
| U82-857 | ./۰۰۳ | ./۱۴ | CR-816 | ./۰۰۳ | ./۱۴ | | | | | | |
| وزن بخش بالایی | ملایم | U82-857 | ./۰۰۳ | ./۱۴ | شدید | CR | ./۰۰۴ | ./۲۶ | | | |
| | | 1063-826 | ./۰۰۳ | ./۱۶ | | u81-u82 | ./۰۰۷ | ./۲۱ | | | |
| | | U82-857 | ./۰۰۷ | ./۱۱ | | نرمال | CR-816 | ./۰۰۴ | ./۱۵ | | |
| | نرمال | 1063-826 | ./۰۰۷ | ./۱۳ | ملایم | CR-816 | ./۰۰۳ | ./۱۷ | | | |
| | | CF | ./۰۰۹ | ./۰۶ | | u81-u82 | ./۰۰۳ | ./۱۵ | | | |
| | | U82-857 | ./۰۰۷ | ./۱۱ | | CR | ./۰۰۶ | ./۱۱ | | | |
| آب و رطوبت | ملایم | 1062 | ./۰۰۸ | ./۱۰ | شدید | u81-u82 | ./۰۰۷ | ./۰۹ | | | |
| | | 1064-826 | ./۰۰۸ | ./۱۷ | | CR | ./۰۰۵ | ./۰۶ | | | |
| | | u82-857 | ./۰۰۷ | ./۱۵ | | نرمال | CR-816 | ./۰۰۴ | ./۱۸ | | |
| | | شدید | 1063-826 | ./۰۰۸ | ./۰۶ | ملایم | - | - | - | | |
| | | | 1062 | ./۰۰۲ | ./۱۴ | | CR-816 | ./۰۰۵ | ./۱۶ | | |
| | | | 1064-826 | ./۰۰۲ | ./۱۲ | | u82-857 | ./۰۰۲ | ./۱۹ | | |
| | نرمال | 1062 | ./۰۰۳ | ./۱۵ | نرمال | U81-857 | ./۰۰۷ | ./۱۵ | | | |
| | | u82-857 | ./۰۰۶ | ./۱۱ | | ملایم | U81-857 | ./۰۰۲ | ./۱۶ | | |
| | | 1063-826 | ./۰۰۶ | ./۱۲ | | شدید | 1062 | ./۰۰۵ | ./۱۱ | | |
| | | نرمال | u82-857 | ./۰۰۴ | ./۱۴ | ملایم | - | - | - | | |
| | | | 1063-826 | ./۰۰۳ | ./۱۴ | | u82-857 | ./۰۰۷ | ./۲۲ | | |
| | | | 1064-826 | ./۰۰۲ | ./۱۹ | | نرمال | CR-UR1 | ./۰۰۲ | ./۱۶ | |
| نسبت شاخص برآورد | ملایم | 1062 | ./۰۰۴ | ./۱۸ | تلاش برای آلودگی | ملایم | - | - | - | | |
| | | 1064-826 | ./۰۰۴ | ./۲۱ | | | u82-857 | ./۰۰۷ | ./۲۲ | | |
| | | u81-u82 | ./۰۰۱ | ./۲۲ | | | نرمال | CR-UR1 | ./۰۰۲ | ./۱۶ | |
| | | شدید | u81-u82 | ./۰۰۱ | | ./۲۴ | عملکرد بیولوژیک | ملایم | u82-857 | ./۰۰۵ | ./۱۸ |
| | | | 1064-826 | ./۰۰۱ | | ./۱۸ | | | 1063-826 | ./۰۰۳ | ./۲۳ |
| | | | 1064-826 | ./۰۰۱ | | ./۱۳ | | | u81-u82 | ./۰۰۶ | ./۱۰ |
| | نرمال | u82-857 | ./۰۰۲ | ./۱۷ | u81-u82 | ./۰۰۴ | | ./۱۴ | | | |
| | | u81-u82 | ./۰۰۶ | ./۱۱ | u81-u82 | ./۰۰۳ | | ./۱۶ | | | |
| | | CR-UR1 | ./۰۰۵ | ./۱۲ | 1064-826 | ./۰۰۲ | | ./۱۸ | | | |
| | وزن بخش میانی | شدید | u82-857 | ./۰۰۲ | ./۱۷ | ملایم | CR-UR1 | ./۰۰۷ | ./۰۶ | | |
| | | | u81-u82 | ./۰۰۶ | ./۱۱ | | CR-UR1 | ./۰۰۵ | ./۱۰ | | |
| | | | CR-UR1 | ./۰۰۵ | ./۱۲ | | 1064-826 | ./۰۰۸ | ./۰۶ | | |

ادامه جدول ۴-

Table 4. Continued

| صفت | تنش | نشانیگر | P-value | R ² | صفت | تنش | نشانیگر | P-value | R ² |
|---------------|---------|----------|---------|----------------|---------------|----------|----------|---------|----------------|
| تعمیر برگ (۶) | ملازم | 1062 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۵ | تعمیر برگ (۶) | ملازم | 1064-826 | ۰/۰۰۴ | ۰/۱۲ |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۷ | | | CF-CR | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۸ |
| | شدید | u81-u82 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۱ | | CR | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۷ | |
| | | u81-u82 | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۳ | | CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۴ | |
| | نرمال | - | - | - | | شدید | CR-UR1 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۰ |
| تعمیر برگ (۶) | ملازم | CF | ۰/۰۰۴ | ۰/۲۱ | ملازم | - | - | - | |
| | | u81-u82 | ۰/۰۰۱ | ۰/۲۲ | | شدید | CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۷ |
| | شدید | u81-u82 | ۰/۰۰۳ | ۰/۲۱ | نرمال | CR-UR1 | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۸ | |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۷ | شدید | - | - | - | |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۲ | ۰/۲۰ | | 1064-826 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۹ | |
| | | u82-857 | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۲ | | 1064-826 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۸ | |
| | | CR-UR1 | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۶ | | u82-857 | ۰/۰۰۷ | ۰/۲۲ | |
| | u81-u82 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۸ | 1063-826 | | ۰/۰۰۷ | ۰/۲۰ | | |
| نرمال | - | - | - | u81-u82 | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۸ | | | |
| تعمیر برگ (۶) | ملازم | 1062 | ۰/۰۰۷ | ۰/۲۰ | u81-u82 | ۰/۰۰۲ | ۰/۱۶ | | |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۸ | نرمال | - | - | | |
| | شدید | u81-u82 | ۰/۰۰۲ | ۰/۱۴ | نرمال | 1064-826 | ۰/۰۰۴ | ۰/۱۲ | |
| | | u81-u82 | ۰/۰۰۴ | ۰/۱۶ | | CF-CR | ۰/۰۰۲ | ۰/۱۰ | |
| | | u81-u82 | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۵ | | CR | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۶ | |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۸ | | u81-u82 | ۰/۰۰۸ | ۰/۱۴ | |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۸ | | 1064-826 | ۰/۰۰۸ | ۰/۱۹ | |
| | u82-857 | ۰/۰۰۷ | ۰/۱۱ | u81-u82 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۶ | | | |
| نرمال | - | - | - | 1062 | ۰/۰۰۸ | ۰/۱۰ | | | |
| تعمیر برگ (۶) | ملازم | 1062 | ۰/۰۰۶ | ۰/۱۹ | نرمال | CF-CR | ۰/۰۰۴ | ۰/۱۹ | |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۷ | ۰/۱۲ | | CR-816 | ۰/۰۰۴ | ۰/۲۳ | |
| | | u82-857 | ۰/۰۰۹ | ۰/۱۵ | | 1062 | ۰/۰۰۷ | ۰/۲۰ | |
| | شدید | 1063-826 | ۰/۰۱ | ۰/۱۳ | ملازم | CR-816 | ۰/۰۰۸ | ۰/۱۲ | |
| | | u82-857 | ۰/۰۰۷ | ۰/۱۷ | | u81-u82 | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۰ | |
| | | u81-u82 | ۰/۰۰۷ | ۰/۰۸ | | CR | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۵ | |
| | | u81-u82 | ۰/۰۰۴ | ۰/۰۸ | | نرمال | 1063-826 | ۰/۰۰۷ | ۰/۱۸ |
| | | 1064-826 | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۰ | | | CR-UR1 | ۰/۰۰۲ | ۰/۲۰ |
| 1064-826 | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۴ | CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | ۰/۲۳ | | | | |
| CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | ۰/۱۱ | CR-816 | ۰/۰۰۴ | ۰/۲۱ | | | | |
| شدید | CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | ۰/۲۳ | نرمال | - | - | - | | |
| | CR-UR1 | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۷ | | شدید | - | - | | |
| نرمال | CR-UR1 | ۰/۰۰۵ | ۰/۱۵ | نرمال | - | - | - | | |
| | U81-857 | ۰/۰۰۷ | ۰/۱۳ | | | | | | |

جدول ۵- نشانگرهای پیوسته با صفات ارزیابی شده در توده‌های آفتابگردان آجیلی بر اساس مدل MLM

Table 5. Retrotransposon-based molecular marker identified for evaluated traits in confectionery sunflower panel by using mixed linear model (MLM)

| صفت | تنش | نشانگر | P-value | صفت | تنش | نشانگر | P-value | |
|--------------|--------|---------|----------|------------------------|----------|----------|---------|-------|
| ارتفاع گیاه | ملاپیم | CR | ۰/۰۰۳ | کلروفیل | ملاپیم | U81-857 | ۰/۰۰۳ | |
| | | CR-816 | ۰/۰۰۸ | | شدید | 1062 | ۰/۰۰۵ | |
| | | U81-U82 | ۰/۰۰۱ | | نرمال | - | - | |
| | شدید | CF | ۰/۰۰۱ | تلاش بازآوری | ملاپیم | u82-857 | ۰/۰۰۳ | |
| | | CR-UR1 | ۰/۰۰۲ | | شدید | u82-857 | ۰/۰۰۸ | |
| | | نرمال | 1063-826 | | ۰/۰۰۷ | نرمال | CR-UR1 | ۰/۰۰۲ |
| وزن خشک ساقه | ملاپیم | - | - | عملکرد بیولوژیکی | ملاپیم | u82-857 | ۰/۰۰۵ | |
| | | CR-UR1 | ۰/۰۰۳ | | شدید | 1063-826 | ۰/۰۰۵ | |
| | | CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | | شدید | CR-UR1 | ۰/۰۰۴ | |
| | نرمال | CR-UR1 | ۰/۰۰۵ | | شدید | u81-u82 | ۰/۰۰۶ | |
| وزن تر ساقه | ملاپیم | - | - | نرمال | 1064-826 | ۰/۰۰۶ | | |
| | | CR-UR1 | ۰/۰۰۴ | تعداد دانه در طبق | ملاپیم | 1064-826 | ۰/۰۱۰ | |
| | | CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | | CF-CR | ۰/۰۱۰ | | |
| نرمال | CR-UR1 | ۰/۰۰۷ | CR | | ۰/۰۱۰ | | | |
| قطر ساقه | ملاپیم | u81-u82 | ۰/۰۰۳ | درصد پوک | شدید | 1062 | ۰/۰۰۵ | |
| | | CR | ۰/۰۰۱ | | نرمال | CR-UR1 | ۰/۰۰۴ | |
| | | CR-816 | ۰/۰۰۴ | | ملاپیم | CR-816 | ۰/۰۰۳ | |
| | شدید | u81-u82 | ۰/۰۰۵ | | شدید | - | - | |
| | نرمال | CR | ۰/۰۰۴ | | نرمال | CR-UR1 | ۰/۰۰۱ | |
| محیط ساقه | ملاپیم | CR-816 | ۰/۰۰۳ | عملکرد دانه | ملاپیم | - | - | |
| | | CR | ۰/۰۰۱ | | شدید | u81-u82 | ۰/۰۰۶ | |
| | | u81-u82 | ۰/۰۰۲ | | شدید | u82-857 | ۰/۰۰۷ | |
| | شدید | u81-u82 | ۰/۰۰۵ | | شدید | 1063-826 | ۰/۰۰۷ | |
| | نرمال | CR | ۰/۰۰۴ | | نرمال | - | - | |
| شاخص برداشت | ملاپیم | - | - | تعداد دانه در واحد سطح | ملاپیم | 1064-826 | ۰/۰۱۰ | |
| | | شدید | CR-816 | | ۰/۰۰۵ | شدید | CF-CR | ۰/۰۱۰ |
| | | نرمال | CR-816 | | ۰/۰۰۴ | شدید | CR | ۰/۰۱۰ |
| | نرمال | u82-857 | ۰/۰۰۲ | | نرمال | CF-CR | ۰/۰۰۵ | |
| | | U81-857 | ۰/۰۰۷ | | نرمال | CR-816 | ۰/۰۰۵ | |

Table 5. Continued

| صفت | تنش | نشانگر | P-value | صفت | تنش | نشانگر | P-value |
|------------------|----------|----------|----------|---------------------|----------|----------|---------|
| وزن خشک برگ | ملایم | u82-857 | -/۰.۰۳ | وزن تر طبق | ملایم | CR | -/۰.۰۲ |
| | | 1063-826 | -/۰.۰۳ | | | 1062 | -/۰.۰۶ |
| | | | | | | 1064-826 | -/۰.۰۶ |
| | شدید | u82-857 | -/۰.۰۹ | | شدید | u81-u82 | -/۰.۰۶ |
| | | 1063-826 | -/۰.۰۸ | | | u81-u82 | -/۰.۰۵ |
| | | | | | | 1064-826 | -/۰.۰۶ |
| نرمال | u82-857 | -/۰.۰۹ | نرمال | 1064-826 | -/۰.۰۴ | | |
| | 1063-826 | -/۰.۰۹ | | - | - | | |
| | | | | CF | -/۰.۰۴ | | |
| وزن تر برگ | ملایم | u82-857 | -/۰.۰۳ | فقط طبق | شدید | CR-UR1 | -/۰.۰۵ |
| | | 1063-826 | -/۰.۰۳ | | | u81-u82 | -/۰.۰۱ |
| | | | | | | u81-u82 | -/۰.۰۱ |
| شدید | u82-857 | -/۰.۰۷ | 1064-826 | | | -/۰.۰۱ | |
| | 1063-826 | -/۰.۰۷ | 1064-826 | | | -/۰.۰۱ | |
| | | | u81-u82 | | | -/۰.۰۲ | |
| نرمال | CF | -/۰.۰۹ | u82-857 | -/۰.۰۶ | | | |
| | | | - | - | | | |
| | | | - | - | | | |
| تعداد برگ فعال | ملایم | u82-857 | -/۰.۰۸ | وزن تر طبق با دانه | ملایم | 1062 | -/۰.۰۷ |
| | | 1063-826 | -/۰.۰۸ | | | 1064-826 | -/۰.۰۷ |
| | | 1062 | -/۰.۰۹ | | | CR | -/۰.۰۳ |
| | شدید | 1064-826 | -/۰.۰۸ | | شدید | - | - |
| | | 1062 | -/۰.۰۲ | | | - | - |
| | | 1064-826 | -/۰.۰۱ | | | - | - |
| وزن خشک برگ فعال | شدید | u82-857 | -/۰.۰۷ | وزن خشک طبق با دانه | ملایم | 1063-826 | -/۰.۰۹ |
| | | 1063-826 | -/۰.۰۷ | | | u82-857 | -/۰.۰۹ |
| | | 1062 | -/۰.۰۲ | | | CR | -/۰.۰۵ |
| | نرمال | 1064-826 | -/۰.۰۲ | | | 1062 | -/۰.۰۵ |
| | | u82-857 | -/۰.۰۴ | | | 1064-826 | -/۰.۰۶ |
| | | 1063-826 | -/۰.۰۳ | | | u81-u82 | -/۰.۰۱ |
| وزن خشک طبق | ملایم | 1063-826 | -/۰.۰۶ | شدید | 1064-826 | -/۰.۰۱ | |
| | | u82-857 | -/۰.۰۶ | | 1064-826 | -/۰.۰۱ | |
| | | 1063-826 | -/۰.۰۶ | | CR-UR1 | -/۰.۰۷ | |
| | شدید | 1062 | -/۰.۰۳ | | u82-857 | -/۰.۰۶ | |
| | | 1064-826 | -/۰.۰۳ | | - | - | |
| | | CR | -/۰.۰۲ | | - | - | |
| وزن خشک برگ طبق | شدید | CR-UR1 | -/۰.۰۵ | نرمال | 1064-826 | -/۰.۰۱ | |
| | | u81-u82 | -/۰.۰۶ | | 1064-826 | -/۰.۰۱ | |
| | | u81-u82 | -/۰.۰۱ | | 1064-826 | -/۰.۰۱ | |
| | نرمال | u81-u82 | -/۰.۰۴ | | CR-UR1 | -/۰.۰۷ | |
| | | 1064-826 | -/۰.۰۲ | | u82-857 | -/۰.۰۶ | |
| | | 1064-826 | -/۰.۰۱ | | - | - | |
| | u82-857 | -/۰.۰۱ | - | - | | | |

شود و بدین ترتیب کارایی کاربرد این نشانگرها در برنامه‌های اصلاحی افزایش یابد.

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم پژوهشکده زیست‌فناوری و همچنین دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه بدلیل فراهم آوردن امکانات آزمایشگاهی کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

در کل نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از مدل‌های مختلف ارتباطیابی (GLM و MLM) همراه با ترکیبی از نشانگرهای مختلف می‌تواند در شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات آگرومورفولوژیک در آفتابگردان مؤثر باشد. همچنین پیشنهاد می‌شود ضمن استفاده از تعداد نشانگرهای بیشتر در مطالعات آتی، نشانگرهای شناسایی شده در چنین مطالعاتی، در جمعیت‌های بزرگ نیز مورد بررسی قرار گیرند تا از ارتباط آن‌ها با صفات مورد مطالعه اطمینان حاصل

منابع

- Abdi, N., R. Darvishzadeh, M. Jafari, A. Pirzad and P. Haddadi. 2012. Genetic analysis and QTL mapping of agro-morphological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under two contrasting water treatment conditions. *Plant Omics Journal*, 5: 149-158.
- Abdollahi Mandoulakani, B., Y. Piri, R. Darvishzadeh, I. Bernoosi and M. Jafari. 2012. Retroelement insertional polymorphism and genetic diversity in *Medicago sativa* populations revealed by IRAP and REMAP markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 30: 286-296.
- Allinne, C., P. Maury, A. Sarrafi and P. Grieu. 2009. Genetic control of physiological traits associated to low temperature growth in sunflower under early sowing conditions. *Plant Science*, 177: 349-359.
- Al-Maskri, A.H., M. Sajjad and S.H. Khan. 2012. Association mapping: a step forward to discovering new alleles for crop improvement. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14: 153-160.

5. Breseghello, F. and M.E. Sorrells. 2006. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, 172: 1165-1177.
6. Davar R., R. Darvishzadeh, A. Majd, Y. Ghosta and A. Sarrafi. 2010. QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. *Phytopathologia Mediterranea*, 49: 330- 341.
7. Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
8. Evanno, G., S. Regnaut and J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611-2620.
9. Flint-Garcia, S.A., A.C. ThUILlet, J. Yu, G. Pressoir, S.M. Romero, S.E. Mitchell, J. Doebley, S. Kresovich, M.M. Goodman and E.S. Buckler. 2005. Maize association population: A high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *Plant Journal*, 44: 1054-1064.
10. Fusari CM., J.A.D. Rienzo, C. Troglia, V. Nishinakamasu, M.V. Moreno, C. Maringolo, F. Quiroz, D. Álvarez, A. Escande, E. Hopp, R. Heinz, V.V. Lia and N.B. Paniego. 2012. Association mapping in sunflower for *Sclerotinia* head rot resistance. *BMC Plant Biology*, 12: 1-13.
11. Gholinezhad, E. 2014. Effect of water deficit stress, different rates of nitrogen and plant density on remobilization, current photosynthesis and grain yield in sunflower. *Journal of Oil Plants Production*, 1: 44-63.
12. Gordon, D. and S.J. Finch. 2005. Factors affecting statistical power in the detection of genetic association. *Journal of Clinical Investigation*, 115: 1408-1418.
13. Jun, T.H., K. Van, M.Y. Kim, S.H. Lee and D.R. Walker. 2008. Association analysis using SSR markers to find QTL for seed protein content in soybean. *Euphytica*, 62: 179-191.
14. Karlsson, E.K., I. Baranowska, C.M. Wade, N.H.C.S. Hillbertz and M.C. Zody. 2007. Efficient mapping of Mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics*, 39: 1321-1328.
15. Kiani, P.S., P. Grieu, P. Hewezi, L. Gentzbittel and A. Sarrafi. 2007. Genetic variability for physiological traits under drought conditions and differential expression of water stress- associated genes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 114: 193- 207.
16. Lu, G. and E. Hoelt. 2007. Sunflower. A compendium of transgenic crop plants. Vol. 2, Oxford, Wiley-Blackwell.
17. Mackay, T.F.C., E.A. Stone and J.F. Ayroles. 2009. The genetics of quantitative traits: challenges and prospects. *Nature Reviews Genetics*, 10: 565-677.
18. Mandel, J.R., J.M. Dechaine, L.F. Marlek and J.M. Burke. 2011. Genetic diversity and population structure in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) and a comparison to its wild progenitor. *Theoretical and Applied Genetics*, 123: 693-704.
19. Nordborg, M. and S. Tavare. 2002. Linkage disequilibrium: What history has to tell us? *Trends in Genetics*, 18: 83-90.
20. Oraguzie, N.C., P.L. Wilcox, E.H.A. Rikkerink and H.N. De Silva. 2007. Linkage disequilibrium, Association Mapping in Plants, Springer, New York, NY, pp: 11-39.
21. Pasam, R.K., R. Sharma, M. Malosetti, F. Eeuwijk, G. Haseneyer, B. Kilian and A. Garner. 2012. Genome wide association studies for agronomical traits in a worldwide spring barely collection. *BMC Plant Biology*, 12: 1-16.
22. Perrier, X. and J.P. Jacquemoud-Collet. 2006. DARwin software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
23. Pritchard, J.K., M. Stephens and P. Donnelly. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
24. Rafalski, A. and M. Morgante. 2004. Corn and humans: recombination and linkage disequilibrium in two genomes of similar size. *Trends in Genetics*, 2: 103-111.
25. Rashidimonfarad, S., M. Mardi, A. Hosseinzade and M.R. Naghavi. 2006. Association analysis between important agronomy traits and SSAP retrotransposon markers in accessions of durum wheat. *Modern Genetics Journal*, 2: 29-36.
26. Remington, D.L., J.M. Thornsberry, Y. Matsuoka, L.M. Wilson, S.R. Whitt, J. Doebley, S. Kresovich, M.M. Goodman and E.S. Buckler. 2001. Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 98: 11479- 11484.
27. Saeed, M., G. Wangzhen and Z. Tianzhen. 2014. Association mapping for salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) germplasm from US and diverse regions of China. *Australian Journal of Crop Science*, 8: 338-346.
28. Skoric, D. 2009. Sunflower breeding for resistance to abiotic stresses. *Helia*, 32: 1-16.
29. Sköt, L., J. Humphreys, M.O. Humphreys, D. Thorogood, J. Gallagher, R. Sanderson, I.P. Armstead and I.D. Thomas. 2007. Association of candidate genes with flowering time and water-soluble carbohydrate content in *Lolium perenne* L. *Genetics*, 177: 535-547.
30. Spataro, G., B. Tiranti, P. Arcaleni, I.E. Bellucc, G. Attene, R. Papa, P. Spagnoletti Zeuli and V. Negri. 2011. Genetic diversity and structure of a worldwide collection of *Phaseolus coccineus* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 122: 1281-1291.
31. Tommasini, L., T. Schnurbusch, D. Fossati, F. Mascher and B. Keller. 2007. Association mapping of *Stagonospora nodorum* blotch resistance in modern European winter wheat varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 115: 697-708.
32. Vanitha, J., N. Manivannan and R. Chandirakala. 2014. Qualitative trait loci analysis for seed yield and component traits in sunflower. *African Journal of Biotechnology*, 13: 754-761.
33. Vollmann, J. and I. Rajcan. 2009. *Handbook of Plant Breeding*. Springer Dordrecht Heidelberg Condon New York.
34. Vukich, M., T. Giordani, G. Natali and A. Cavallini. 2009. Copia and Gypsy retrotransposons activity in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *BMC Plant Biology*, 9: 1471-2229-9-150.
35. Yu, J. and E.S. Buckler. 2006. Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current Opinion in Biotechnology*, 17: 155-160.
36. Zali, H., T. Hasanloo, O. Sofalian, A. Asghari and M. Zeinalabedini. 2016. Drought Stress Effect on Physiological Parameter and Amino Acids Accumulations in Canola. *Journal of Crop Breeding*, 8: 191-203.
37. Ziaiefard R., R. Darvishzadeh and I. Bernousi. 2016. Study of Genetic Diversity of Agro-Morphological Traits in Confectionery Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Populations using Multivariate Statistical Techniques. *Journal of Crop Breeding* 8: 42-54.

Identification of Retrotransposon Markers Associated with Agromorphological Traits in Confectionery Sunflower (*Helianthus annuus* L.) under Normal and Drought Stress Conditions

Marjan Jannatdoust¹, Reza Darvishzadeh², Heydar Azizi³, Mohammad Ali Ebrahimi⁴, Roghayeh ZiaEIFard¹ and Esmaeel Gholinezhad⁵

1- Graduated M.Sc., Urmia University

2- Professor, Urmia University, (Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

3- Sugar Beet Research, Education and Research Center for Agriculture and Natural Resources in Western Azerbaijan province, the research, education and extension, Urmia, Iran

4- Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Payame Noor University, Tehran

5- Associate Professor, Department of Agronomy, Payame Noor University, Tehran

Received: May 2, 2015 Accepted: November 1, 2015

Abstract

In this study, 12 retro transposons-based primers (7 IRAP and 5 REMAP primers) and general and mixed linear models (GLM and MLM) were used to identify molecular markers associated to 22 agro morphological traits in 48 different confectionery sunflower accessions. Studied accessions were divided into three main groups using Neighbor Joining method. Study of population structure as a prerequisite for association analysis showed that there is two possible subgroups ($K=2$) in the studied population. Based on GLM and MLM, 131 and 117 loci showed significant ($P<0.01$) association with assessed traits under different environmental conditions, respectively. Common markers between some of studied traits can be possibly due to pleiotropic effects or linkage between genomic regions involved in these traits. Obtained results from this study offered valuable information on the genetic basis of studied traits that can be used in breeding programs to production of high performance varieties of confectionery sunflower.

Keywords: Linkage disequilibrium, Molecular markers, Sunflower, Water-limited stress