دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

شناسایی نشانگرهای رتروترنسپوزونی 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 قلی‌نژاد[۵]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه
۲- استاد، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
۳- بخش تحقیقات چغندرقند، 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 رتروترنسپوزن (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=۲) در جمعیت مورد مطالعه وجود دارد. در تجزیه ارتباط به روش GLM و MLM، به ترتیب ۱۳۱ و ۱۱۷ مکان مرتبط (P<۰/۰۱) 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 ۲n=۲x=۳۴ 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 متغییر 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[1] راهکاری جدید و مناسب برای رسیدن به این هدف بوده و می‌توان از نتایج آن به خوبی در برنامه‌های به‌نژادی 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 کمّی (تجزیه QTL) عمدتاً به دو روش نقشه‌یابی پیوستگی[2] و نقشه‌یابی ارتباطی یا عدم تعادل پیوستگی[3] 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 کمّی 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

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

(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 آللی 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 (۲۸،۱۵).

علی‌رغم اهمیّت 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 ملکولی 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 مبتنی بر رتروترنسپوزون 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 آذربایجان‌غربی 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 وزن‌تر و خشک برگ، تعداد برگ فعال، وزن‌تر و خشک طبق، قطر طبق، وزن‌تر و خشک طبق با دانه، وزن هزار دانه، ارتفاع گیاه، وزن‌تر 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 فیزیولوژیک 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.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

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 جمع‌آوری	طول	عرض	شماره	کد	محل جمع‌آوری	طول	عرض
۱	۱	پیرانشهر (بالابان)	45°	36°	۲۵	۲۶	مرند (دیزج- قلمی)	45° 45´	38° 30´
۲	۲	ارومیه (نوشین‌شهر)	45°39´	37°53´	۲۶	۲۷	مرند (یامچی- پسته‌ای)	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 (وقاصلوی‌سفلی)	45° 0´	37° 40´
۵	۵	ارومیه (اردوشاهی ۱)	45° 0´	37° 40´	۲۹	۳۰	همدان ۲	48°32´	34°52´
۶	۶	سلماس (قره‌قشلاق- قلمی)	44°47´	38°11´	۳۰	۳۱	بانه ۱	45° 53´	35° 59´
۷	۷	پیرانشهر (اندیزه)	45°	36°	۳۱	۳۲	شبستر (کوزه‌کنان ۲)	45°	38°
۸	۹	سلماس (قزلجه ۲)	45°46´	38°17´	۳۲	۳۳	بانه ۲	45° 53´	35° 59´
۹	۱۰	سلماس (قره‌قشلاق- بادامی)	44°47´	38°11´	۳۳	۳۴	ملایر- سفید ۳	48° 51´	34° 19´
۱۰	۱۱	سقز ۵	46°20´	36°15´	۳۴	۳۵	شبستر (کوزه‌کنان ۳)	45°	38°
۱۱	۱۲	سقز ۴	46°20´	36°15´	۳۵	۳۶	مازندران (تیرتاش)	52° 0´	36° 30´
۱۲	۱۳	مشهد	59°35´	36°20´	۳۶	۳۷	شاهرود ۲	54°58´	36°25´
۱۳	۱۴	اصفهان (طلخونچه)	51°43´	32°39´	۳۷	۳۸	سردشت	48°52´	32°32´
۱۴	۱۵	سلماس (صدقیان)	44°47´	38°11´	۳۸	۳۹	شاهرود ۱	54°58´	36°25´
۱۵	۱۶	پیرانشهر (سروکانی)	45°	36°	۳۹	۴۰	مرند ۱ – ۱۳۸۹	45° 45´	38° 30´
۱۶	۱۷	اصفهان (دولت‌آباد)	51°43´	32°39´	۴۰	۴۱	سقز	46°20´	36°15´
۱۷	۱۸	ارومیه (انگنه ۴)	45° 0´	37° 40´	۴۱	۴۲	خوی ۶	45°00´	38°35´
۱۸	۱۹	میانه (بسین)	47°40´	37°30´	۴۲	۴۴	ارومیه (باباگنجه ۶)	45° 0´	37° 40´
۱۹	۲۰	ارومیه (وقاصلوی اولیا)	45° 0´	37° 40´	۴۳	۴۵	ارومیه (باروج)	45° 0´	37° 40´
۲۰	۲۱	ارومیه (جبل‌کندی ۳)	45° 0´	37° 40´	۴۴	۴۶	ارومیه (علی‌بگلو)	45° 0´	37° 40´
۲۱	۲۲	مرند ۲ – ۱۳۸۹	45° 45´	38° 30´	۴۵	۴۷	سقز ۳	46°20´	36°15´
۲۲	۲۳	شبستر کوزه‌کنان ۱	45°	38°	۴۶	۴۸	سقز ۱	46°20´	36°15´
۲۳	۲۴	همدان ۱	48°32´	34°52´	۴۷	۴۹	سنندج	46°31´	35°31´
۲۴	۲۵	خوی ۱۰	45°00´	38°35´	۴۸	۵۰	ارومیه (للو ۵)	45° 0´	37° 40´

ارزیابی مولکولی

DNA ژنومی توده‌ها به روش CTAB (۷) استخراج شد. برای هر توده از مخلوط برگ‌های 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 رتروترنسپوزون شامل ۷ آغازگر IRAP (LTR1062، CF، CR، U81، CF-CR، CR-U81 و U81-U82) و ۵ آغازگر REMAP (1064LTR- UBC826، CR-UBC816، U81-UBC827، U82- UBC827 و LTR1063-UBC826) استفاده شد (جدول ۲).

واکنش‌های 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 میلی‌مول از هر dNTP (Biofluxbiotech)، ۱/۱ واحد از آنزیم تگ‌پلی‌مراز (شرکت سیناژن، تهران، ایران) و ۱۰ میکرومول از هر آغازگر به همراه آب دیونیزه در دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. برنامه دمایی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بصورت: ۴ دقیقه واسرشت‌سازی اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۶ چرخه شامل ۴۰ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد (جهت واسرشت‌سازی)، ۴۰ ثانیه در دمای اتصال اختصاصی مربوط به هر آغازگر (جهت اتصال) و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (جهت بسط) و بسط نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه بود. تفکیک محصولات تکثیری با استفاده از ژل آگارز ۱/۸ درصد صورت گرفت. برای تعیین اندازه باندها نیز از نشانگر اندازه O'GeneRulerTM (شرکت فرمنتاز) استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

باندهای حاصل از نشانگرهای مورد استفاده بصورت یک (حضور) و صفر (عدم حضور) امتیازدهی شد. تجزیه کلاستر توده‌ها با روش Neighbor Joining با استفاده از نرم‌افزار DARwin5 نسخه 5.0.158 و با Bootstrap ۱۰۰ (دقت برآورد برای قرارگیری ژنوتیپ‌ها) انجام گردید (۲۲). معمولاً این روش مشکل زنجیره‌ای شدن (Chaining problem) در تجزیه خوشه‌ای را برطرف می‌کند. به دلیل استفاده از جمعیت‌های طبیعی در تجزیه ارتباطی، وجود نیروهای تکاملی در آن‌ها اجتناب‌ناپذیر بوده و نادیده گرفتن آن‌ها باعث ایجاد پیوستگی‌های دروغین نشانگر- صفت می‌شود. لذا به همین منظور ساختار ژنتیکی جمعیت و تعیین زیر جمعیت‌های احتمالی با روش گروه‌بندی Bayes و با استفاده از نرم‌افزار Structure (۲۳) انجام گرفت. ساختار جمعیت بر اساس داده‌های نشانگرها با استفاده از نرم‌افزار 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 زیرجمعیت‌های احتمالی) براساس روش delta K (ΔK) تعیین گردید (۸). در بارپلات حاصل، یک ژنوتیپ وقتی درصد عضویت اش بیشتر یا مساوی ۰/۷ باشد، به یک کلاستر خاص نسبت داده می‌شود، ولی در صورتی که درصد عضویت آن کمتر از این مقدار باشد، به عنوان ژنوتیپ ترکیبی (مخلوط شده) تعریف می‌شود (۳۰).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

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 از ۵۶ تا دارای مقادیر گم شده بودند و در نظر گرفتن آن‌ها به هنگام بررسی ساختار جمعیت و محاسبه ماتریس ساختار (ماتریس Q) احتمالا 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.

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

Table 2. Name and sequence of primers used in the presnt study

آغازگر رتروترنسپوزون	توالی آغازگر (۳-۵)	آغازگر ISSR	توالی آغازگر (۳-۵)
LTR-1062	TCTCTATTTATAGCCGGAGAGGTG	UBC-816	CACACACACACACACAT
LTR-1063	GATCCGGTTTCACGGGACTTAC	UBC-826	ACACACACACACACACAC
LTR-1064	CGAAGAACAAACCGAATCACC	UBC-827	ACACACACACACACACG
CF	GGTTTAGGTTCGTAATCCTCCGCG	–	–
CR	ACAGACACCAGTGGCACCAAC	–	–
U81(UF)	TAACGGTGTTCTGTTTTGCAGG	–	–
U82(UR1)	AGAGGGGAATGTGGGGGTTTCC	–	–

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 اهمیّت 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 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 دگرگشنی 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=۲) را در توده‌های مورد مطالعه شناسایی نمود و K=۲ 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).

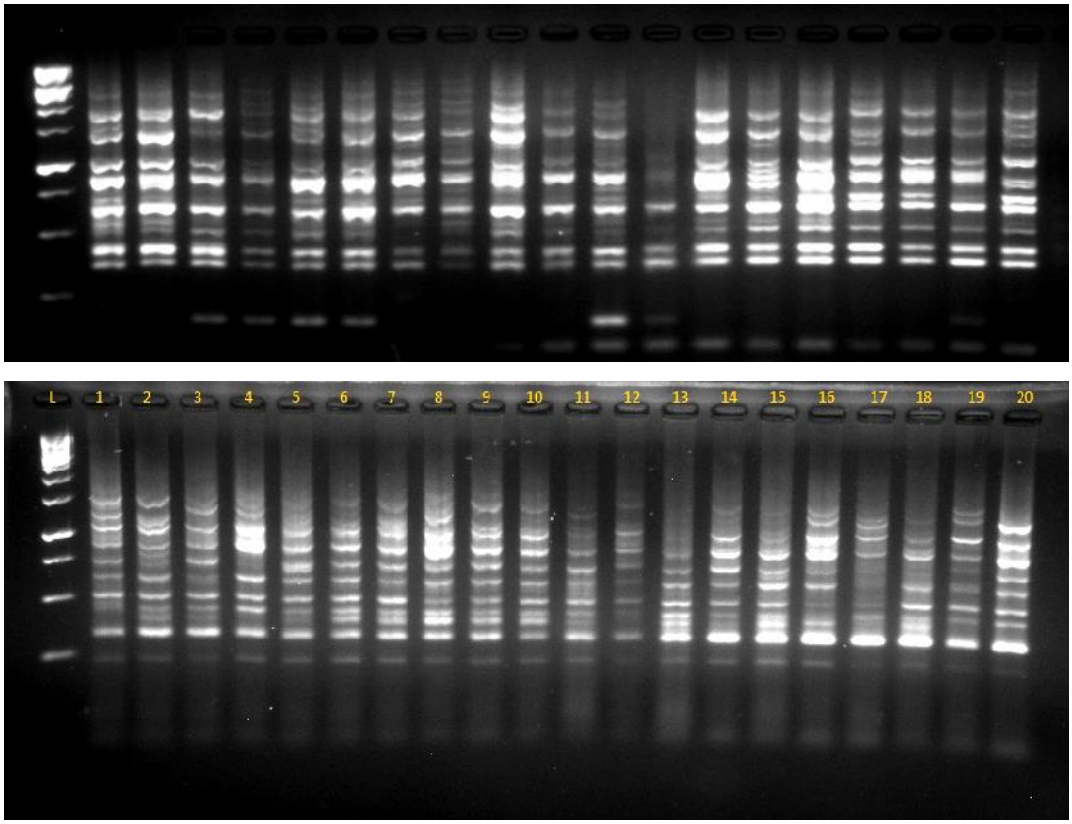
[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

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

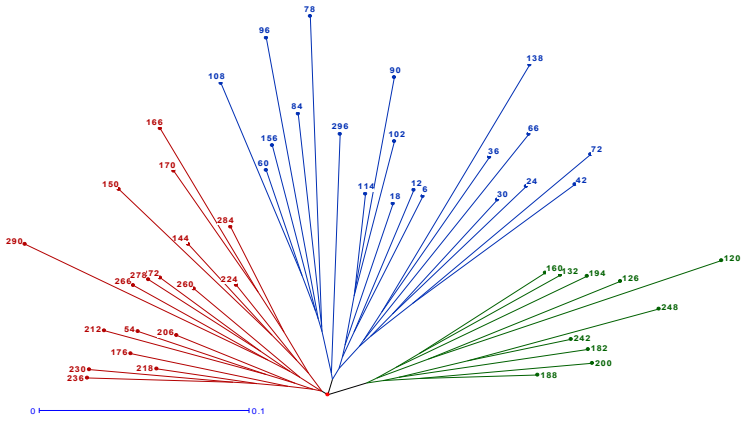
صفت	حداقل			حداکثر			میانگین			انحراف معیار			ضریب تغییرات		
	شرایط تنش			شرایط تنش			شرایط تنش			شرایط تنش			شرایط تنش		
	نرمال	ملایم	شدید	نرمال	ملایم	شدید	نرمال	ملایم	شدید	نرمال	ملایم	شدید	نرمال	ملایم	شدید
وزن خشک برگ (کیلوگرم در هکتار)	۸۴۰/۲	۴۲/۱	۷۹/۸	۷۸۲۶/۰۲	۵۱۰۰/۹	۳۸۴۶/۲	۳۵۵۸/۹	۲۱۷۰/۱	۱۳۷۸/۴	۱۴۹۵/۳	۹۶۳/۹	۶۸۹/۱	۴۲/۰۲	۴۴/۴۲	۴۹/۹۰
وزن‌تر 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	۴۰/۱۹	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)	۸۶۹/۰۴	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 ترطبق (کیلوگرم در هکتار)	۴۷۲/۳	۱۹۶۶/۴	۳۳۷۰/۲	۳۹۰۵/۵	۳۵۶۹۵/۵	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
وزن‌تر طبق با دانه (کیلوگرم در هکتار)	۷۶۱۲/۱	۳۳۱۷/۸	۵۵۵۸/۱	۵۵۱۸۸/۸	۵۰۳۳۳/۲	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	۳۲/۷۱	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	۵۴۹۷/۱	۳۵۷۶/۸	۳۴۷۹/۷	۲۴۷۹/۸	۱۲۴۴/۴	۳۹/۸۲	۴۵/۱۱	۳۴/۷۹
وزن‌تر 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	۴۳/۷۰	۵۲/۴۸
قطر ساقه (سانتی متر)	۱/۸۸	۱/۳۲	۱/۵۳	۳/۹۶	۳/۰۹	۲/۷۴	۲/۷۸	۲/۳۷	۲/۱۲	۰/۴۵	۰/۴۱	۰/۲۵	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	۱۶/۳۸	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	۲۷/۵۴	۲۱/۹۲	۱۹/۷۴	۴۶/۰۵	۳۹/۹۶	۳۳/۶۸	۳۴/۸۸	۳۰/۴۶	۲۶/۹۰	۴/۵۱	۳/۸۹	۳/۹۷	۱۲/۹۳	۱۲/۷۷	۱۴/۷۶
تلاش بازآوری	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۵۲	۰/۵۴	۰/۵۸	۰/۳۷	۰/۴۱	۰/۴۳	۰/۰۵	۰/۰۶	۰/۰۶	۱۳/۵۱	۱۴/۶۳	۱۳/۹۵
عملکرد بیولوژیک (کیلوگرم در هکتار)	۳۸۷۴/۰	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	۱۱۹۸/۸	۸۰۷/۳	۸۸۶/۱	۷۲۱/۲	۵۷۴/۵	۲۲۷/۴	۲۰۰/۶	۱۲۲/۶	۲۵/۶۶	۲۷/۸۱	۲۱/۳۴
درصد پوکی (٪)	۱/۷۷	۱/۴۱	۶/۵۸	۲۴/۵۱	۳۵/۸۳	۵۲/۶۷	۱۰/۷۴	۱۷/۲۴	۳۰/۰۳	۶/۶۴	۶/۶۳	۹/۹۹	۴۳/۲۰	۳۸/۴۶	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	۴۴۸۴/۵	۴۹۰۵/۴	۴۰۰۵/۹	۳۲۲۳/۳	۱۱۶۹/۳	۱۱۱۴/۲	۶۲۶/۷	۲۳/۸۴	۲۷/۸۱	۱۹/۴۴

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]



شکل ۱– الگوی باندی تکثیر شده توسط جفت آغازگر U81-U82 (IRAP – شکل بالایی) وU82-UBC827 (REMAP – شکل پایینی) در تعدادی از توده‌های آفتابگردان مورد مطالعه

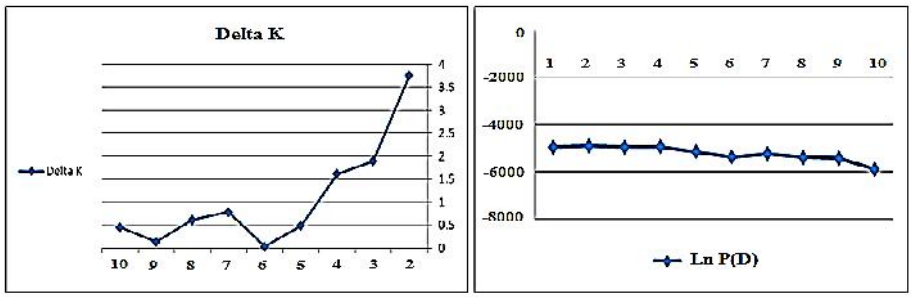
Figure 1. IRAP (U81-U82; the figure up) and REMAP (U82_UBC827; the figure below) fingerprints of some confectionery sunflower genotypes



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

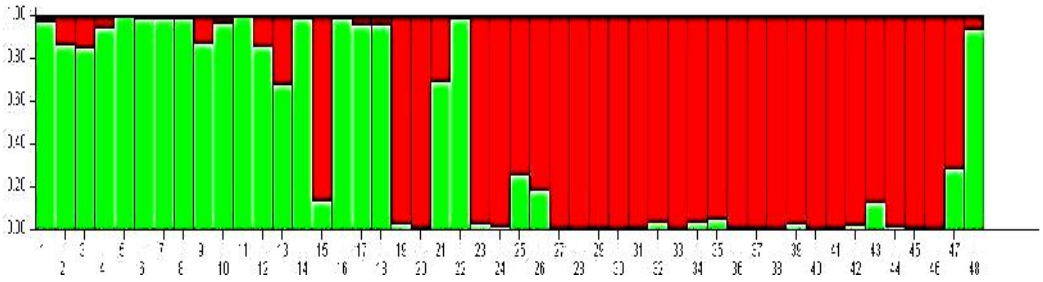
Figure 2. Cluster analysis of confectionery sunflower accessions by using Neighbor Joining method based on retrotransposon-based molecular markers data

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]



شکل ۳- نمودارهای دوسویه برای تعیین تعداد مناسب زیر جمعیت در توده‌های‌آفتابگردان آجیلی مورد مطالعه (K=۲) براساس نشانگرهای مبتنی بر رتروترنسپوزون 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=۲). 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 confectionary sunflower accessions based on retrotransposon-based molecular markers data by using Bayesian method in the software pakage 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.

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 اریبی برآوردهای اثرات آللی 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، اپیستازی، 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 کاهنده 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.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]



شکل ۵- پلات عدم تعادل لینکاژی (LD plot) توده‌های آفتابگردان آجیلی ایران با استفاده از نرم‌افزار TASSEL. قسمت بالای قطر نشان‌دهنده میزان عدم تعادل لینکاژی با استفاده از آماره ´D و قسمت پایین قطر P- value برای جفت نشانگرها را نشان می‌دهد.

Figure 5. LD plot generated by retrotransposon-based molecular marker pairs in studied confectionery sunflower panel. The upper diagonal shows D′ among each pair of markers. The lower diagonal shows the levels of significance between each pair of markers.

تجزیه ارتباط

در این مطالعه، به منظور شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات آگرومورفولوژیک مورد ارزیابی در توده‌های مختلف آفتابگردان آجیلی، تجزیه ارتباط بر اساس مدل خطی عمومی (GLM) وابسته به مدل Q و همچنین مدل خطی مخلوط (MLM) وابسته به مدل Q+K با استفاده از نرم‌افزار TASSEL انجام گردید.

در کل بر اساس مدل GLM، ۱۳۱ مکان ژنی که ارتباط معنی‌داری (P<۰/۰۱) با صفات مورد مطالعه داشتند، شناسایی شد (جدول ۴). درصد بالای چندشکلی‌های مرتبط با صفات برای نشانگرهای رتروترنسپوزونی را احتمالاً می‌توان به فعالیت بالای رتروترنسپوزون‌ها در ژنوم آفتابگردان و درج آن‌ها در نواحی یوکروماتینی و ژنی نسبت داد (۳۴).

از کل مکان‌های مرتبط با صفات مورد ارزیابی، براساس مدل GLM (۱۳۱ مکان)، ۳۹، ۶۷ و ۲۵ مکان به ترتیب تحت شرایط تنش ملایم، شدید و آبیاری نرمال ارتباط معنی‌داری را با صفات مورد بررسی نشان دادند. مکان‌های مرتبط تحت شرایط تنش ملایم، شامل ارتباط ۲ مکان با وزن خشک برگ، ۲ مکان با وزن‌تر برگ، ۴ مکان با تعداد برگ فعال، ۲ مکان با وزن خشک طبق، ۲ مکان با وزن‌تر طبق، ۱ مکان با قطر طبق، ۲ مکان با وزن‌تر طبق با دانه، ۴ مکان با وزن خشک طبق با دانه، ۴ مکان با ارتفاع گیاه، ۳ مکان با قطر ساقه، ۳ مکان با محیط ساقه، ۱ مکان با کلروفیل، ۲ مکان با عملکرد بیولوژیک، ۴ مکان با تعداد دانه در طبق و ۳ مکان با تعداد دانه در واحد سطح بود. ۶۷ مکان مرتبط تحت شرایط تنش شدید، شامل ۲ مکان با وزن خشک برگ، ۲ مکان با وزن‌تر برگ، ۴ مکان با تعداد برگ فعال، ۷ مکان با وزن خشک طبق، ۳ مکان با وزن‌تر طبق، ۷ مکان با قطر طبق، ۶ مکان با وزن‌تر طبق با دانه، ۶ مکان با وزن خشک طبق با دانه، ۲ مکان با وزن خشک ساقه، ۲ مکان با وزن‌تر 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، ۷ مکان با عملکرد بیولوژیک، ۱ مکان با تعداد دانه در طبق، ۱ مکان با درصد پوکی، ۶ مکان با عملکرد دانه و ۴ مکان با تعداد دانه در واحد سطح می‌باشند. همچنین تعداد مکان‌های مرتبط با صفات، تحت شرایط آبیاری نرمال، شامل ۲ مکان با وزن خشک برگ، ۱ مکان با وزن‌تر برگ، ۶ مکان با تعداد برگ فعال، ۴ مکان با ارتفاع گیاه، ۱ مکان با وزن‌تر ساقه، ۲ مکان با وزن خشک ساقه، ۱ مکان با قطر ساقه، ۱ مکان با محیط ساقه، ۲ مکان با شاخص برداشت، ۱ مکان با تلاش بازآوری، ۱ مکان با درصد پوکی و ۳ مکان با تعداد دانه در واحد سطح می‌باشند. بیشترین R^2 (ضریب تغییرات فنوتیپی توجیه شده) در مکان‌های رتروترنسپوزونی CR و U81-U82 برای صفات قطر ساقه (۰/۲۶) و وزن خشک طبق (۰/۲۴) دیده شد و می‌توان گفت که این آغازگرها بیش از سایر آغازگرهای مورد مطالعه در نواحی کد کننده این صفات حضور دارند. همچنین کمترین ضریب تبیین (۰/۰۵) برای صفات وزن‌تر طبق با دانه و ارتفاع گیاه در شرایط تنش کم آبی دیده شد. در تجزیه ارتباط براساس مدل MLM، در سطح احتمال یک درصد (P<۰/۰۱)، در مجموع ۱۱۷ مکان ژنی مرتبط با صفات زراعی مورد مطالعه شناسایی شد (جدول ۵). از کل مکان‌های مرتبط با صفات مورد ارزیابی بر اساس مدل MLM (۱۱۷ مکان)، ۴۰، ۵۴ و ۲۳ مکان به ترتیب تحت شرایط تنش ملایم، تنش شدید و آبیاری نرمال ارتباط معنی‌داری را با این صفات نشان دادند. چهل مکان مرتبط با صفات مختلف تحت تنش ملایم، شامل ۲ مکان با وزن خشک برگ، ۲ مکان با وزن‌تر برگ، ۴ مکان با تعداد برگ فعال، ۳ مکان با وزن خشک طبق، ۳ مکان با وزن‌تر طبق، ۱ مکان با قطر طبق، ۳ مکان با وزن‌تر طبق با دانه، ۵ مکان با وزن خشک طبق با دانه، ۳ مکان با ارتفاع گیاه، ۳ مکان با قطر ساقه، ۳ مکان با محیط ساقه، ۱ مکان با کلروفیل، ۱ مکان با تلاش بازآوری، ۲ مکان با عملکرد بیولوژیک، ۳ مکان با تعداد دانه در طبق و ۱ مکان با تعداد دانه در واحد سطح می‌باشند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

پنجاه و چهار مکان مرتبط تحت شرایط تنش شدید شامل ۲ مکان با وزن خشک برگ، ۲ مکان با وزن‌تر برگ، ۴ مکان با تعداد برگ فعال، ۷ مکان با وزن خشک طبق، ۴ مکان با وزن‌تر 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 وزن‌تر 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 وزن‌تر برگ، ۶ مکان با تعداد برگ فعال، ۳ مکان با ارتفاع گیاه، ۱ مکان با وزن خشک ساقه، ۱ مکان با وزن‌تر 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 اسکلروتینیا 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 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 ارتباط‌یابی 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 QTL های دارای R^2 بالا می‌توان برای شناسایی ژن‌های کد کننده صفات اقدام نمود.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

جدول ۴- نشانگرهای پیوسته با صفات ارزیابی شده در توده‌های آفتابگردان آجیلی بر اساس مدل GLM

Table 4. Retrotransposon-based molecular marker identified for eualuated traits in confectionery sunflower panel bu using general linear model (GLM)

صفت	تنش	نشانگر	P-value	R^2
وزن تر ساقه	ملایم	–	–	–
	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۶	۰/۱۲
		CR-UR1	۰/۰۰۱	۰/۱۵
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۷	۰/۱۱
قطر ساقه	ملایم	CR	۰/۰۰۵	۰/۰۹
		u81-u82	۰/۰۰۳	۰/۱۲
		CR-816	۰/۰۰۳	۰/۱۴
	شدید	CR	۰/۰۰۴	۰/۲۶
		u81-u82	۰/۰۰۷	۰/۲۱
	نرمال	CR-816	۰/۰۰۴	۰/۱۵
محیط ساقه	ملایم	CR-816	۰/۰۰۳	۰/۱۷
		u81-u82	۰/۰۰۳	۰/۱۵
		CR	۰/۰۰۶	۰/۱۱
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۷	۰/۰۹
		CR	۰/۰۰۵	۰/۰۶
	نرمال	CR-816	۰/۰۰۴	۰/۱۸
شاخص برداشت	ملایم	–	–	–
	شدید	CR-816	۰/۰۰۵	۰/۱۶
	نرمال	u82-857	۰/۰۰۲	۰/۱۹
		U81-857	۰/۰۰۷	۰/۱۵
کلروفیل	ملایم	U81-857	۰/۰۰۲	۰/۱۶
	شدید	1062	۰/۰۰۵	۰/۱۱
	نرمال	–	–	–
تلاش بارآوری	ملایم	–	–	–
	شدید	u82-857	۰/۰۰۷	۰/۲۲
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۲	۰/۱۶
عملکرد بیولوژیک	ملایم	u82-857	۰/۰۰۵	۰/۱۸
		1063-826	۰/۰۰۳	۰/۲۳
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۶	۰/۱۰
		u81-u82	۰/۰۰۴	۰/۱۴
		u81-u82	۰/۰۰۳	۰/۱۶
		1064-826	۰/۰۰۲	۰/۱۸
		CR-UR1	۰/۰۰۷	۰/۰۶
		CR-UR1	۰/۰۰۵	۰/۱۰
		1064-826	۰/۰۰۸	۰/۰۶

صفت	تنش	نشانگر	P-value	R^2
وزن خشک برگ	ملایم	U82-857	۰/۰۰۳	۰/۱۸
		1063-826	۰/۰۰۳	۰/۱۹
	شدید	U82-857	۰/۰۰۹	۰/۱۲
		1063-826	۰/۰۰۹	۰/۱۷
	نرمال	U82-857	۰/۰۰۸	۰/۱۵
		1063-826	۰/۰۰۸	۰/۱۴
وزن تر برگ	ملایم	U82-857	۰/۰۰۳	۰/۱۴
		1063-826	۰/۰۰۳	۰/۱۶
	شدید	U82-857	۰/۰۰۷	۰/۱۱
		1063-826	۰/۰۰۷	۰/۱۳
	نرمال	CF	۰/۰۰۹	۰/۰۶
تعداد برگ فعال	ملایم	1062	۰/۰۰۸	۰/۱۰
		1064-826	۰/۰۰۸	۰/۱۷
		u82-857	۰/۰۰۷	۰/۱۵
		1063-826	۰/۰۰۸	۰/۱۲
	شدید	u82-857	۰/۰۰۸	۰/۰۷
		1063-826	۰/۰۰۸	۰/۰۶
		1062	۰/۰۰۲	۰/۱۴
		1064-826	۰/۰۰۲	۰/۱۲
	نرمال	1062	۰/۰۰۳	۰/۱۵
		u82-857	۰/۰۰۶	۰/۱۱
		1063-826	۰/۰۰۶	۰/۱۲
		u82-857	۰/۰۰۴	۰/۱۴
		1063-826	۰/۰۰۳	۰/۱۴
		1064-826	۰/۰۰۲	۰/۱۹
وزن خشک طبق	ملایم	1062	۰/۰۰۴	۰/۱۸
		1064-826	۰/۰۰۴	۰/۲۱
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۱	۰/۲۲
		u81-u82	۰/۰۰۱	۰/۲۴
		1064-826	۰/۰۰۱	۰/۱۸
		1064-826	۰/۰۰۱	۰/۱۳
		u82-857	۰/۰۰۲	۰/۱۷
		u81-u82	۰/۰۰۶	۰/۱۱
		CR-UR1	۰/۰۰۵	۰/۱۲

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

ادامه جدول ۴-

Table 4. Continued

صفت	تنش	نشانگر	P-value	R^2		صفت	تنش	نشانگر	P-value	R^2
وزن تر طبق	ملایم	1062	۰/۰۰۶	۰/۱۵		تعداد دانه در طبق	ملایم	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
		1064-826	۰/۰۰۳	۰/۰۹			شدید	CR-UR1	۰/۰۰۶	۰/۱۰
	نرمال	–	–	-			نرمال	–	–	–
قطر طبق	ملایم	CF	۰/۰۰۴	۰/۲۱		درصد پوکی	ملایم	–	–	–
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۱	۰/۲۲			شدید	CR-UR1	۰/۰۰۱	۰/۰۷
		u81-u82	۰/۰۰۳	۰/۲۱			نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۶	۰/۰۸
		1064-826	۰/۰۰۱	۰/۱۷		عملکرد دانه	ملایم	–	–	–
		1064-826	۰/۰۰۲	۰/۲۰			شدید	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	/۰۰۷	۰/۲۰
	نرمال	–	–	-				u81-u82	۰/۰۰۵	۰/۱۸
وزن تر طبق با دانه	ملایم	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		تعداد دانه در واحد سطح	ملایم	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			شدید	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
وزن خشک طبق با دانه	ملایم	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
		1063-826	۰/۰۱	۰/۱۳		ارتفاع گیاه	ملایم	CR-816	۰/۰۰۸	۰/۱۲
	شدید	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
وزن خشک ساقه	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۱	۰/۲۳		وزن هزار دانه	شدید	-	-	-
		CR-UR1	۰/۰۰۵	۰/۱۷			نرمال	-	-	-
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۵	۰/۱۵						
		U81-857	۰/۰۰۷	۰/۱۳						

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

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

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

صفت	تنش	نشانگر	P-value
کلروفیل	ملایم	U81-857	۰/۰۰۳
	شدید	1062	۰/۰۰۵
	نرمال	–	–
تلاش بازآوری	ملایم	u82-857	۰/۰۰۳
	شدید	u82-857	۰/۰۰۸
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۲
عملکرد بیولوژیکی	ملایم	u82-857	۰/۰۰۵
		1063-826	۰/۰۰۵
	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۴
		u81-u82	۰/۰۰۶
		1064-826	۰/۰۰۶
	نرمال	–	–
تعداد دانه در طبق	ملایم	1064-826	۰/۰۱۰
		CF-CR	۰/۰۱۰
		CR	۰/۰۱۰
	شدید	1062	۰/۰۵
		CR-UR1	۰/۰۰۴
	نرمال	CR-816	۰/۰۰۳
درصد پوکی	ملایم	–	–
	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۱
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۶
عملکرد دانه	ملایم	–	–
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۶
		u82-857	۰/۰۰۷
		1063-826	۰/۰۰۷
	نرمال	–	–
تعداد دانه در واحد سطح	ملایم	1064-826	۰/۰۱۰
	شدید	CF-CR	۰/۰۱۰
		CR	۰/۰۱۰
	نرمال	CF-CR	۰/۰۰۵
		CR-816	۰/۰۰۵
ارتفاع گیاه	ملایم	CR	۰/۰۰۳
		CR-816	۰/۰۰۸
		U81-U82	۰/۰۰۱
	شدید	CF	۰/۰۰۱
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۲
		1063-826	۰/۰۰۷
		U81-857	۰/۰۰۷
وزن خشک ساقه	ملایم	–	–
	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۳
		CR-UR1	۰/۰۰۱
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۵
وزن تر ساقه	ملایم	–	–
	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۴
		CR-UR1	۰/۰۰۱
	نرمال	CR-UR1	۰/۰۰۷
قطر ساقه	ملایم	u81-u82	۰/۰۰۳
		CR	۰/۰۰۱
		CR-816	۰/۰۰۴
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۵
		CR	۰/۰۰۴
	نرمال	CR-816	۰/۰۰۴
محیط ساقه	ملایم	CR-816	۰/۰۰۳
		CR	۰/۰۰۱
		u81-u82	۰/۰۰۲
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۵
		CR	۰/۰۰۴
	نرمال	CR-816	۰/۰۰۴
شاخص برداشت	ملایم	–	–
	شدید	CR-816	۰/۰۰۵
	نرمال	u82-857	۰/۰۰۲
		U81-857	۰/۰۰۷

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

ادامه جدول ۵-

Table 5. Continued

صفت	تنش	نشانگر	P-value
وزن خشک برگ	ملایم	u82-857	۰/۰۰۳
		1063-826	۰/۰۰۳
	شدید	u82-857	۰/۰۰۹
		1063-826	۰/۰۰۸
	نرمال	u82-857	۰/۰۰۹
		1063-826	۰/۰۰۹
وزن تر برگ	ملایم	u82-857	۰/۰۰۳
		1063-826	۰/۰۰۳
	شدید	u82-857	۰/۰۰۷
		1063-826	۰/۰۰۷
	نرمال	CF	۰/۰۰۹
تعداد برگ فعال	ملایم	u82-857	۰/۰۰۸
		1063-826	۰/۰۰۸
		1062	۰/۰۰۹
		1064-826	۰/۰۰۸
	شدید	1062	۰/۰۰۲
		1064-826	۰/۰۰۱
		u82-857	۰/۰۰۷
		1063-826	۰/۰۰۷
	نرمال	1062	۰/۰۰۲
		1064-826	۰/۰۰۲
		u82-857	۰/۰۰۴
		1063-826	۰/۰۰۳
		u82-857	۰/۰۰۶
		1063-826	۰/۰۰۶
وزن خشک طبق	ملایم	1062	۰/۰۰۳
		1064-826	۰/۰۰۳
		CR	۰/۰۰۲
	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۵
		u81-u82	۰/۰۰۶
		u81-u82	۰/۰۰۱
		u81-u82	۰/۰۰۴
		1064-826	۰/۰۰۲
		1064-826	۰/۰۰۱
		u82-857	۰/۰۰۱

صفت	تنش	نشانگر	P-value
وزن تر طبق	ملایم	CR	۰/۰۰۲
		1062	۰/۰۰۶
		1064-826	۰/۰۰۶
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۶
		u81-u82	۰/۰۰۵
		1064-826	۰/۰۰۶
		1064-826	۰/۰۰۴
	نرمال	–	–
قطر طبق	ملایم	CF	۰/۰۰۴
	شدید	CR-UR1	۰/۰۰۵
		u81-u82	۰/۰۰۱
		u81-u82	۰/۰۰۱
		1064-826	۰/۰۰۱
		1064-826	۰/۰۰۱
		u81-u82	۰/۰۰۲
		u82-857	۰/۰۰۶
	نرمال	–	–
وزن تر طبق با دانه	ملایم	1062	۰/۰۰۷
		1064-826	۰/۰۰۷
		CR	۰/۰۰۳
	شدید	–	–
	نرمال	–	–
وزن خشک طبق با دانه	ملایم	1063-826	۰/۰۰۹
		u82-857	۰/۰۰۹
		CR	/۰۰۵
		1062	۰/۰۰۵
		1064-826	۰/۰۰۶
	شدید	u81-u82	۰/۰۰۱
		1064-826	۰/۰۰۱
		1064-826	۰/۰۰۱
		CR-UR1	۰/۰۰۷
		u82-857	۰/۰۰۶
	نرمال	–	–
-			

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 شود و بدین ترتیب کارآیی 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.

منابع

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

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. Hoeft. 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 hirsitum* 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. Skøt, 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 Dordrechet 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. Ziaeifard 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.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]

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

Marjan Jannatdoust[1], Reza Darvishzadeh[2], Heydar Azizi[3], Mohammad Ali Ebrahimi[4], Roghayeh Ziaeifard[1] and Esmaeel Gholinezhad[5]

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

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2024-03-29]