



نقشه‌یابی ارتباطی و تجزیه مسیر ترتیبی بین عملکرد و صفات آگرومورفولوژیک در توده‌های آفتابگردان آجیلی (*Helianthus annuus* L.)

رقیه ضیائی فرد^۱ و رضا درویش زاده^۲

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- استاد، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسؤول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۷

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی ارتباط برخی از صفات آگرومورفولوژیک با عملکرد دانه در آفتابگردان آجیلی در سطح مولکولی و فنوتیپی با استفاده از نقشه‌یابی ارتباطی و تجزیه مسیر ترتیبی انجام گرفت. در این آزمایش ۵۰ توده آفتابگردان آجیلی از نواحی مختلف کشور جمع‌آوری و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در ۱۰ تکرار در سال ۹۲-۱۳۹۱ در شرایط گلدانی مورد مطالعه قرار گرفتند. تعداد ۲۰ صفت شامل تاریخ گلدهی، تاریخ رسیدگی بذر، تعداد کل برگ، طول پهنک برگ، طول دم‌برگ، عرض پهنک برگ، ارتفاع بوته، قطر ساقه، قطر طبق، وزن خشک بوته، وزن خشک طبق، شاخص برداشت، وزن صد دانه، وزن تک دانه، وزن مغز تک دانه، نسبت مغز به کل تک دانه، طول دانه، عرض دانه و وزن خشک دانه در طبق اندازه‌گیری و محاسبه شدند. نتایج تجزیه مسیر نشان داد که صفات وزن خشک طبق و قطر طبق اثر مستقیم بالایی روی عملکرد دانه دارند. بررسی ساختار جمعیت ژرم‌پلاسم‌های مورد مطالعه به روش بیزین، آنها را به سه زیر مجموعه تقسیم نمود. برای شناسایی ارتباط بین نشانگرهای مولکولی در مجموعه ژنوتیپ‌ها با صفات زراعی، تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (MLM) انجام گرفت. شش مکان مشترک برای دو صفت عملکرد دانه و وزن صد دانه، یک مکان مشترک بین هر کدام از دو صفت قطر طبق و وزن خشک طبق، وزن خشک طبق و نسبت مغز به کل تک دانه، عرض دانه و وزن صد دانه، عرض برگ و وزن خشک طبق، عرض برگ و عملکرد دانه شناسایی شد. شناسایی نشانگرهای مشترک بین عملکرد و صفات آگرومورفولوژیک همبستگی‌های مشاهده شده در سطح فنوتیپی را توجیه می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، چند هم خطی، رگرسیون چندگانه، عدم تعادل لینکاژی، نشانگرهای رتروترانسپوزونی، مدل خطی مخلوط

مقدمه

آفتابگردان زراعی (*Helianthus annuus* L.) متعلق به جنس هلیانتوس (*Helianthus*) و تیره آستراسه (*Asteraceae*) می‌باشد. ارقام زراعی آفتابگردان دارای دو تیپ روغنی و آجیلی می‌باشند (۱۴). تیپ روغنی به دلیل درصد روغن بالا برای استحصال روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تیپ آجیلی درصد روغن کمتر از ۳۰ درصد می‌باشد ولی درصد پروتئین بیشتر بوده و به منظور مصرف آجیلی مورد استفاده قرار می‌گیرد. استان آذربایجان غربی با سطح زیر کشتی معادل ۲۷۵۰۰ هکتار پتانسیل قابل توجهی در تولید آفتابگردان آجیلی دارد (<http://tabesh.net>). ارقام غالب کشت شده در استان شامل ارقام قلمی، پسته‌ای، بادامی، شمشیری، دورسفید و سایر ارقام محلی می‌باشد. تولید و توسعه ارقام اصلاح شده نقش مهمی در توسعه کشاورزی و صنایع وابسته و به تبع آن توسعه اقتصادی استان دارد.

عملکرد بالای دانه از اهداف اصلی در اصلاح آفتابگردان آجیلی است. عملکرد دانه یک صفت پیچیده چندژنی است که به شدت تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد (۲۷). اصلاح گران معمولاً اصلاح برای اجزای عملکرد که به طور غیرمستقیم باعث افزایش عملکرد دانه می‌شود را ترجیح می‌دهند (۴۸).

درک روابط متقابل عملکرد و عوامل موثر بر آن یک گام موثر در طراحی برنامه اصلاح عملکرد است. تجزیه همبستگی و مسیر نقش مهمی در تعیین ارتباط بین عملکرد و اجزای عملکرد ایفا می‌نمایند. متخصصین اصلاح نباتات تجزیه علیت را بیشتر به عنوان ابزاری برای ارزیابی اهمیت صفات موثر بر عملکرد و تعیین سهم اجزای عملکرد بر عملکرد دانه بکار می‌برند (۴۵). برخی از محققین (۲۸، ۴۰، ۴۸، ۱۹۰۲) از تجزیه همبستگی و مسیر برای بررسی ارتباط بین عملکرد و اجزای عملکرد در آفتابگردان استفاده کرده‌اند. تجزیه علیت در گیاهان دیگر از جمله نخود (*Cicer arietinum* L.) (۳۴)، ذرت (*Zea mays* L.) (۳۲، ۲۶)، کنجد (*Sesamum indicum* L.) (۴۱)، برنج (*Oryza sativa* L.) (۴۹)، سویا (*Glycine max* L.) (۵، ۲۹)، عدس (*Lens culinaris*) (۴۶)، زیره (*Carum copticum* L.) (۲۲)، گندم (*Triticum aestivum* L.) (۴۲) و نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) (۹) برای بررسی ارتباط بین عملکرد دانه و اجزای عملکرد استفاده شده است.

همبستگی بین عملکرد و اجزای عملکرد عمدتاً ناشی از اثرات پلیوتروپی ژن‌ها و یا پیوستگی ژنهای کنترل‌کننده می‌باشد (۱۰). با توسعه و گسترش نشانگرهای مولکولی DNA، شناسایی جایگاه‌های ژنومی دخیل در کنترل تنوع

توزیع وسیع و تصادفی آنها در ژنوم و کروموزوم‌های گیاهی و چندشکلی درجی آنها در بین و داخل گونه‌های گیاهی، از ایده آل‌ترین نشانگرها جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی، انگشت‌نگاری ژنوتیپ‌ها و تهیه نقشه‌های پیوستگی می‌باشند (۳۱، ۱۷، ۱۶). این مطالعه به منظور بررسی روابط متقابل برخی از صفات با عملکرد دانه در آفتابگردان آجیلی در سطح مولکولی و فنوتیپی با استفاده از نقشه‌یابی ارتباطی و تجزیه مسیر ترتیبی انجام گرفته است. بررسی روابط بین عملکرد و اجزای عملکرد بهره‌وری انتخاب در برنامه‌های اصلاحی را بهبود می‌بخشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و داده‌های فنوتیپی

پنجاه توده آفتابگردان آجیلی از نواحی مختلف کشور جمع‌آوری و هر توده در ۱۰ تکرار مورد مطالعه قرار گرفت (جدول ۱). ابتدا از هر توده ۲۰ گلدان کوچک با قطر دهانه‌ی ۷ سانتی‌متر و ارتفاع ۸ سانتی‌متر حاوی مخلوط پیت ماس و پرلیت کشت شد. پس از ۱۵ روز از کشت، ۱۰ گیاهچه با رشد مطلوب انتخاب و هر یک از بوته‌ها به یکی از گلدان‌های بزرگتر با قطر دهانه ۳۰ سانتی‌متر و با ارتفاع ۲۶ سانتی‌متر منتقل شدند. گلدان‌های بزرگ با ترکیب ۱:۱ خاک زراعی و ماسه پر و در قالب طرح پایه‌ی کاملاً تصادفی در محوطه پژوهشکده زیست فن آوری دانشگاه ارومیه قرار داده شدند (شکل ۱). فاصله‌ی گلدان‌ها در روی ردیف‌ها ۴۰ و بین دو ردیف ۶۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

فنوتیپی صفات کمی و بررسی هم مکانی و پیوستگی ژن‌ها فراهم شده است. شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات کمی (تجزیه QTL) عمدتاً به دو روش نقشه‌یابی پیوستگی^۱ و نقشه‌یابی ارتباطی^۲ انجام می‌گیرد. در مکان‌یابی پیوستگی هدف شناسایی نشانگرهای پیوسته با یک صفت کمی در یک جمعیت خواهر-برادری حاصل از تلاقی دو والد است. محدودیت‌های اساسی این روش برای مکان‌یابی QTL‌ها، تعداد محدود کراسینگ اور و در نتیجه وضوح پایین نقشه ژنتیکی است. ضمن اینکه ایجاد چنین جمعیت‌هایی بسیار زمانبر بوده و جمعیت ایجاد شده فقط برای صفات و مطالعات محدودی کارایی دارد. در نقشه‌یابی ارتباطی مکان‌یابی QTL با بهرمندی از تنوع طبیعی و بر اساس عدم تعادل لینکاژی انجام می‌گیرد. در این تجزیه چون از جوامع طبیعی استفاده می‌شود تنوع ژنتیکی وسیع‌تری نسبت به جمعیت‌های حاصل از تلاقی دو والدی وجود دارد. همچنین نقشه‌یابی ارتباطی در مقایسه با روش معمول نقشه‌یابی دارای دقت بسیار بالاتری است چرا که در این نوع نقشه‌یابی تمام رویدادهای میوزی که در طول تاریخچه تکاملی گیاه انباشته شده است در نظر گرفته می‌شود (۳۰). تعیین نشانگرهای مرتبط با صفات مهم با استفاده از تجزیه ارتباط در چندین گونه گیاهی از جمله پنبه (۱)، سورگوم (۲۴، ۳۹)، آفتابگردان (۱۲)، ذرت (۴۴)، جو (۳)، ۲۰، ۳۷، گندم هگزابلوتید (۶)، نخود (۳۳) و توتون (۴، ۷) انجام گرفته است. نشانگرهای ملکولی مبتنی بر رتروترنسپوزون‌ها از قبیل Inter-retrotransposon amplified polymorphism (IRAP) Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism (REMAPP) به دلیل گستردگی،

جدول ۱- کد و نام ۵۰ توده آفتابگردان آجیلی مورد مطالعه

Table 1. Code and name of 50 confectionery sunflower accessions used in the present study

کد توده	محل جمع‌آوری	کد توده	محل جمع‌آوری
۱۸	ارومیه (انگنه ۴)	۲۶	محل جمع‌آوری
۵	ارومیه (اردوهای ۱)	۸	سقز ۱
۴۴	ارومیه (باباکنجه ۶)	۴۷	سقز ۲
۴۵	ارومیه (باروج)	۱۲	سقز ۳
۲۱	ارومیه (جبل‌کندی ۲)	۴۱	سقز ۴
۴۶	ارومیه (علی‌بیگلر)	۱۵	سقز ۵
۵۰	ارومیه (للو ۵)	۱۰	سلماس (صدقیان)
۴۳	ارومیه (مرنگلو)	۶	سلماس (قره‌قشلاق - بادامی)
۲	ارومیه (نوشین‌شهر)	۹	سلماس (قره‌قشلاق - قلمی)
۲۹	ارومیه (وقاص‌لوی سفلی)	۴۹	سلماس (قرلجه ۲)
۲۰	ارومیه (وقاص‌لوی اولیا)	۳۹	سنندج
۱۷	اصفهان (دولت‌آباد)	۳۷	شاهرود ۱
۱۴	اصفهان (طالخنجه)	۲۳	شاهرود ۲
۳۱	بانه ۱	۳۲	شیستر (کوزه‌کنان ۱)
۳۳	بانه ۲	۳۵	شیستر (کوزه‌کنان ۲)
۲۸	بانه ۳	۳۶	شیستر (کوزه‌کنان ۳)
۳	بوکان	۴۰	مازندران (تیرتاش)
۴	بوکان محلی	۲۲	مرند ۱ - ۱۳۸۹
۷	پیرانشهر (اندیزه)	۲۶	مرند ۲ - ۱۳۸۹
۱	پیرانشهر (بالابان)	۲۷	مرند (دیزج‌قلمی)
۱۶	پیرانشهر (سروکانی)	۱۳	مرند (یامچی - پسته‌ای)
۴۲	خوی ۶	۳۴	مشهد
۲۵	خوی ۱۰	۱۹	ملایر سفید ۳
۳۸	سردشت	۲۴	میانه (بسین)
۴۸	سقز	۳۰	همدان ۱
			همدان ۲

1- Linkage mapping or family mapping

2- Association or linkage disequilibrium mapping or population mapping

وزن خشک بوته (APDW)، وزن خشک طبق (CW)، وزن خشک کل اندام هوایی بر حسب گرم (APDW+YIELD)، طول دانه (SL) و عرض دانه (SW) بر حسب سانتی‌متر، وزن صد دانه (100SW)، وزن تک دانه (SSW) و وزن مغز تک دانه (DHW) بر حسب گرم اندازه‌گیری و نسبت مغز به کل تک دانه (DHW-SSW) و همچنین شاخص برداشت (HI) (نسبت وزن خشک دانه در طبق به وزن خشک کل اندام هوایی بوته) در هر کدام از ۱۰ تکرار برای هر توده محاسبه شدند.

آبیاری گلدان‌ها در طول فصل رشد با سیستم قطره‌ای انجام گرفت. در طول دوره‌ی رشد رویشی هر ۱۰ روز یکبار کوددهی با کود کامل اگریمل ۲۰-۲۰-۲۰ (NPK) انجام گرفت. در مرحله بعد از گلدهی و پس از برداشت دانه صفات مختلف آگرومورفولوژیک شامل: تعداد کل برگ (LN)، طول دم‌برگ (PL)، طول پهنک برگ (LL)، عرض پهنک برگ (LW)، ارتفاع بوته (PH)، قطر ساقه (SD) و قطر طبق (CD) بر حسب سانتی‌متر، مدت زمان تا گلدهی (DF) و رسیدگی (DM) بر حسب روز، وزن خشک دانه در طبق (YIELD)



شکل ۱- نمایی از آزمایش ارزیابی صفات آگرومورفولوژیک در ۵۰ توده آفتابگردان آجیلی
Figure1. View of experiment conducted for studying the agro- morphological traits in 50 confectionery sunflower accessions

U81، CF، 1062 و آغازگرهای ترکیبی شامل ترکیبات U81-U82، CR-U81، CF-CR بودند. واکنش‌های زنجیره‌ای پلی مرارز در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر حاوی ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲ میکرولیتر بافر PCR ۱۰ برابر (500mM KCl، 500mM Tris-HCl pH 8.4)، ۰/۷ میکرولیتر از کلرید منیزیم ۵۰ میلی‌مولار (شرکت سیناژن، تهران، ایران)، ۰/۲۵ میلی‌مول از هر دزوکسی ریبونوکلوئید (BioFluxbiotech، BioFlux، Tokyo، Japan)، ۱/۸ واحد از آنزیم Taq DNA polymerase (شرکت سیناژن، تهران، ایران) و ۱۰ میکرومول از هر آغازگر به همراه آب دیونیزه در دستگاه ترمال سایکلر (Eppendorf master cycler gradient Type 5331، Eppendorf AG، Hamburg، Germany) انجام گرفت. چرخه‌های دمایی واکنش‌ها به شرح زیر بودند: چرخه‌ی اول مرحله‌ی واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه، چرخه‌ی دوم با ۳۶ بار تکرار شامل واسرشت سازی در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، دمای اتصال (بسته به ترکیب آغازگر) به مدت ۴۰ ثانیه و دمای توسعه (۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مدت ۲ دقیقه و چرخه آخر دمای توسعه‌ی نهایی (۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مدت ۱۰ دقیقه.

آزمایشات مولکولی و داده‌های ژنوتیپی

از هر توده ۵ فرد در مرحله چهار برگ انتخاب و DNA ژنومی با روش ستیل‌تری‌متیل‌آمونیم بروماید (CTAB)^۱، استخراج گردید. DNA ژنومی استخراج شده در ۱۰۰ میکرولیتر بافر TE (10 mM Tris، 1 mM EDTA، pH 8.0) حل شد. کیفیت DNA از نظر سالم بودن و نداشتن شکستگی با الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد در بافر TBE (45 mM Tris base، 45 mM Boric acid، 1 mM EDTA pH 8.0) مورد ارزیابی قرار گرفت. عکس‌برداری از ژل توسط دستگاه ژل داکيومنتیشن (Gel Logic 212 PRO) و تاباندن نور UV انجام گرفت. خلوص و غلظت DNA با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (BioPhotometer Eppendorf) در طول موج‌های ۲۶۰، ۲۸۰ و ۲۳۰ نانومتر بررسی شد.

واکنش‌های IRAP

از ۱۵ آغازگر تست شده، چهار آغازگر منفرد و ۳ ترکیب آغازگری IRAP که قادر به تولید الگوی باندهای چندشکل بودند برای تهیه پروفیل مولکولی افراد ۵۰ توده آفتابگردان آجیلی (فرد=۲۵×۵) استفاده شدند. خانواده‌های رتروترانسپوزونی مورد استفاده شامل آغازگرهای منفرد CR،

1- Deoxyribonucleic acid

2- Cetyltrimethylammonium bromide

جدول ۲- نام و توالی آغازگرهای رتروترانسپوزونی مورد استفاده

Table2. Name and sequence of retrotransposon primers used in the present study		توالی (۵' - ۳')	
آغازگرهای رتروترانسپوزونی		آغازگرهای ISSR	توالی (۵' - ۳')
1062 LTR	TCTCTATTATAGCCGGAGAGGTG	UBC-816	CACACACACACACAT
1063 LTR	GATCCGGTTTCACGGGACTTAC	UBC-826	ACACACACACACACAC
1064 LTR	CGAAGAACAACCGAATCACC	UBC-827	ACACACACACACACAG
CF	GGTTTAGGTTTCGTAATCCTCCGCG		
CR	ACAGACACCAAGTGGCACCAC		
U81(UF)	TAACGGTGTCTGTTTTCAGG		
U82(UR1)	AGAGGGGAATGTGGGGTTTCC		

گردید تا منحنی حداکثر درست‌نمایی حاصل شود. نرم‌افزار Structure برای هر مقدار K (تعداد واقعی زیر جمعیت) ماتریس Q را بدست می‌دهد که در این ماتریس، برآورد ضرایب احتمال عضویت هر ژنوتیپ در هر یک از زیرجمعیت‌ها آورده شده است. تعداد واقعی زیرجمعیت‌ها بر اساس روش اوانو و همکاران (۱۱) تعیین شد. این روش بر پایه آماره ΔK است که شیب تابع احتمالی را در نقطه‌ای می‌شکند که تعداد K فرضی در آن نقطه دارای حداکثر احتمال باشد. تجزیه ارتباط جهت بررسی ارتباط نشانگرها با صفات فنوتیپی با مدل خطی عمومی (GLM) و مدل خطی مخلوط (MLM) در نرم‌افزار TASSEL 2.1 انجام گرفت. در رویکرد GLM از ماتریس Q یا ساختار جمعیت به عنوان کوواریت در مدل استفاده شد. ماتریس روابط خویشاوندی (ماتریس K) بر اساس داده‌های مولکولی و با استفاده از نرم‌افزار TASSEL 2.1 محاسبه شد. ضرایب ساختار جمعیت و روابط خویشاوندی به صورت مدل Q+K در رویکرد MLM مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج و بحث تجزیه همبستگی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد بین توده‌ها در اکثر صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار ($P \leq 0.05$) وجود دارد. همبستگی بین عملکرد دانه و اکثر صفات مورد مطالعه مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۳). وزن صد دانه بیشترین همبستگی مثبت (0.59^{**}) را با صفت عملکرد دانه نشان داد (جدول ۳). نتایج به دست آمده با یافته‌های محققین (۴۳، ۲۵، ۲۱، ۱۹) مطابقت داشت. همچنین عملکرد دانه ضریب همبستگی مثبت و بالایی با صفات قطر طبق (0.44^{**})، وزن خشک طبق (0.50^{**})، وزن مغز تک دانه (0.57^{**})، عرض پهنک برگ (0.45^{**}) و وزن تک دانه (0.44^{**}) نشان داد (جدول ۳). ساتی‌شا (۳۵) همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد و طول و عرض برگ گزارش کرده است.

تجزیه مسیر

ضریب همبستگی که به عنوان مقیاس اندازه‌گیری رابطه خطی بین دو متغیر به کار می‌رود، صرفاً دارای یک تفسیر ریاضی است و بر روابط علت و معلولی دلالتی ندارد. اگر وجود رابطه علت و معلولی بین صفات قابل تصور باشد، تجزیه مسیر به عنوان ابزاری برای تعیین اهمیت صفات موثر بر عملکرد به کار می‌رود. تجزیه مسیر ضریب همبستگی بین دو متغیر علت و معلول را به اثرات مستقیم و غیرمستقیم تفکیک می‌نماید. مطالعه اثرات مستقیم بر عملکرد دانه در طبق نشان می‌دهد دو صفت وزن خشک طبق و قطر طبق به ترتیب با

واکنش‌های REMAP

از ۲۱ ترکیب آغازگری مورد بررسی، ۵ ترکیب آغازگری که الگوی باندی واضحی داشتند انتخاب شده و بر روی جمعیت مورد استفاده قرار گرفت. ترکیبات آغازگری مورد استفاده عبارت بودند از: U81-UBC827، CR-UBC816، 1064LTR-UBC826، 1063LTR-UBC826، U82-UBC827. آغازگرهای ISSR استفاده شده معمولاً دارای یک یا دو باز لنگر در انتهای خود برای جلوگیری از لغزش در داخل توالی تکراری و افزایش وضوح الگوی نواری بودند. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز برای آغازگرهای REMAP کاملاً مشابه با روش اعمال شده برای نشانگرهای IRAP بود. تفکیک محصولات تکثیر با استفاده از ژل آگارز (Biozym agarose) ۱/۸ درصد و دستگاه الکتروفورز Bio-RAD با ولتاژ ۶۵ ولت و بافر TBE نیم برابر در مدت زمان ۳ ساعت انجام گرفت. محصولات PCR با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و عکس‌برداری زیر نور UV با استفاده از دستگاه ژل داکيومنت انجام گرفت.

تجزیه داده‌ها

شناسایی داده (های) پرت و آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی داده‌های کمی مطابق روش شاپیرو و ویلک (۳۸) در نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 (PROC UNIVARIATE) انجام گرفت. تجزیه واریانس برای تمامی صفات با توجه به نتایج آزمون نرمال انجام گرفت. همبستگی بین صفات از طریق ضریب همبستگی پیرسون محاسبه شد. ضرایب همبستگی پیرسون و تجزیه مسیر ترتیبی به منظور بررسی رابطه بین عملکرد و اجزای عملکرد در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ محاسبه و انجام گرفت.

در مطالعات مولکولی قطعات تکثیر شده بر اساس حضور یا عدم حضور قطعه‌ی مورد نظر به ترتیب به صورت ۱ و ۰ نمره‌دهی شدند. به منظور تجزیه مؤثر ساختار جمعیت و دسته‌بندی دقیق ژنوتیپ‌ها به زیر جمعیت‌های مناسب و تشخیص ژنوتیپ‌های مختلط، ارزیابی ساختار جمعیت با استفاده از روش Bayesian در نرم‌افزار Structure 2.3.4 انجام گرفت (۴۲). در این روش، هر یک از ژنوتیپ‌ها با یک احتمال و طوری به زیرجمعیت‌های فرضی متناسب می‌گردند که در هر زیرجمعیت میزان عدم تعادل پیوستگی حداقل و تعادل مرحله گامتی حداکثر باشد. در این مطالعه، بین ۱ تا ۱۰ زیرجمعیت فرضی اولیه در نظر گرفته شد و جهت افزایش دقت برای هر کدام از زیرجمعیت‌ها ۵ تکرار منظور گردید. برای این منظور از مدل ترکیبی Admixture و استقلال فراوانی آلی با ۱۰۰۰۰۰ تکرار آزمایش (burn-in) و ۱۰۰۰۰۰ تکرار MCMC (Markov Chain Monte Carlo) استفاده

۵۳ و ۳۶ درصد اثرات مستقیم بالایی روی عملکرد دانه داشته و در درجه‌ی اول اهمیت قرار دارند (جدول ۴). مطالعات

زیادی وجود اثر مستقیم قطر طبق بر روی عملکرد دانه در آفتابگردان را نشان داده اند (۲۳، ۱۹، ۱۸، ۱۳، ۸، ۲).

جدول ۳- همبستگی بین صفات مورد مطالعه در توده‌های آفتابگردان آجیلی

Table 3. Correlation coefficient among studied traits in confectionery sunflower accessions

صفات	100SW	APDW	CD	CW	DF	DHW	DHW-SSW	HI	LL	LN	LW	PH	PL	SD	SL	SSW	SW
APDW	۰/۴۴ ^{***}																
CD	۰/۴۳ ^{***}	۰/۱۱															
CW	۰/۶ ^{***}	۰/۴۷ ^{***}	۰/۳۷ ^{***}														
DF	۰/۰۱	۰/۱۴	۰/۱۵	۰/۱۶													
DHW	۰/۳۹ ^{***}	۰/۱۷	۰/۴۴ ^{***}	۰/۲۲ ^{***}	۰/۲۴												
DHW-SSW	۰/۰۶	۰/۰۷	۰/۲۱ [*]	۰/۱۵	۰/۴۳ ^{***}	۰/۰۴											
HI	۰/۰۲	۰/۵۶ ^{***}	۰/۱۷	۰/۲۲ ^{***}	۰/۴۵ ^{***}	۰/۳۰ [*]	۰/۴۳										
LL	۰/۳۹ ^{***}	۰/۴۶ ^{***}	۰/۲۶ ^{***}	۰/۵۴ ^{***}	۰/۲۴	۰/۰۸	۰/۰۱	۰/۲۹ [*]									
LN	۰/۱۱	۰/۴۰ ^{***}	۰/۰۱	۰/۲۹ ^{***}	۰/۶۱ ^{***}	۰/۱۳	۰/۰۵	۰/۶۱ ^{***}	۰/۲۲								
LW	۰/۶۷ ^{***}	۰/۳۹ ^{***}	۰/۲۶ ^{***}	۰/۴۸ ^{***}	۰/۲۱	۰/۵۱	۰/۱۰	۰/۲۳	۰/۴۳ ^{***}	۰/۳۱ [*]							
PH	۰/۳۱ ^{***}	۰/۴۸ ^{***}	۰/۱۲	۰/۳۵ ^{***}	۰/۴۶ ^{***}	۰/۲۹ [*]	۰/۱۶	۰/۴۶ ^{***}	۰/۲۴	۰/۶۲ ^{***}	۰/۴۸ ^{***}						
PL	۰/۴۰ ^{***}	۰/۳۳ ^{***}	۰/۰۱	۰/۳۷ ^{***}	۰/۳۷ ^{***}	۰/۱۳	۰/۰۲	۰/۳۰ [*]	۰/۲۸ [*]	۰/۴۸ ^{***}	۰/۶۱ ^{***}	۰/۳۳ ^{***}					
SD	۰/۳۰ ^{***}	۰/۵۳ ^{***}	۰/۰۵	۰/۳۴ ^{***}	۰/۴۵ ^{***}	۰/۲۰	۰/۰۲	۰/۵۰ ^{***}	۰/۱۴	۰/۶۷ ^{***}	۰/۵۳ ^{***}	۰/۴۰ ^{***}	۰/۲۸ ^{***}				
SL	۰/۳۱ ^{***}	۰/۳۳ ^{***}	۰/۰۷	۰/۲۹ ^{***}	۰/۲۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۳۳	۰/۳۱ [*]	۰/۲۷	۰/۳۹ ^{***}	۰/۲۳ ^{***}	۰/۲۳ ^{***}	۰/۱۹			
SSW	۰/۲۸ ^{***}	۰/۱۹	۰/۴۹ ^{***}	۰/۲۳ ^{***}	۰/۲۱	۰/۹۵ ^{***}	۰/۳۱ [*]	۰/۲۶	۰/۰۸	۰/۴۹ ^{***}	۰/۲۵ ^{***}	۰/۰۷	۰/۱۷	۰/۰۳			
SW	۰/۴۴ ^{***}	۰/۱۵	۰/۰۸	۰/۳۰ ^{***}	۰/۰۲	۰/۲۲	۰/۱۹	۰/۰۸	۰/۱۹	۰/۰۹	۰/۳۹ ^{***}	۰/۲۲ ^{***}	۰/۲۳ ^{***}	۰/۲۰ [*]	۰/۰۴	۰/۱۴	
YIELD	۰/۵۹ ^{***}	۰/۳۰ ^{***}	۰/۴۴ ^{***}	۰/۵۰ ^{***}	۰/۰۷	۰/۵۷ ^{***}	۰/۱۲	۰/۲۲	۰/۰۰	۰/۱۲	۰/۴۵ ^{***}	۰/۲۱ [*]	۰/۲۳ ^{***}	۰/۲۱ [*]	۰/۱۳	۰/۴۴ ^{***}	۰/۳۳ [*]

تعداد کل برگ (LN)، طول دمبرگ (PL)، طول پهنک برگ (LL)، عرض پهنک برگ (LW)، ارتفاع بوته (PH)، قطر ساقه (SD)، تاریخ گلدهی (DF)، تاریخ رسیدگی (DM)، قطر طبق (CD)، وزن خشک بوته (APDW)، وزن خشک طبق (CW)، وزن صد دانه (100SW)، وزن تک دانه (SSW)، وزن مغز تک دانه (DHW)، نسبت مغز به کل تک دانه (DHW-SSW)، شاخص برداشت (HI)، طول دانه (SL)، عرض دانه (SW) و وزن خشک دانه در طبق (YIELD).

جدول ۴- اثرات مستقیم متغیرهای پیش‌گویی کننده روی متغیرهای وابسته و اندازه‌گیری همراستایی در توده‌های آفتابگردان آجیلی

Table 4. Direct effects of predictor variables on response variables and measurement of collinearity in confectionery sunflower accessions

متغیرهای وابسته	متغیرهای مستقل	اثر مستقیم	Tolerance	VIF
Yield	CW	۰/۵۳	۰/۷۵	۱/۳۴
	CD	۰/۳۶	۰/۷۵	۱/۳۴
CW	100 SW	۰/۳۸	۰/۵۵	۱/۸۳
	LW	۰/۳۰	۰/۵۰	۲/۰۱
	LN	۰/۲۷	۰/۸۸	۱/۱۳
CD	LW	۰/۴۸	۰/۸۹	۱/۱۲
	LN	۰/۲۶	۰/۹۰	۱/۱۱
	DHW-SSW	۰/۳۰	۰/۹۹	۰/۰۱

Yield: عملکرد (وزن خشک دانه در طبق)، CW: وزن خشک طبق، CD: قطر طبق، 100SW: وزن صدانه، LW: عرض پهنک برگ، LN: تعداد کل برگ، DHW-SSW: نسبت مغز به کل تک دانه، VIF: ضریب تورم واریانس (شاخص سنجش چند هم خطی)، Tolerance: ضریب تحمل (شاخص سنجش چند هم خطی).

آل‌های تکثیر شده از ۲۵۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز متغیر بود. دمای اتصال آغازگرها بین ۵۷ تا ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد با میانگین ۵۸/۵۷ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

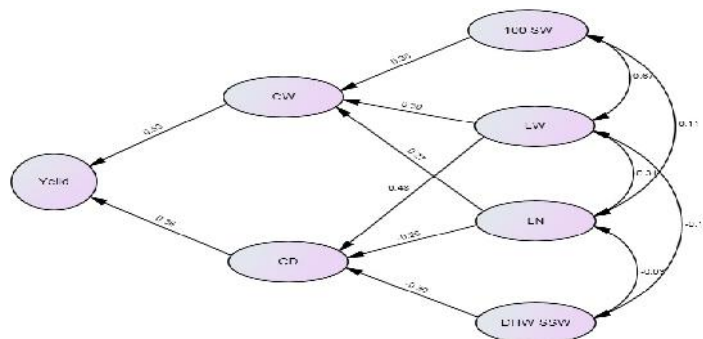
از ترکیبات آغازگری REMAP (شکل ۳)، ترکیب آغازگری CR-UBC816 بیشترین تعداد آل (۱۵ نوار) و بیشترین تعداد آل چند شکل (۱۵ نوار) را تکثیر نمود که بیانگر حضور زیاد رتروترنسپوزون‌های CR و LTR در نزدیکی موتیف‌های ریزماهورهای مربوط به آغازگر ۸۱۶ می‌باشد. ۵ ترکیب آغازگری در مجموع ۵۸ آل را تکثیر کردند که از این تعداد ۴۹ تا چند شکل بودند. میانگین تعداد نوارهای چندشکل تکثیر شده به ازای هر آغازگر برابر ۹/۸ بود. در این مطالعه میانگین تعداد نوارهای تکثیر شده توسط آغازگرهای REMAP کمتر از IRAP بود. اندازه نوارهای تکثیر شده در نشانگر REMAP نیز بین ۲۵۰ جفت باز تا ۳۰۰۰ جفت باز متغیر بود.

صفات وزن صد دانه، عرض پهنک برگ و تعداد کل برگ از لحاظ تاثیر بر عملکرد دانه در درجه‌ی دوم اهمیت قرار دارند. عرض پهنک برگ با ۴۸ درصد تاثیر بیشترین تاثیر را بر روی قطر طبق داشت. تعداد کل برگ (۲۶ درصد) اثر مستقیم منفی بر روی قطر طبق داشت. با وجود تاثیر منفی صفت تعداد کل برگ بر روی قطر طبق، این صفت اثر مستقیم مثبت (۲۷ درصد) بر روی صفت وزن خشک طبق داشت (شکل ۲).

تجزیه ساختار جمعیت بر اساس نشانگرهای مولکولی
از آغازگرهای منفرد و ترکیبات آغازگری IRAP استفاده شده (شکل ۳)، آغازگر CF بیشترین تعداد آل (۱۴ نوار) و همچنین بیشترین تعداد نوار چندشکل (۱۴ نوار) و ترکیب CR-U82 کمترین تعداد آل (۸ نوار) را تکثیر کردند. هفت آغازگر استفاده شده در کل ۸۰ آل را تکثیر کردند که از این تعداد، ۷۱ آل چندشکل بودند. میانگین تعداد نوارهای چندشکل تولید شده به ازای هر آغازگر برابر ۱۲/۶۸ بود. اندازه

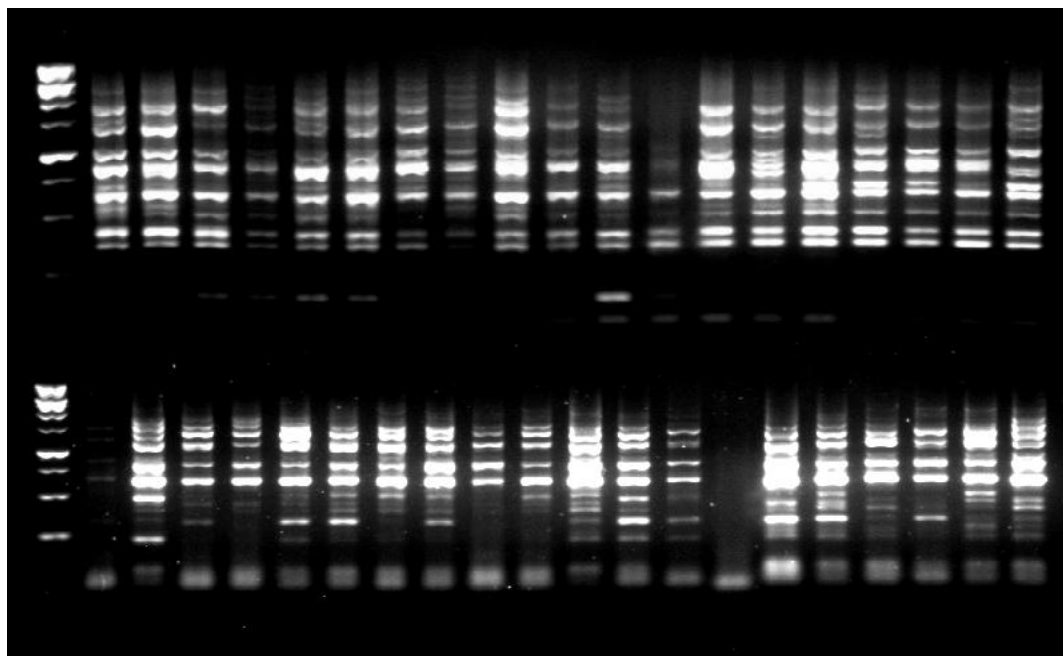
مورد مطالعه به احتمال قوی دارای سه زیرجمعیت می‌باشند. سه زیر جمعیت به ترتیب با رنگ قرمز، سبز و رنگ آبی نشان داده شده است (شکل ۴).

تجزیه مؤثر ساختار جمعیت و دسته‌بندی دقیق ژنوتیپ‌ها به زیر جمعیت‌های مناسب به روش بی‌زین در نرم‌افزار Structure انجام گرفت. با توجه به اینکه مقادیر حداکثر ΔK در $K=3$ بدست آمد، بنابراین ژنوتیپ‌های آفتابگردان آجیلی



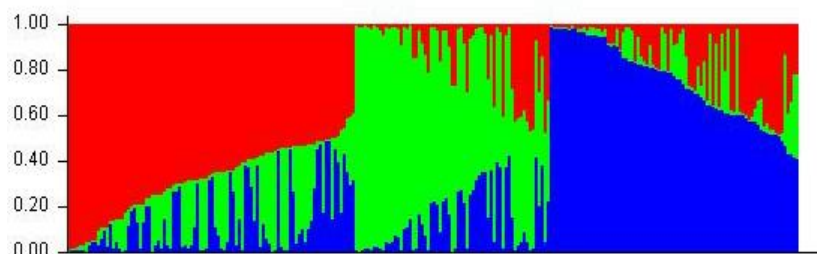
شکل ۲- نمودار تجزیه مسیر ترتیبی روابط بین عملکرد دانه و صفات آگرومورفولوژیک در توده‌های آفتابگردان آجیلی. Yield: عملکرد (وزن خشک دانه در طبق)، CW: وزن خشک طبق، CD: قطر طبق، 100SW: وزن صدانه، LW: عرض پهنک برگ، LN: تعداد کل برگ، DHW-SSW: نسبت مغز به کل تک دانه.

Figure 2. Sequential path model indicating interrelationships between seed yield and agro-morphological characteristics in studied confectionery sunflower accessions. Yield: seed dry weight per capitulum or head; CW: head dry weight; CD: stem diameter; 100SW: 100 seeds weight; LW: leaf width; LN: total number of leaves; DHW-SSW: dehulled kernel weight to single seed weight (or whole kernel weight) ratio.



شکل ۳- انگشت‌نگاره IRAP با استفاده از ترکیب آغازگری U81-U82 (شکل بالا) و REMAP با استفاده از ترکیب آغازگری UBC826-LTR1063 (شکل پایین) تعدادی از ژنوتیپ‌های آفتابگردان آجیلی

Figure 3. IRAP (U81-U82; the figure up) and REMAP (LTR1063-UBC826; the figure below) fingerprints of some confectionery sunflower genotypes



شکل ۴- نتایج تجزیه ساختار توده‌های آفتابگردان آجیلی مورد مطالعه به روش بیزین در نرم‌افزار Structure
Figure 4. Population structure of 50 confectionery sunflower accessions analyzed by using Bayesian clustering approach in structure software

بررسی ارتباط بین نشانگرهای مولکولی با نواحی ژنومی کنترل‌کننده تنوع فنوتیپی صفات مورد مطالعه با مدل خطی عمومی (GLM) با لحاظ کردن Q (ماتریس ضرایب احتمال عضویت هر ژنوتیپ به هر یک از زیرجمعیت‌ها) به عنوان کواریت و همچنین مدل خطی مخلوط (MLM) با لحاظ کردن Q و K (ماتریس روابط خویشاوندی)، در نرم‌افزار TASSEL 2.1 انجام گرفت. تمامی نشانگرهای مشترک شناسایی شده با مدل GLM با استفاده از مدل MLM نیز شناسایی شدند. یک مکان مشترک برای هر یک از جفت صفات قطر طبق و وزن خشک طبق، وزن خشک طبق و نسبت مغز به کل تک دانه، عرض دانه و وزن صددانه، عرض برگ و وزن خشک طبق، عرض برگ و عملکرد دانه و شش مکان مشترک برای صفات عملکرد دانه و وزن صددانه شناسایی شدند (جدول ۵).

شناسایی نشانگرهای مشترک بین عملکرد و صفات آگرومورفولوژیک همبستگی‌های مشاهده شده در سطح فنوتیپی را توجیه می‌نماید. اثرات پلیوتروپی چندین QTL یا ژن‌هایی با پیوستگی نزدیک، از دلایل اصلی همبستگی بین صفات بیان شده است (۱۰). شناسایی نشانگرهای مرتبط با صفات مهم زراعی با استفاده از روش تجزیه ارتباط در چندین گونه گیاهی از قبیل ذرت (۴۴)، گندم هگزاپلوئید (۱۵)، جو (۲۰)، نخود (۳۴) و درختان جنگلی (۴۷) انجام گرفته است. فوساری و همکاران (۱۲) با روش تجزیه ارتباط، مکان‌های ژنی کنترل‌کننده مقاومت به بیماری اسکروتینیا در آفتابگردان را شناسایی کردند. ایشان با استفاده از مدل خطی مخلوط

(Mixed linear model) یک ژن کاندید شناسایی کردند که ۲۰ درصد از تغییرات داده‌های فنوتیپی را توجیه می‌نمود. بر اساس نتایج تجزیه مسیر ترتیبی، صفات وزن خشک طبق و قطر طبق اثر مستقیم بالایی روی عملکرد دانه در آفتابگردان آجیلی دارند. در بررسی ساختار جمعیت ژرم‌پلاسم‌های مورد مطالعه به روش بیزین، سه زیر مجموعه شناسایی شد که لزوم در نظر گرفتن ساختار جمعیت در مطالعه تجزیه ارتباط در آفتابگردان آجیلی برای جلوگیری از شناسایی نشانگرهای با پیوستگی کاذب را نشان می‌دهد. در تجزیه ارتباط به روش مدل خطی مخلوط (MLM) تعدادی مکان مشترک بین اجزای عملکرد و همچنین بین عملکرد و اجزای عملکرد شناسایی شد. شناسایی نشانگرهای مشترک بین عملکرد و صفات آگرومورفولوژیک همبستگی‌های مشاهده شده در سطح فنوتیپی را توجیه می‌نماید. از طرف دیگر شناسایی QTL‌هایی که هم‌زمان چندین صفت را کنترل می‌کنند، اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهی دارند، زیرا گزینش هم‌زمان چندین صفت را امکان‌پذیر می‌سازند و بدین ترتیب کارایی انتخاب در برنامه‌های اصلاحی را افزایش می‌دهند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از مسئولان محترم و کارکنان حفاظت فیزیکی و فضای سبز دانشگاه ارومیه و پژوهشکده زیست فناوری اعلام می‌دارند.

جدول ۵- نشانگرهای مشترک شناسایی شده بین صفات آگرومورفولوژیک و عملکرد بر حسب اندازه نوار تولید شده

Table 5. Identified common markers between yield and agro-morphological traits in terms of size of the produced band

صفات	CW	CD	100SW	LW	LN	DHW-SSW
Yield			CR-U82 (500bp) CR-UBC816 (550bp) CR-UBC816 (1400bp) CF (600bp) CF-CR (950bp) U81-U82 (>2000bp)	CR-U82 (250bp)		
CW		CF (800bp) CF (900bp)				
CD						
100SW						
LW	CF (700bp)		U82-UBC827 (250bp)			
LN				1064-UBC826 (1900bp)		
DHW-SSW	U82-UBC827 (2100bp)					

Yield: عملکرد (وزن خشک دانه در طبق)، CW: وزن خشک طبق، CD: قطر طبق، 100SW: وزن صددانه، LW: عرض پهنک برگ، LN: تعداد کل برگ، DHW-SSW: نسبت مغز به کل تک دانه.

منابع

1. Abdurakhmonov, I.Y., R.J. Kohel, J.Z. Yu, A.E. Pepper, A.A. Abdullaev, F.N. Kushanov, I.B. Salakhutdinov, Z.T. Buriev, S. Saha, B.E. Scheffler, J.N. Jenkins and A. Abdukarimov. 2008. Molecular diversity and association mapping of fiber quality traits in exotic *G. hirsutum* L. germplasm. *Genomics*, 92: 478-487.
2. Ahmad, Q., M.A. Rana, S.U.H. Siddiqui. 1991. Sunflower seed yield as influenced by some agronomic and seed characters. *Euphytica*, 56: 137-142.
3. Ataie, R., V. Mohammadi, A.R. Taleai and M.R. Naghavi. 2013. Association mapping of root traits in barley. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 44: 347-357.
4. Basirnia, A., H. Hatami Maleki, R. Darvishzadeh and F. Ghavami. 2014. Mixed linear model association mapping for low chloride accumulation rate in oriental-type tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) germplasm. *Journal Plant Interaction*, 9: 666-672.
5. Bizeti, H.S., C.G. Portela, D. Carvalho, J. Roberto, P.D. Pinto de Souza, and D. Destro. 2004. Path analysis under multicollinearity in soybean. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47: 669-676.
6. Breseghello, F. and M. Sorrells. 2006. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, 172: 1165-1177.
7. Dadras, A.R., H. Sabouri, G. Mohammadi Nejad, A. Sabouri and M. Shoai-Deylami. 2014. Association analysis, genetic diversity and structure analysis of tobacco based on AFLP markers. *Molecular Biology Reports*, 41: 3317-29.
8. Darvishzadeh, R., H. Hatami Maleki and A. Sarrafi. 2011. Path analysis of the relationships between yield and some related traits in diallel population of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Australian Journal of Crop Science*, 5: 674-680.
9. Das, P.K., B.C. Jena and N. Nayak. 1997. Character association and path analysis of sugar yield in sugarcane. *Indian Sugar*, 46: 805-808.
10. Dong, G.J., G.S. Liu and K.F. Li. 2007. Studying genetic diversity in the core germplasm of confectionary sunflower (*Helianthus annuus* L.) in china based on AFLP and morphological analysis. *Russian Journal of Genetics*, 43: 627-635.
11. 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.
12. Fusari, C.M., J.A.D. Rienzo, C. Troglia, V. Nishinakamasu, M.V. Moreno, C. Maringolo, F. Quiroz, D. Alvarez, 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.
13. Hladni, N., D. Skoric, K. Kraljevic-Balalic, Z. Sakac and D. Jovanovic. 2006. Combining ability for oil content and its correlation with other yield components in sunflower (*Heliantus annuus* L.). *Helia*, 29: 101-110.
14. Hu, J., G. Seiler and C. Kole. 2010. *Genetics, Genomics and Breeding of Sunflower*. Routledge, USA, 342 pp.
15. Iglesias, L.A. and L. Iglesias. 1999. Classification of performance of wheat varieties in Cuba by means of the principal component analysis method. *Cultivos Tropicales*, 16: 66-69.
16. Kalendar, R. and A.H. Schulman. 2006. IRAP and REMAP for retrotransposon based genotyping and fingerprinting. *Nature Protocols*, 1: 2478-2484.
17. Kalendar, R., T. Grob, M. Regina, A. Soumiemi and A.H. Schulman. 1999. IRAP and REMAP: tow new retrotransposons-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 704-711.
18. Kaya, Y., G. Evci, S. Durak, V. Pekcan and T. Gucer. 2007. Determining the relationships between yield and yield attributes in sunflower. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31: 237-244.
19. Kholghi, M., I. Bernousi, R. Darvishzadeh and A. Pirzad. 2011. Correlation and path-coefficient analysis of seed yield and yield related trait in Iranian confectionery sunflower populations. *African Journal of Biotechnology*, 10: 13058-13063.
20. Kraakman, A.T.W., F. Martínez, B. Mussiraliev, F.A. Van Eeuwijk and R.E. Niks. 2006. Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Molecular Breeding*, 17: 41-58.
21. Lal, G.S., V.S. Bhaderiya, A.K. Singh. 1997. Genetic association and path analysis in elite lines of sunflower. *Crop Research (Hisar)*, 13: 631-634.
22. Dalkani, M., R. Darvishzadeh and A. Hassani. 2011. Correlation and sequential path analysis in Ajowan (*Carum copticum* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 5: 211-216.
23. Machicowa, T. and C. Saetang. 2008. Correlation and path coefficient analysis on seed yield in sunflower. *Suranaree Journal of Science and Technology*, 15: 243-248.
24. Mannai, Y.E., T. Shehzad and K. Okuno. 2011. Variation in flowering time in sorghum core collection and mapping of QTLs controlling flowering time by association analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58: 983-989.
25. Marinkovic, R. 1992. Path-coefficient analysis of some yield components of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Euphytica*, 60: 201-205.
26. Mohammadi, S.A., B.M. Prasanna and N.N. Singh. 2003. Sequential path model for determining interrelationships among grain yield and related characters in maize. *Crop Science*, 43: 1690-1697.
27. Nadarajan, N. and M. Gunasekaran. 2005. *Quantitative Genetics and Biometrical Techniques in Plant Breeding*. Kalyani Pub. New Delhi, India. pp: 27-28.
28. Poormohammad Kiani, S., P. Maury, L. Nouri, N. Ykhlef, P. Grieu and A. Sarrafi. 2009. QTL analysis of yield-related traits in sunflower under different water treatments. *Plant Breeding*, 128: 363-373.

29. Rameeh ,V.O. 2010. Evaluation of genetic variation and correlation among yield and yield components in soybean genotypes using multivariate analysis. *Journal of Crop Breeding*, 2: 57-67.
30. Rezaeizad, A., B. Wittkop, R. Snowdon, M. Hasan, V. Mohammadi, A. Zali and W. Friedt. 2011. QTLs for phenolic compounds in oilseed rape (*Brassica napus* L.) by association mapping using SSR markers. *Euphytica*, 177: 335-342.
31. Sabot, F. and A.H. Schulman. 2006. Parasitism and the retrotransposon life cycle in plants: A hitchhiker's guide to the genome. *Heredity*, 97: 381-388.
32. Sadeghi, F. and J. Rotbeh. 2016. Evaluation of Grain Yield and Yield Components using Descriptive and Multivariate Statistics. *Journal of Crop Breeding*, 8: 212-221.
33. Saeed, A., R. Darvishzadeh, and A. Basirnia. 2013. Simple sequence repeat markers associated with agro- morphological traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Zemdirbyste-Agriculture*, 4: 433-440.
34. Saleem, M., M. Hammad, N. Tahir, R. Kabir, M. Javid and K. Shahzad. 2002. Interrelationships and path analysis of yield attributes in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Agriculture & Biology*, 4: 404-406.
35. Satisha, R. 1995. Evaluation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) germplasm for yield and yield components. M.Sc. (Agri) Thesis, Univ. Agri. Sci. Bangalore, 93 pp.
36. Schulman A.H., A.J. Flavell and T.H.N. Ellis. 2004. The application of LTR retrotransposons as molecular in plants. *Methods in Molecular Biology*, 260: 145-173.
37. Shaaf, S., M.R. Bihamta, A.R. Taleai, V. Mohammadi and B. Kaliliyan. 2012. Association analysis of single nucleotide variation in flowering time genes PpdH1, HvCO1 and HvGI in the barley. *Modern Genetics*, 7: 179-191.
38. Shapiro, S.S. and M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality (Complete samples). *Biometrics*, 52: 591-611.
39. Shehzad, T., H. Iwata and K. Okuno. 2009. Genome-wide association mapping of quantitative traits in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) by using multiple models. *Breeding Science*, 59: 217-227.
40. Singh, M., H. Singh, D.S. Raj Kumar Tank, V.P. Singh, T. Singh, and S.M. Singh. 1988. Correlation and path coefficient analysis of some morphological and seed yield characters in sunflower. *Crop Research*, 16: 93-96.
41. Subramanian, S. and M. Subramanian. 1994. Correlation studies and path coefficient analysis in sesame (*Sesamum indicum* L.). *Journal of Agronomy & Crop Science*, 173: 241-248.
42. Tazeen, M., N. Khan and F. Nasir Naqvi. 2009. Heritability, phenotypic correlation and path coefficient studies for some agronomic characters in synthetic elite lines of wheat. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7: 278-282.
43. Teklewold, A., H. Jayaramaiah, B.N. Jagadeesh. 2000. Correlation and path analysis of phasio-morphological characters of sunflower (*Helianthus annuus* L.) as related to breeding method. *Helia*, 23: 105-4.
44. Thornsberry, J.M., M.M. Goodman, J. Doebley, S. Kresovich, D. Nielsen and E.S. Buckler. 2001. Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nature Genetics*, 28: 286-289.
45. Tuncurk, M. and W. Ciftci. 2004. Relationships among traits using correlation and path coefficient analysis in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) sown different fertilization levels and row spacing. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3: 683-686.
46. Vanda M., M. Khodambashi, S. Houshmand, B. Shiran and R. Amiri Fahlani. 2016. Relationship between grain yield and its components in two F3 lentil (*Lens Culinaris* Medik) populations. *Journal of Crop Breeding*, 8: 140-148.
47. Wilcox, P.L., E.C. Echt and R.D. Burdon. 2007. Gene-assisted selection: applications of association genetics for forest tree breeding. In: *Association Mapping in Plants*, Oraguzie N.C., Rikkerink, E.H.A., Gardiner S.E., De Silva. H.N. (eds). Springer, pp: 211-247.
48. Yasin, A.B. and S. Singh. 2010. Correlation and path coefficient analyses in sunflower. *Journal of Plant Breeding Science*, 2: 129-133.
49. Zhikang, L., R. Shannon, M. Pinson, W. James, H. Stansel and P. Andrew. 1998. Genetic dissection of the source-sink relationship affecting fecundity and yield in rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding*, 4: 419-426.

Association Mapping and Sequential Path Model for Studying Interrelationships Among Yield and Related Characters in Confectionery Sunflower (*Helianthus annuus* L.)

Roghayeh Ziaiefard¹ and Reza Darvishzadeh²

1- Graduated M.Sc., Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University

2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University

(Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)

Received: December 26, 2014

Accepted: April 27, 2015

Abstract

This study was carried out in order to examine the contrastive relationship between seed yield and agro-morphological traits in confectionery sunflowers at molecular and phenotypic level via association mapping and sequential path model. In this study, 50 confectionery sunflower populations gathered from different regions of country were studied in completely randomized design with ten replications under pot conditions in 2012-2013. Some traits including flowering date, physiological maturity date, number of leaves, leaf length, petiole length, leaf width, plant height, stem diameter, head diameter, head dry weight, aerial part dry weight, harvest index, 100-seeds weight, single seed weight, dehulled kernel weight, dehulled kernel weight to whole kernel weight ratio, seed length, seed width, and seed dry weight per plant were measured and calculated. Path analysis revealed direct effects of head dry weight and head diameter on seed yield. Based on Bayesian model, the whole confectionery sunflower populations were classified into three sub-populations. In order to identify molecular markers associated with gene controlling agro-morphological traits variation, association mapping was carried out via mixed linear model (MLM). Some common markers were identified among yield and agro-morphological traits; six common loci between seed yield and 100-seeds weight, one common locus between head diameter and head dry weight, head dry weight and dehulled kernel weight to whole kernel weight ratio, seed width and 100-seeds weight, leaf width and head dry weight, leaf width and seed yield. Identification of common markers between yield and agro-morphological traits confirm the correlations observed at the phenotypic level.

Keywords: Linkage disequilibrium, Mixed linear model, Multicollinearity, Multiple linear regression, Retrotransposon markers, Sunflower