علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۴ (ص ۴۵۰-۴۳۹)

تجزیهٔ *QTL* برای برخی از مشخصه‌های جوانه‌زنی در رگه‌های خالص نوترکیب آفتابگردان در تنش شوری

آسا ابراهیمی[1*]، امیرحسین فرتاش[2]، علی مفاخری[3] و زهرا ساعتیان[4]
۱، ۲، ۳ و ۴. استادیار گروه بیوتکنولوژی و کارشناسان ارشد بیوتکنولوژی، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۵/۱۷)

چکیده

به منظور بررسی تغییرپذیری‌های ژنتیکی، شناسایی و مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفات کمی (QTL) مشخصه (پارامتر)های جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری در گیاه آفتابگردان، آزمایشی شامل هشتاد ژن‌نمون (ژنوتیپ) از یک جامعهٔ خویش‌آمیختهٔ (اینبرد) نوترکیب (*RIL*) آفتابگردان، ناشی از تلاقی دو رگه یا لاین (*PAC2* x *RHA266*) در یک طرح فاکتوریل در دو شرایط کنترل و تنش شوری در سه تکرار و در شرایط آزمایشگاهی کنترل‌شده در مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران اجرا شد. صفات مورد بررسی شامل زمان لازم برای آغاز جوانه‌زنی بذرها، زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی، زمان بیشترین جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بودند. نتایج گویای معنی‌دار بودن تنش شوری و تأثیر ژن‌نمون‌ها در همهٔ صفات اندازه‌گیری‌شده بود. اگرچه تنش شوری تأثیر منفی روی جوانه‌زنی نشان داد، اما معنی‌دار بودن تأثیر ژن‌نمون در تنش نشان‌دهندهٔ رفتار متفاوت ژن‌نمون‌ها در پاسخگویی به تنش شوری بود. در این تحقیق، *QTL*های "*1.T50%G.16.1*" و "*2.T50%G.17.1*" کنترل‌کنندهٔ زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط کنترل و تنش شوری، به عنوان *QTL*های بزرگ‌تأثیر معرفی شدند. همچنین *QTL*های (2.TSG.16.1) و (1.TSG.16.1) کنترل‌کنندهٔ زمان آغاز جوانه‌زنی بذر و*QTL* های (*2.PSG.12.1*)، (*1.PSG.12.1*)، (*2.PSG.12.3*) و (*1.PSG.12.2*) کنترل‌کنندهٔ درصد جوانه‌زنی بذر به عنوان *QTL*های ساختاری معرفی شدند. از مکان‌های کروموزومی و نشانگر (مارکر)های جفت (لینک)شده با آنها در روش گزینش به کمک نشانگر برای بهبود صفت جوانه‌زنی در شرایط شوری پس از آزمایش‌های و تکرارهای لازم می‌توان استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: **آفتابگردان، تنش شوری، جوانه‌زنی،** *QTL*.

مقدمه

شوری، یکی از تنش‌های مهم در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان است که تولید محصولات کشاورزی را محدود می‌کند (Bresler *et al.*, 1982). مرحلهٔ جوانه‌زنی حساس‌ترین مرحلهٔ رشدی گیاه نسبت به تنش شوری تلقی می‌شود (Catalan *et al.*, 1994; Mayer *et al.*, 1989). بعضی از محققان، تأثیر منفی شوری بر جوانه‌زنی گیاهان زراعی را به کاهش پتانسیل اسمزی (Cramer *et al.*, 1994; Mansour, 1994; Rogers *et al.*, 1991) و بعضی دیگر آن را به اثر سمّی یون‌های کلر و سدیم نسبت داده‌اند (Lin *et al.*, 1996; Perez Alfocea *et al.*, 1993; Yapsania

* تلفن: ۰۲۱-۲۲۵۷۶۵۴۳
E-mail: Dr.asaebrahimi@gmail.com

et al., 1994). آفتابگردان که یک گیاه روغنی مهم به شمار می‌رود، به شوری خاک به نسبت حساس است (Katerji *et al.*, 2000). افزایش تقاضا برای کشت این گیاه و نیاز به تنوع زراعی و همچنین گسترش زمین‌های شور، باعث شده تا سطح زیر کشت آفتابگردان به مناطقی با خاک شور و یا مستعد شور شدن کشیده شود که این امر باعث سخت شدن استقرار و کاهش عملکرد گیاه می‌شود. کاهش جوانه‌زنی بذر آفتابگردان در غلظت‌های بالای ۱۲۵ میلی‌متر و ۱۷۵ میلی‌متر کلریدسدیم توسط بعضی از محققان گزارش شده است (Ashraf *et al.*, 1995; Kaya *et al.*, 2005; Mohamed *et al.*, 2004; Turhan *et al.*, 2004a). امروزه با رشد سریع تهیهٔ نقشه‌های پیوستگی (لینکاژی) متراکم بر پایهٔ نشانگرهای مولکولی، یافتن جایگاه صفت کمّی و استفاده از آن امکان‌پذیر شده و کارایی گزینش به کمک نشانگرها بهبود یافته است (Ayoub *et al.*, 2003; Han *et al.*, 1997). توسعهٔ فناوری نشانگرهای مولکولی، تهیهٔ نقشه‌های پیوستگی ژنگانی (ژنومی) با چگالی بالا را برای بسیاری از گیاهان از جمله آفتابگردان امکان‌پذیر کرده است (Poormohammad Kiani *et al.*, 2007). تاکنون *QTL*های کنترل‌کنندهٔ بسیاری از صفات کمّی در آفتابگردان از جمله صفات ساختار ظاهری یا مورفولوژیک (Burke *et al.*, 2002; Nabipour- 2004; Poormohammad Kiani *et al.*, 2007) مشخصه‌های جوانه‌زنی بذر (Al-Chaarani *et al.*, 2004; Ebrahimi *et al.*, 2012) و قابلیت کشت‌بافت (Mohamed *et al.*, 2004) بررسی شدند. Ebrahimi & Sarrafi (2012) نشانگر (مارکر)های AFLP پرشماری را جفت‌شده با درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی برای جمعیتی از جهش (موتانت)های آفتابگردان معرفی کردند. Al-Chaarani *et al.* (2004) برای درصد جوانه‌زنی چهار QTL معرفی کردند. واریانس رخ‌نمونی (فنوتیپی) آنها بین ۸ تا ۱۳ درصد بود، در این تحقیق SSR نشانگرهای SSL20، SSU62، SSU61 و SU100 جفت‌شده با درصد جوانه‌زنی معرفی شدند. Davar *et al.* (2011)، دو QTL روی کروموزوم‌های ۶ و ۱۰ برای سرعت جوانه‌زنی معرفی کردند، یکی از آنها جفت‌شده با SSR نشانگر ORS591 است.

این تحقیق به منظور بررسی تأثیر شوری روی مشخصه‌های مختلف جوانه‌زنی آفتابگردان و تعیین مناطق ژنتیکی کنترل‌کنندهٔ جوانه‌زنی بذر و مشخصه‌های مربوط به آن در شرایط تنش شوری و همچنین شناسایی محل‌های کروموزومی که اثرگذاری‌های همزمانی روی مشخصه‌های مختلف جوانه‌زنی بذر در تنش شوری دارند انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق از هشتاد رگهٔ (لاین) خویش‌آمیختهٔ (اینبرد) نوترکیب (*RIL*) آفتابگردان ناشی از تلاقی بین *RHA266*×*PAC2* استفاده شده است. *RHA266* از تلاقی آفتابگردان وحشی *H. annuus* با *Peredovik* به‌وسیلهٔ USDA به‌دست آمده است. PAC2 نیز یک رگهٔ خویش‌آمیختهٔ به‌دست‌آمده از تلاقی *H. petiolaris* و *HA61* به‌وسیلهٔ INRA- France است. این والدین به همراه هشتاد رگهٔ خویش‌آمیختهٔ به‌دست‌آمده از آنها در یک طرح فاکتوریل در دو شرایط کنترل و تنش شوری در سه تکرار در شرایط آزمایشگاهی کنترل‌شدهٔ مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات کشت شدند. هر تکرار شامل یک پتری‌دیش با ده عدد بذر بود. به منظور ضدعفونی، بذرها به مدت ۱۵ دقیقه در محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم غوطه‌ور و سه مرتبه با آب سترون شستشو شدند. آنگاه بذرها در پتری‌دیش‌هایی با قطر ۱۵ سانتی‌متر در شرایط سترون کشت شدند. محیط کشت مورد استفاده، در شرایط کنترل با ۸٪ *w/v* آگار و آب مقطر سترون شده و در شرایط تنش شوری شامل ۸٪ *w/v* آگار و ۱۵۰ *mM* کلرورسدیم و آب مقطر سترون شده بود (Benavides *et al.*, 1997; Turhan *et al.*, 2004b). پتری‌دیش‌های کشت‌شده به مدت سه هفته درون اتاقک رشد (انکوباتور) و در شرایط تاریک در دمای ۲۴ درجهٔ سلسیوس و ۱۶ ساعت در روز و ۱۸ درجهٔ سلسیوس و ۸ ساعت در شب، قرار داده شدند. شمارش بذرهای جوانه‌زده به صورت روزانه هر ۸ و ۱۶

ساعت یکبار انجام گرفت. شمارش تا هنگامی که افزایشی در شمار بذرهای جوانه‌زده در شش بازدید متوالی مشاهده نشد، ادامه یافت.

صفات مورد بررسی

بر پایهٔ داده‌های به‌دست‌آمده از شمارش‌ها، زمان‌های آغاز جوانه‌زنی بذرها، ۵۰ درصد جوانه‌زنی و بیشترین جوانه‌زنی تعیین و نیز صفات درصد جوانه‌زنی و تحمل به تنش اندازه‌گیری شدند.

تجزیه‌های آماری

در این تحقیق از یک نقشهٔ پیوستگی شامل ۴۹۵ نشانگر (*SSR*۱۹۱ و *AFLP*۳۰۴) با میانگین فاصلهٔ ۳/۷ سانتی‌متر استفاده شده است (Poormohammad Kiani *et al.*, 2007). تجزیه‌های آماری و تجزیهٔ واریانس به کمک نرم‌افزارهای آماری *SAS*/ SPSSانجام شدند. تجزیهٔ *QTL* با استفاده از نرم‌افزار *Win QTL Cartographer* نسخهٔ ۲/۵ به‌طور جداگانه برای هر صفت در هر دو شرایط (کنترل و شوری) انجام گرفت (Wang, 2007). برای تعیین میزان *LOD* در سطح احتمال ۰/۰۵ برای هر کدام از صفات، هزار تبدیل جایگشت (*Permutation*) انجام گرفت. نمودار کروموزوم‌ها و موقعیت *QTL*ها روی نقشهٔ پیوستگی با نرم‌افزار *Map Chart* رسم شد (Map Chart, 2008). بهرهٔ ژنتیکی از اختلاف بین میانگین والدین و ۱۰ درصد بهترین رگه‌های خویش‌آمیخته برای هر صفت به‌دست آمد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیهٔ رخ‌نمونی

تجزیهٔ واریانس رگه‌های خویش‌آمیخته و والدینشان (جدول ۱) نشانگر اختلاف بسیار معنی‌داری بین ژن‌نمون (ژنوتیپ)ها برای همهٔ صفات مورد بررسی بود، که برابر نتایج دیگر محققان است (Ebrahimi *et al.*, 2008; Lenzi- 1995; Poormohammad Kiani *et al.*, 2007; Turhan *et al.*, 2004b). این پدیده بیانگر آن است که بیشترین نوترکیبی در رگه‌های خویش‌آمیختهٔ مورد آزمایش رخ داده است. اختلاف بسیار معنی‌داری بین شرایط کنترل و تنش شوری از نظر زمان آغاز جوانه‌زنی، زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بذر مشاهده شد که نشان‌دهندهٔ تأثیر معنی‌دار شوری بر صفات زمان جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی است. تأثیر متقابل ژن‌نمون در شوری برای همهٔ صفات معنی‌دار شد. این امر بیانگر آن است که واکنش یک ژن‌نمون به محیط شور در مقایسه با ژن‌نمون‌های دیگر متفاوت بوده و لذا گزینش برای ژن‌نمون‌های متحمل به شوری ممکن خواهد بود. تنوع ژنتیکی رگه‌های خویش‌آمیخته و والدینشان به همراه بهرهٔ ژنتیکی در جدول ۲ نشان داده شده است. در این جدول اختلاف بین والدین برای درصد جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری معنی‌دار نشان داد. اختلاف معنی‌دار والدین برای درصد جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری نشان‌دهندهٔ تفاوت والدین در تحمل شوری بوده و گویای آن است که رگه‌های والدینی ژن‌های متفاوتی برای سازگاری با تنش شوری دارند. این نتیجه به وسیلهٔ محققان دیگر نیز در مورد تنش خشکی به‌دست آمده است (Ebrahimi *et al.*, 2008; Poormohammad Kiani *et al.*, 2007). بهرهٔ ژنتیکی (اختلاف بین میانگین والدین با میانگین ۱۰ درصد از بهترین رگه‌های خویش‌آمیختهٔ گزینش‌شده) برای صفات درصد جوانه‌زنی بذر (*PSG*) تحت تنش شوری و وزن هزاردانه مشاهده شد. معنی‌دار شدن بهرهٔ ژنتیکی نشان می‌دهد که هم‌ردیف (آلل)های ژنی افزایش‌دهندهٔ صفت در بین دو والد پخش بوده‌اند و در برخی از نتاج شمار بیشتری هم‌ردیف ژنی مثبت (یا منفی) نسبت به والدین جمع شده است. نتایج ما با نتایج محققان پیشین در مورد صفات مشخصه‌های جوانه‌زنی همخوانی داشت (Al-Chaarani *et al.*, 2004).

نتایج تجزیهٔ *QTL*

نتایج تجزیهٔ *QTL* و محل‌های تعیین‌شده برای *QTL*ها روی نقشهٔ ژنتیکی در جدول ۳ و شکل ۱ نشان داده شده است. در این جدول، اثر افزایشی بیانگر میزان تغییر صفت را در صورت جانشینی یک هم‌ردیف ژنی پدری در محل *QTL* توسط یک هم‌ردیف ژنی مادری نشان می‌دهد. لذا در صورت مثبت بودن، هم‌ردیف ژنی مادری افزایندهٔ صفت و در صورت منفی بودن، هم‌ردیف ژنی موجود در رگهٔ پدری، افزایندهٔ صفت

است. برای هر کدام از صفات مورد بررسی بین چهار تا سیزده *QTL* و در مجموع هفتادویک *QTL* شناسایی شد. واریانس رخ‌نمونی توجیه‌شده با این *QTL*ها از ۵ تا ۲۲ درصد متغیر بود. برای زمان آغاز جوانه‌زنی بذرها در شرایط بدون تنش پنج *QTL* پیدا شد، مهم‌ترین آنها *1.TSG.16.1* بود که در گروه پیوستگی ۱۶ قرار گرفته و ۱۴ درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند. در این تحقیق *QTL* کنترل‌کنندهٔ آغاز جوانه‌زنی روی کروموزوم ۱۴ پیوسته با نشانگر *ORS391* پیدا شد که در تحقیقات پیشین این نشانگر را جفت‌شده با ژن *HPPD* گزارش کرده‌اند (Haddadi *et al.*, 2012). شایان یادآوری است که این ژن مسئول تبدیل پی- هیدروکسی فنیل پیروات به اسید هموژنتیسیک یا اسید ملانیک است (Haddadi *et al.*, 2012) که سوخت‌وساز (متابولیسم) واسطهٔ تجزیهٔ تیروزین و فنل آلانین است. احتمال دارد که در فرایند آغاز جوانه‌زنی از این مواد استفاده شود. برای آغاز جوانه‌زنی تحت تنش شوری هفت *QTL* یافت شد، مهم‌ترین آنها (*2.TSG.16.1*) نیز در گروه پیوستگی۱۶ قرار گرفته و ۱۹درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند. این *QTL* با *QTL* (*1.TSG.16.2*) کنترل‌کنندهٔ همین صفت در شرایط کنترل همپوشانی دارد. این منطقهٔ کروموزومی صفت زمان آغاز جوانه‌زنی بذر را در همهٔ شرایط تحقیق ما (تنش شوری و غیرتنش) کنترل می‌کند و یک *QTL* ثابت یا ساختاری خواهد بود. این *QTL* با نشانگر *SSR* "*SSL33*" پیوستگی دارد. این نشانگر در برنامه‌های اصلاحی گزینش با نشانگر برای تنظیم زمان آغاز جوانه‌زنی پس از بررسی‌های تکمیلی می‌تواند استفاده شود. همچنین*QTL* دیگری روی کروموزوم شمارهٔ ۳ برای صفت آغاز جوانه‌زنی در شرایط شوری یافت شد (*2.TSG.3.1*) که این *QTL* پیشتر برای وزن هزاردانه معرفی شده است (Ebrahimi *et al.*, 2009). این *QTL* با نشانگر" *HA2920* "پیوسته بود.

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس رگه‌های خویش‌آمیختهٔ نوترکیب آفتابگردان برای مشخصه‌های مختلف جوانه‌زنی بذر

SOV	df	*PSG*	*TMG*	*T50%G*	*TSG*
		میانگین مربعات			
تیمار	۱	۵۲۲۳۹/۷۰۲**	۶۲۳۱/۶۸۵**	۲۷۱۲/۲۱۷**	۵۵۴۳/۱۳۵**
ژن‌نمون	۷۹	۲۲۰۵/۸۱۱**	۳۱۳۳/۰۷۷**	۶۱۴/۲۱۲**	۳۰۷/۲۹۵**
تیمار × ژن‌نمون	۷۹	۱۰۲۱/۸۵۶**	۲۴۱۴/۰۰۰**	۴۵۰/۱۸۴**	۲۳۶/۸۱۹**
خطا	۳۲۰	۶۲/۶۷۸	۱۲۶/۳۸۲	۴۸/۳۹۶	۳۲/۳۳۴
کل	۴۸۰				

**TSG*: زمان آغاز جوانه‌زنی بذر؛ *T50%G*: زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذر؛ *TMG*: زمان بیشترین جوانه‌زنی بذر؛ *PSG*: درصد جوانه‌زنی بذر.*، ** و *** به‌ترتیب نمایندهٔ معنی‌دار بودن در سطوح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱.

جدول ۲. تنوع ژنتیکی و بهرهٔ ژنتیکی برای مشخصه‌های جوانه‌زنی بذر در شرایط شاهد و شوری

تغییرپذیری‌های ژنتیکی	*PSG*		*TMG*		*T50%G*		*TSG*	
PAC 2 (P1)	شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد
RHA266(P2)	۸۳/۳۳	۱۰۰	۵۶	۴۵/۶۶	۳۸	۳۰/۳۳	۳۸	۲۲/۶۶
P1 – P2	۶۳/۳۳	۹۰	۷۱/۳۳	۷۱/۳۳	۴۵/۶۶	۳۸	۳۸	۳۰/۳۳
10%SRIL	۲۰*	۱۰^{ns}	-۱۵/۳۳^{ns}	-۲۵/۶۷*	-۷/۶۶^{ns}	-۷/۶۷^{ns}	۰/۰^{ns}	-۷/۶۷^{ns}
GG10%=10%SRIL- $\overline{X}$ *P*	۸۸	۱۰۰	۵۸/۱	۴۷/۳	۳۹/۰۳	۲۱/۲	۳۳/۴	۱۹/۶
	۱۴/۶۷*	۵/۰^{ns}	-۵/۵۶^{ns}	-۱۱/۱۹^{ns}	-۲/۸^{ns}	-۱۲/۹۶^{ns}	-۴/۶^{ns}	-۶/۸۹^{ns}

TSG: زمان آغاز جوانه‌زنی؛ *T50%G*: زمان ۵۰درصد جوانه‌زنی؛ *TMG*: زمان بیشترین جوانه‌زنی؛ *PSG*: درصد جوانه‌زنی؛ (P2) *RHA 266* و (P1)*PAC 2*: رگه‌های والد؛ $\overline{X}$ *SRIL 10%*: میانگین بهترین ۱۰درصد *RIL*های گزینش‌شده؛ *GG10%*: اختلاف میانگین ۱۰درصد از بهترین *RIL*های گزینش‌شده با میانگین والدین.*

*: معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۰/۰۵؛ ns: اختلاف غیرمعنی‌دار.

کروموزوم شمارهٔ ۱۶ محل قرار گرفتن *QTL* بزرگ اثری است که ۲۰درصد از تغییرپذیری‌های آغاز جوانه‌زنی در شرایط شوری را کنترل می‌کند. این *QTL* با *QTL* کنترل‌کنندهٔ وزن هزار مغز آفتابگردان (Ebrahimi *et al.*, 2009) و نیز با *QTL* کنترل‌کنندهٔ اسید پالمتیک در آفتابگردان (Ebrahimi *et al.*, 2009) همپوشانی دارد. این *QTL*ها با نشانگر *SSR* "*HA2193*" کنترل می‌شوند. شایان یادآوری است هم‌ردیف‌های ژنی مطلوب برای هر دو *QTL* از والد پدری به ارث می‌رسد. روی کروموزوم شمارهٔ ۱۰ نیز *QTL* کنترل‌کنندهٔ آغاز جوانه‌زنی همپوشان با نشانگر "*ORS838*" است که این نشانگر وزن هزاردانه را کنترل می‌کند (Ebrahimi *et al.*, 2009). به نظر می‌رسد وزن هزاردانه و اجزای تشکیل‌دهندهٔ آن با زمان آغاز جوانه‌زنی ارتباط دارد و به‌وسیلهٔ مناطقی با اثرگذاری‌های چنداثری (پلیوتروپی) کنترل می‌شود.

جدول ۳. محل قرارگیری *QTL*های پیداشده روی نقشه و میزان تأثیر افزایشی آنها برای مشخصه‌های جوانه‌زنی بذر در جامعهٔ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب آفتابگردان تحت شرایط کنترل و شوری

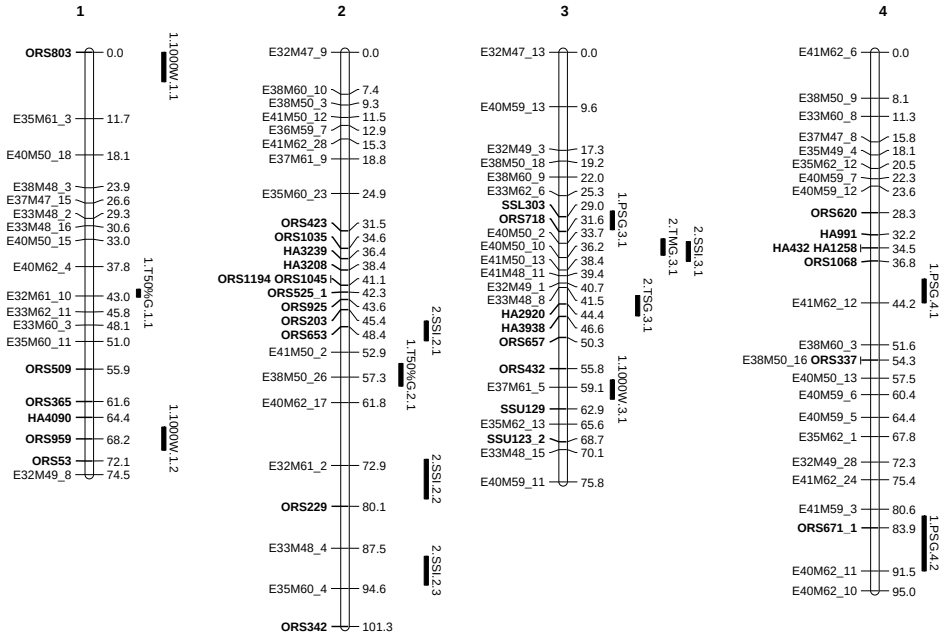
			شاهد				
Trait	LG	QTL	Marker	Position (cM)	*LOD*	Additive	٪R2
TSG	۸	*1.TSG.8.1*	*HA3513*	۲/۰۱	۴/۶۵	۴/۵۵	۹
	۱۰	*1.TSG.10.1*	*ORS878*	۱۲/۴	۳/۲۰	-۳/۹۴	۷
	۱۴	*1.TSG.14.1*	*ORS391*	۷۳/۳۶	۳/۷۱	۳/۹۱	۶
	۱۶	*1.TSG.16.1*	*E41M59-2*	۰/۰۱	۴/۷۸	-۶/۰۳	۴
	۱۶	*1.TSG.16.2*	*ORS665*	۱۲۰/۰۶	۳/۷۶	-۴/۵۸	۷
T50%G	۱	*1.T50%G.1.1*	*E32M61_10*	۴۲/۹۶	۷/۷۴	۸/۱۲	۴
	۲	*1.T50%G.2.1*	*E41M50_2*	۵۶/۸۶	۳/۴۵	-۷/۱۴	۸
	۱۰	*1.T50%G.10.1*	*ORS591*	۱۰۷/۱۶	۲/۶۷	۵/۵۶	۵
	۱۲	*1.T50%G.12.1*	*SSL268*	۷۰/۳۱	۳/۱۰	-۵/۳۳	۵
	۱۴	*1.T50%G.14.1*	*SSU227*	۷۱/۴۶	۳/۶۲	۶/۱۶	۶
	۱۶	*1.T50%G.16.1*	*E41M59_2*	۰/۰۱	۷/۶۳	-۹/۸۶	۲۱
	۱۶	*1.T50%G.16.2*	*E37M61_8*	۸۰/۸۱	۳/۶۶	-۶/۷۰	۶
TMG	۸	*1.TMG.8.1*	*E41M48_8*	۱۰۱/۳۱	۲/۸۰	۹/۰۵	۵
	۹	*1.TMG.9.1*	*E40M47_7*	۱۲۱/۳۶	۵/۴۹	-۱۳/۱۴	۱۱
	۱۰	*1.TMG.10.1*	*E41M50_3*	۱۱۵/۵۶	۳/۹۴	-۲۲/۲۶	۷
	۱۰	*1.T5MG.10.2*	*E37M49_3*	۱۲۶/۶۹	۶/۳۰	-۱۶/۱۶	۱۱
	۱۰	*1.TMG.10.3*	*HA2579*	۱۶۶/۵۱	۲/۹۲	-۱۲/۲۹	۶
	۱۵	*1.TMG.15.1*	*E38M48_4*	۷۵/۱۶	۴/۱۳	-۱۰/۲۸	۷
	۱۵	*1.TMG.15.2*	*E35M48_4*	۸۲/۳۶	۵/۷۷	-۱۱/۹۰	۹
	۱۷	*1.TMG.17.1*	*E38M50_5*	۱۰۷/۵۱	۶/۷۴	۱۴/۲۱	۱۱
	۱۷	*1.TMG.17.2*	*E38M48_1*	۱۲۶/۸۶	۳/۶۳	-۱۲/۰۱	۹
PSG	۳	*1.PSG.3.1*	*SSL303*	۲۹/۰۱	۳/۰۵	-۷/۳۴	۵
	۴	*1.PSG.4.1*	*ORS1068*	۳۶/۸۱	۳/۳۱	۸/۷۸	۸
	۴	*1.PSG.4.2*	*ORS671_1*	۸۳/۸۶	۴/۶۶	-۹/۱۰	۸
	۵	*1.PSG.5.1*	*E41M48_13*	۴۸/۷۱	۳/۴۷	۱۰/۰۱	۱۰
	۹	*1.PSG.9.1*	*E33M48_9*	۶۶/۸۱	۳/۵۶	-۷/۴۰	۶
	۱۲	*1.PSG.12.1*	*ORS671_2*	۱۹/۱۱	۷/۵۳	-۱۵/۰۶	۱۶
	۱۲	*1.PSG.12.2*	*E33M48_22*	۵۰/۷۱	۵/۵۶	۱۳/۲۸	۱۳
	۱۲	*1.PSG.12.3*	*E40M59_8*	۶۶/۸۶	۴/۰۳	-۹/۹۰	۷
	۱۵	*1.PSG.15.1*	*ORS1242*	۶۳/۲۶	۴/۷۵	-۹/۱۵	۹

* اعدادی که در ابتدای نام *QTL* نشان داده شده به‌ترتیب: ۱. شرایط کنترل؛ ۲. تنش شوری؛*TSG*: زمان آغاز جوانه‌زنی؛*T 50%G*: زمان ۵۰درصد جوانه‌زنی؛ *TMG*: زمان بیشترین جوانه‌زنی؛ *PSG*: درصد جوانه‌زنی بذرها؛ *SSI*: تحمل به تنش؛ گروه پیوستگی؛ شمار *QTL* روی هر گروه پیوستگی.

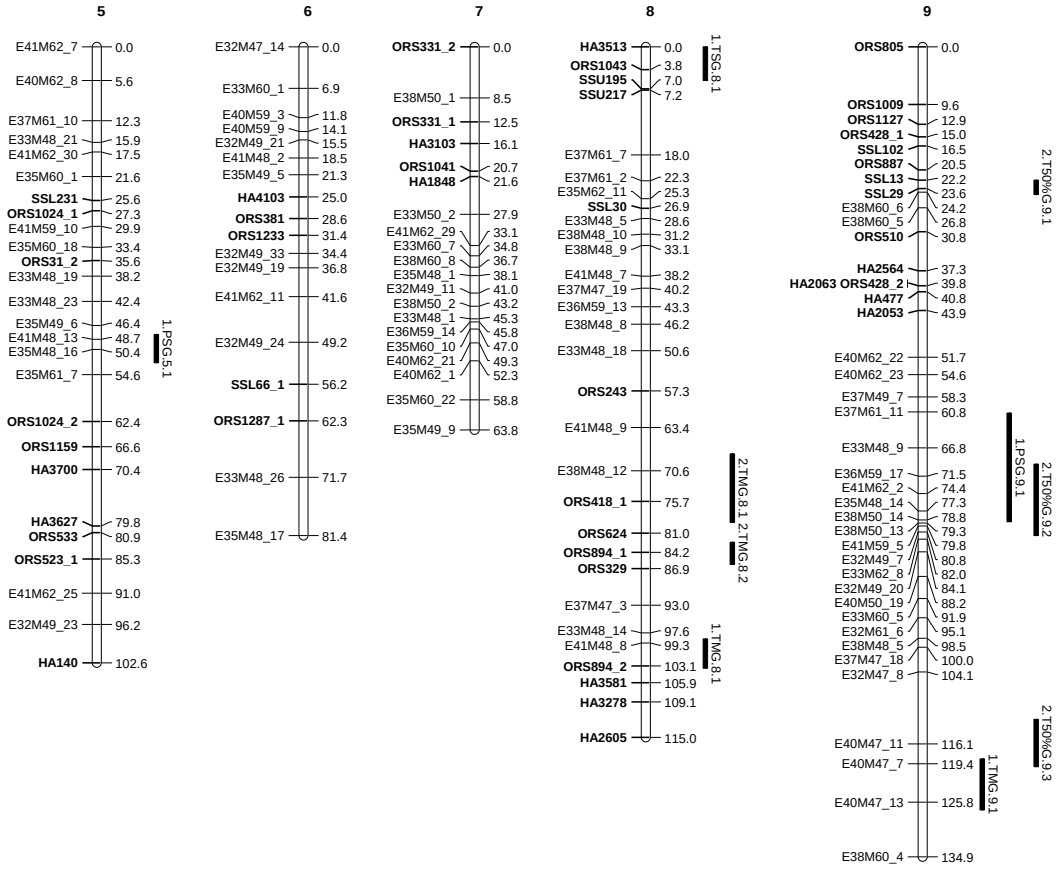
ادامه جدول ۳. محل قرارگیری *QTL*های پیداشده روی نقشه و میزان تأثیر افزایشی آنها برای مشخصه‌های جوانه‌زنی بذر در جامعهٔ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب آفتابگردان تحت شرایط کنترل و شوری

تنش شوری							
Trait	LG	QTL	Marker	Position (cM)	LOD	Additive	٪R2
TSG	۳	*2.TSG.3.1*	*HA2920*	۴۴/۳۶	۲/۹۵	-۳/۳۶	۶
	۱۲	*2.TSG.12.1*	*E40M62_14*	۴۰/۹۱	۳/۵۹	۶/۶۱	۱۶
	۱۴	*2.TSG.14.1*	*HA3886*	۱۴/۴۱	۲/۵۹	-۳/۶۶	۶
	۱۴	*2.TSG.14.2*	*SSL33*	۸۰/۸۱	۴/۴۸	۴/۴۶	۷
	۱۵	*2.TSG.15.1*	*E35M60_17*	۹/۴۶	۳/۲۸	۳/۱۳	۵
	۱۶	*2.TSG.16.1*	*HA2193*	۱۲۲/۶۱	۷/۸۰	-۵/۷۶	۱۹
T50%G	۹	*2.T50%G.9.1*	*SSL29*	۲۳/۵۶	۸/۷۰	۸/۰۱	۱۲
	۹	*2.T50%G.9.2*	*E41M62_2*	۷۴/۴۱	۳/۵۶	-۵/۴۹	۶
	۹	*2.T50%G.9.3*	*E40M47_11*	۱۱۶/۱۱	۶/۰۱	۵/۸۳	۸
	۱۰	*2.T50%G.10.1*	*E35M61_11*	۴۱/۶۶	۹/۳۰	-۸/۰۶	۱۵
	۱۰	*2.T50%G.10.2*	*ORS1144*	۱۶۰/۶۱	۳/۸۵	-۵/۷۷	۶
	۱۱	*2.T50%G.11.1*	*E33M50_6*	۳۴/۵۶	۳/۶۰	-۴/۷۶	۵
	۱۳	*2.T50%G.13.1*	*ORS630*	۴۴/۱۶	۲/۶۴	۵/۰۴	۵
	۱۴	*2.T50%G.14.1*	*HA2077*	۳۲/۰۶	۳/۵۴	۴/۷۳	۵
	۱۵	*2.T50%G.15.1*	*SSU223*	۱۱/۶۱	۵/۲۵	۵/۴۴	۷
	۱۶	*2.T50%G.16.1*	*ORS303_1*	۳۰/۰۶	۶/۲۷	-۶/۰۵	۹
	۱۷	*2.T50%G.17.1*	*E32M61_14*	۶۴/۲۱	۹/۸۷	۹/۳۲	۲۲
	۱۷	*2.T50%G.17.2*	*E38M50_7*	۷۴/۱۱	۷/۹۸	۸/۰۷	۱۶
TMG	۳	*2.TMG.3.1*	*E40M50_2*	۳۳/۶۶	۲/۹۴	-۱۱/۳۷	۵
	۸	*2.TMG.8.1*	*E38M48_12*	۷۰/۶۱	۳/۹۳	۱۳/۱۸	۸
	۸	*2.TMG.8.2*	*ORS894_1*	۸۴/۱۶	۳/۳۱	۱۱/۷۷	۶
	۱۰	*2.TMG.10.1*	*E33M50_1*	۱۳۹/۱۶	۵/۲۵	-۲۵/۱۲	۹
	۱۰	*2.TMG.10.2*	*HA3039*	۱۷۰/۶۶	۲/۶۴	-۱۲/۹۵	۵
	۱۲	*2.TMG.12.1*	*E37M49_6*	۵۳/۴۶	۴/۴۷	۱۲/۲۷	۷
	۱۳	*2.TMG.13.1*	*E41M50_5*	۴/۸۶	۴/۴۶	-۱۴/۱۴	۹
	۱۴	*2.TMG.14.1*	*ORS1128*	۰/۰۱	۳/۷۶	-۱۲/۳۳	۷
	۱۴	*2.TMG.14.2*	*E41M50_9*	۵۶/۱۱	۵/۰۶	۱۳/۵۴	۹
	۱۴	*2.TMG.14.3*	*SSL20_1*	۷۰/۳۶	۳/۸۵	۱۱/۶۹	۷
	۱۶	*2.TMG.16.1*	*ORS5_2*	۳۱/۱۱	۳/۰۴	-۱۰/۸۱	۶
PSG	۱۰	*2.PSG.10.1*	*HA2579*	۱۶۶/۵۱	۲/۶۵	-۹/۷۱	۶
	۱۲	*2.PSG.12.1*	*ORS671_2*	۱۹/۱۱	۴/۶۳	-۱۲/۹۸	۱۱
	۱۲	*2.PSG.12.2*	*HA3073*	۲۵/۸۶	۲/۸۷	-۱۲/۸۰	۱۰
	۱۲	*2.PSG.12.3*	*E37M49_6*	۵۳/۴۶	۴/۵۸	۱۱/۱۵	۹
SSI	۲	*2.SSI.2.1*	*ORS653*	۴۸/۳۶	۵/۶۰	۰/۱۷	۱۳
	۲	*2.SSI.2.2*	*E32M61-2*	۷۲/۹۱	۹/۴۲	-۰/۱۶	۱۴
	۲	*2.SSI.2.3*	*E33M48-4*	۹۱/۵۱	۳/۷۸	-۰/۱۱	۸
	۳	*2.SSI.3.1*	*E40M50-2*	۳۳/۶۶	۷/۱۰	۰/۱۳	۹
	۱۰	*2.SSI.10.1*	*E35M48-8*	۸۴/۴۱	۵/۵۹	-۰/۱۲	۱۰
	۱۴	*2.SSI.14.1*	*E40M62-12*	۸۸/۴۱	۵/۸۱	۰/۱۲	۸
	۱۵	*2.SSI.15.1*	*ORS1242*	۶۳/۲۶	۵/۴۱	-۰/۱۰	۷
	۱۷	*2.SSI.17.1*	*E41M59-8*	۶/۴۶	۵/۰۱	۰/۱۰	۶

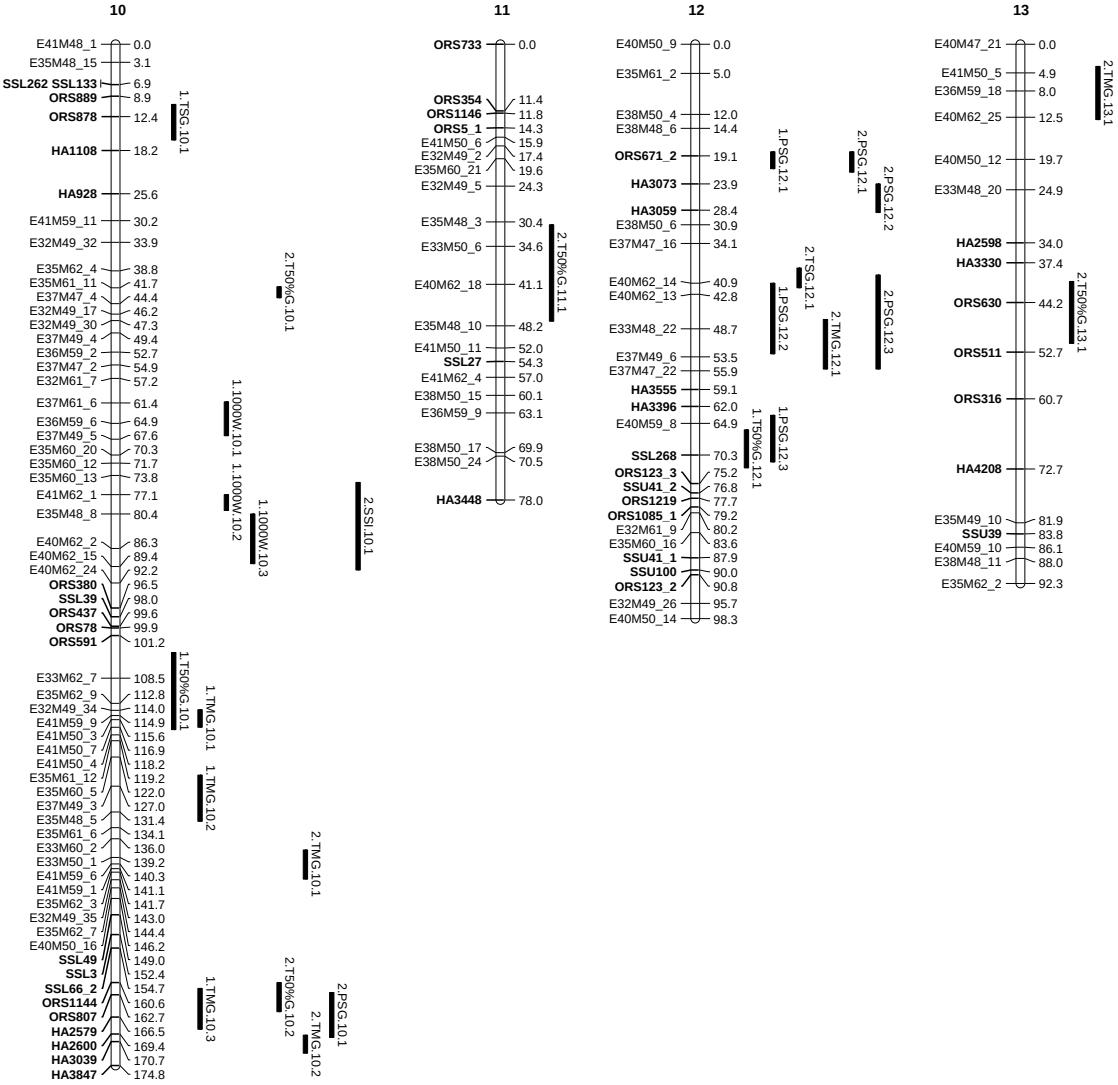
* اعدادی که در ابتدای نام *QTL* نشان داده شده به‌ترتیب: ۱. شرایط کنترل؛ ۲. تنش شوری؛ *TSG*: زمان آغاز جوانه‌زنی؛ *T 50%G*: زمان ۵۰درصد جوانه‌زنی؛ *TMG*: زمان بیشترین جوانه‌زنی؛ *PSG*: درصد جوانه‌زنی بذرها؛ *SSI*: تحمل به تنش؛ گروه پیوستگی؛ شمار *QTL* روی هر گروه پیوستگی.



شکل ۱. محل قرارگیری QTLهای پیداشده بر روی گروه‌های پیوستگی و نقشهٔ ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (۱۹۱SSR و ۳۰۴AFLP) تهیه‌شده از ۸۰ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی RHA۲۶۶×PAC۲.

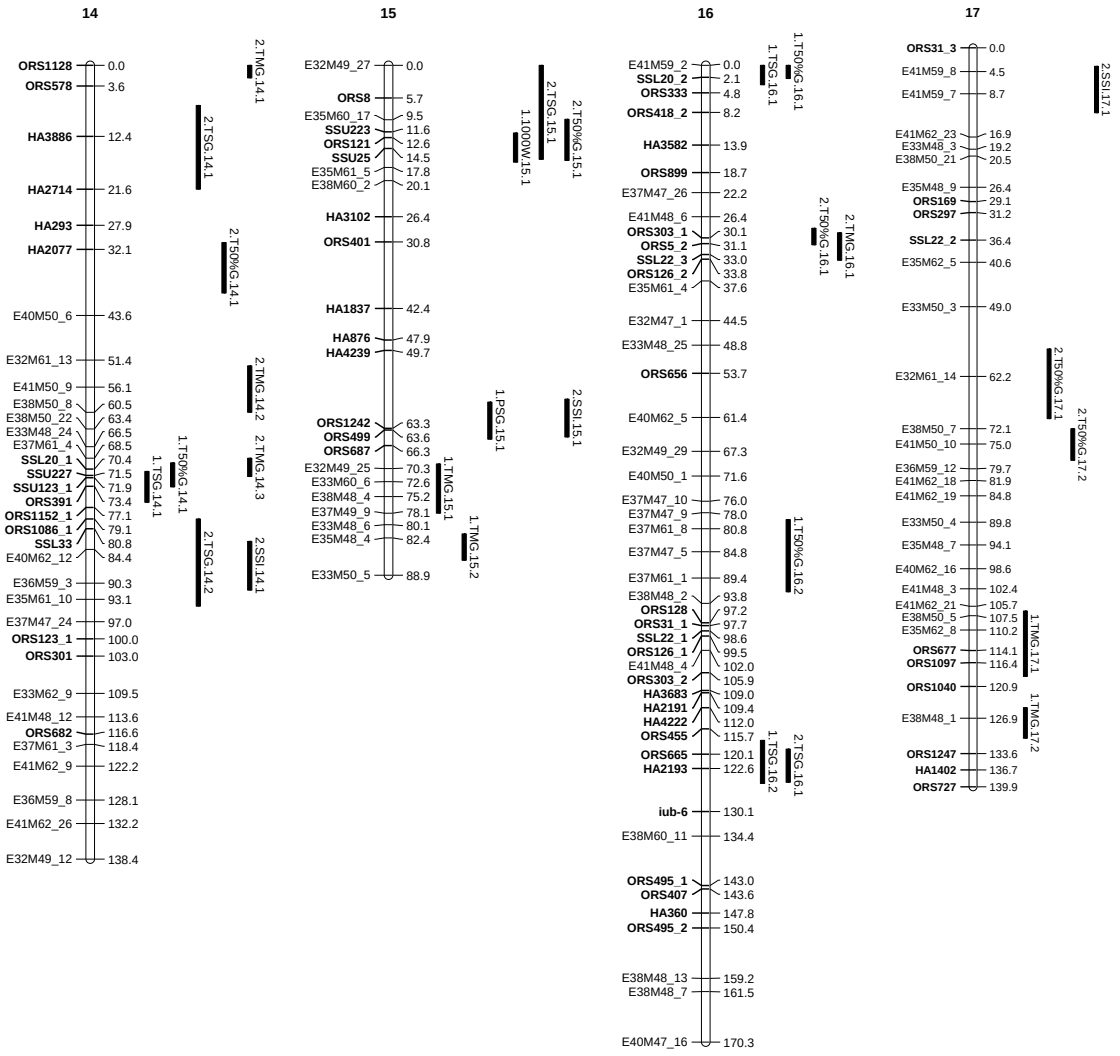


ادامه شکل ۱. محل قرارگیری QTLهای پیداشده بر روی گروه‌های پیوستگی و نقشهٔ ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (۱۹۱SSR و ۳۰۴AFLP) تهیه‌شده از ۸۰ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی RHA۲۶۶×PAC۲.



ادامه شکل ۱. محل قرارگیری QTLهای پیداشده بر روی گروه‌های پیوستگی و نقشهٔ ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (۱۹۱SSR و ۳۰۴AFLP) تهیه‌شده از ۸۰ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی RHA۲۶۶×PAC۲.

در این تحقیق، نشانگر "*HA3886*" با *QTL* کنترل‌کنندهٔ زمان آغاز جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری پیوستگی دارد. این نشانگر پیوسته با *QTL* کنترل‌کنندهٔ میزان اسید استئاریک بذر در شرایط کنترل گزارش شده است (Ebrahimi *et al.*, 2008). به هر حال ذخایر بذر نیروی جوانه‌زنی را تأمین می‌کنند و این احتمال وجود دارد که بین میزان اسید استئاریک و تحمل شوری ارتباطی وجود داشته است. این احتمال که این اسید چرب روی زمان جوانه‌زنی تأثیر داشته است به بررسی‌های بیشتری نیاز دارد. هم‌ردیف‌های ژنی مطلوب برای هر دو صفت از سوی والد (*RHA266*) آمده‌اند. همچنین، نشانگر "*SSL33*" که با *QTL* کنترل‌کنندهٔ زمان آغاز جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری پیوستگی دارد؛ با *QTL* کنترل‌کنندهٔ بلندی جوانه (Al-Chaarani *et al.*, 2004) و نیز با *QTL* کنترل‌کنندهٔ میزان اسید پالمیتیک بذر تحت تنش خشکی (Ebrahimi *et al.*, 2008) همپوشانی دارد. روی کروموزوم شمارهٔ ۱۴ دو *QTL*، "*2.TSG.14.1*" و "*2.TSG.14.2*" (کنترل‌کنندهٔ صفت آغاز جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری) وجود دارند که این دو *QTL* با نشانگرهای *SSR* "*HA 3886*" و "*SSL 33*" کنترل می‌شوند. این نشانگرها به ترتیب پیوسته با *QTL*های کنترل‌کنندهٔ میزان اسید استئاریک و اسید پالمتیک در شرایط تنش خشکی معرفی شده‌اند (Ebrahimi *et al.*, 2008).



ادامه شکل ۱. محل قرارگیری QTLهای پیداشده بر روی گروه‌های پیوستگی و نقشهٔ ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (۱۹۱SSR و ۳۰۴AFLP) تهیه‌شده از ۸۰ رگهٔ خویش‌آمیختهٔ نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی PAC۲×RHA۲۶۶.

به‌نظر می‌رسد این مناطق کروموزومی، مناطق مهمی در تحمل گیاه نسبت به تنش‌های خشکی و شوری هستند و ضرورت دارد برای اصلاح تحمل به شوری و خشکی در بررسی‌های بعدی از آنها استفاده شود. برای صفت زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی در شرایط کنترل، دو *QTL* "*1.T50%G.16.1*" و "*2.T50%G.17.1*" که به ترتیب ۲۱ و ۲۲ درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کردند به عنوان *QTL*های بزرگ‌اثر معرفی شدند. همچنین روی کروموزوم ۱۲ *QTL*، "*1.T50%.G12.1*" با نشانگر *SSR*، "*SSL268*" که کنترل‌کنندهٔ صفت زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی در شرایط کنترل است با *QTL* که کنترل‌کنندهٔ صفت وزن هزارپوسته و هزاردانه، همپوشان است (Ebrahimi *et al.*, 2009) که نشان‌دهندهٔ ارتباط وزن هزاردانه با زمان جوانه‌زنی است. برای صفت زمان بیشترین جوانه‌زنی بذرها تحت تنش شوری، مهم‌ترین *QTL* "*2.TMG.10.1*" در گروه پیوستگی ۱۰ قرار گرفته و ۹ درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند. همچنین *QTL* "*2.TMG.10.2*" با نشانگر *SSR* "*HA3039*" پیوسته است و صفت زمان بیشترین جوانه‌زنی بذرها تحت تنش شوری را کنترل می‌کند با *QTL* مربوط به صفت چگالی بذر و *QTL* مؤلفه‌های کیفیت روغن (میزان اسید پالمتیک، اسید استئاریک، اسید اولیئک و اسید لینولئیک) همپوشان است

(Ebrahimi *et al.*, 2009; Ebrahimi *et al.*, 2008). احتمال دارد این منطقهٔ کروموزومی با کنترل ذخایر بذر جوانه‌زنی آن را در شرایط تنش کنترل کند. در آفتابگردان گونه‌های *Helianthus annuus* و *Helianthus petiolaris* ناحیهٔ جذب کلسیم روی کروموزوم شمارهٔ ۱ بین دو نشانگر *SSR* "*ORS728*" و "*ORS1128*" و ناحیهٔ جذب پتاسیم روی کروموزوم شمارهٔ ۱ بین دو نشانگر *SSR* "*ORS728*" و "*ORS1128*" قرار دارد (Lexer *et al.*, 2003). نشانگر *SSR* "*ORS1128*" در این تحقیق برای زمان بیشترین جوانه‌زنی در شرایط تنش به‌دست آمد. احتمال دارد این نشانگر از راه جذب کلسیم با سازوکار تحمل به تنش شوری ارتباط داشته باشد که در گونهٔ اهلی آفتابگردان نیز در شرایط تنش شوری بیشترین جوانه‌زنی را کنترل می‌کند.

برای درصد جوانه‌زنی بذرها تحت شرایط کنترل، مهم‌ترین *QTL* "*1.PSG.12.1*" در گروه پیوستگی ۱۲ قرار گرفته و ۱۶ درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند. در این تحقیق گروه پیوستگی ۱۲ به عنوان مهم‌ترین ناحیهٔ کروموزومی در جوانه‌زنی آفتابگردان با ۶ *QTL* کنترل‌کنندهٔ درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و شاهد شناخته شده است. دو ناحیهٔ همپوشان در گروه پیوستگی ۱۲ دیده می‌شود که به ترتیب *QTL* "*2.PSG.12.1*" کنترل‌کنندهٔ درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و *QTL* "*1.PSG.12.1*" کنترل‌کنندهٔ درصد جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش شوری (کنترل) است. این منطقهٔ کروموزومی، صفت درصد جوانه‌زنی بذر را در همهٔ شرایط تحقیق ما (تنش و غیرتنش) کنترل می‌کند و یک *QTL* ثابت‌اثر است. این مکان ژنی با نشانگر *SSR* "*ORS671-2*" پیوستگی دارد. این منطقهٔ کنترل‌کنندهٔ درصد پروتئین بذر در شرایط تنش خشکی و میزان اسید استئاریک در شرایط تنش خشکی و کنترل معرفی شده است (Ebrahimi *et al.*, 2009). *QTL* ثابت‌اثر دیگری روی گروه پیوستگی ۱۲ مربوط به *QTL* "*2.PSG.12.3*" کنترل‌کنندهٔ صفت درصد جوانه‌زنی تحت تنش شوری و "*1.PSG.12.2*" کنترل‌کنندهٔ همین صفت در شرایط بدون تنش شوری قرار دارد. بر روی این مکان‌های ژنی در آینده برای اصلاح آفتابگردان می‌توان بررسی‌های بیشتری انجام داد.

نشانگر "*ORS1068*" که در این تحقیق در نزدیکی *QTL* کنترل‌کنندهٔ درصد جوانه‌زنی بذر قرار داشت، در نزدیکی *QTL*های کنترل‌کنندهٔ درصد روغن بذر، وزن پوستهٔ بذر و نسبت وزن دانه به پوستهٔ بذر گزارش شده بود (Tang *et al.*, 2006). همچنین نشانگر "*HA3073*" که کنترل‌کنندهٔ درصد جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری است با *QTL* کنترل‌کنندهٔ پتانسیل اسمزی و تورم برگ پیوستگی داشت (Poormohammad Kiani *et al.*, 2007). این تحقیق نشان می‌دهد نشانگر "*HA3073*" در ناحیهٔ کروموزومی مهمی قرار گرفته است که در سازگاری گیاه تحت تنش‌های محیطی (شوری و خشکی) نقش ایفا می‌کند. برای صفت تحمل به تنش هشت *QTL* یافت شد، مهم‌ترین آنها "*2.SSI.2.2*" که در گروه پیوستگی ۲ قرار گرفته و ۱۴درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند. در روی گروه پیوستگی ۱۵، *QTL* "*2.SSI.15.1*" با *QTL* "*1.PSG.15.1*" همپوشانی دارد. این مکان ژنی با نشانگر *SSR* "*ORS1242*" پیوستگی دارد و ۷درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند.

تحمل آفتابگردان به تنش شوری از راه افزایش جذب پتاسیم صورت می‌گیرد (Lexer *et al.*, 2003). تجزیهٔ *QTL* ژن‌های نامزد (کاندید) تحمل به شوری در آفتابگردان نشان داد که سه کلاس مختلف ژنی شامل؛ جذب/ تبادل کلسیم، گیرندهٔ کلسیم و تونل‌های سدیم-پتاسیم در تحمل به شوری نقش دارند (Lexer, 2004)، پس در نتیجه سازوکار تحمل به شوری در آفتابگردان نیز ویژگی‌های همسان با دیگر گیاهان دارد. پیدا کردن ژن‌نمون‌های مقاوم به شوری در مرحلهٔ جوانه‌زنی بذر آفتابگردان در برنامه‌های اصلاحی اهمیت زیادی دارد و می‌تواند باعث بهبود تثبیت ارقام زراعی در زمین‌های شور شود. برای اینکه بتوان از این *QTL*ها در جهت بهبود ارقام زراعی استفاده کرد، به بررسی‌های تکمیلی زیادی در سال‌ها، مکان‌ها و زمینه‌های ژنتیکی متفاوت برای

تأیید این *QTL*ها نیاز است. برای استفاده از این *QTL*ها در برنامه‌های اصلاحی لازم است تا آنها پیوستگی شدیدی با نشانگرهای مناسب داشته باشند. ماهیت هم‌بارزی نشانگرهای *SSR* و مکان ژنی (لوکوس)- اختصاصی بودن آن باعث شده است تا این نشانگر ابزاری مطلوب برای برنامه‌های گزینش نشانگری باشد.

REFERENCES

1. Al-Chaarani, G.R., Gentzbittel, L., Huang, X.Q. & Sarrafi, A. (2004). Genotypic variation and identification of QTLs for agronomic traits using AFLP and SSR markers in RILs of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 109(7), 1353-1360.
2. Ashraf, M. & Tufail, M. (1995). Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Agronomy and Crop Science*, 174(5), 351-362.
3. Ayoub, M., Armstrong, E., Bridger, G., Fortin, M.G. & Mather, D.E. (2003). Marker based selection in barley for a QTL region affecting alpha amylase activity of malt. *Crop Science*, 43(5), 556-561.
4. Benavides, M.P., Aizencang, G. & Tomaro, M.L. (1997). Polyamines in *Helianthus annuus* L. during Germination under Salt Stress. *Plant Growth Regulation*, 16(4), 205-211.
5. Bresler, E., McNeal, B.L. & Carter, D.L. (1982). Saline and sodic soil springer: Berlin, Heidelberg, New York.
6. Burke, J.M., Tang, S., Knapp, S.J. & Rieseberg, L.H. (2002). Genetic analysis of sunflower domestication. *Genetics societyty of America*, 161(3), 1257-1267.
7. Catalan, I., Balzarini, Z., Talesnik, E., Sereno, R. & Karlin, U. (1994). Effect of salinity on germination and seedling growth of Prosopis flexuosa (D.C). *Forest Ecology and Management*, 63(2-3), 347-357.
8. Cramer, G., Alberico, G.J. & Schmidt, C. (1994). Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. *Australian Journal of Plant Physiology*, 21(5), 675-692.
9. Davar, R., Darvishzadeh, R. & Majd, A. (2011). Genotype-isolate Interaction for Resistance to Sclerotinia sclerotiorum in Sunflower. *Phytopatholigia Mediterrenea*, 50(1), 442-449.
10. Ebrahimi, A., Maury, P., Berger, M., Calmon, A., Grieu, P. & Sarrafi, A. (2009). QTL mapping of protein content and seed characteristic under water-stress condition in sunflower. *Genome*, 52(5), 419-340.
11. Ebrahimi, A., Maury, P., Berger, M., Poormohammad Kiani, S., Nabipour, A., Shariati, F., Grieu, P. & Sarrafi, A. (2008). QTL mapping of seed-quality traits in sunflower recombinant inbred lines under different water regimes. *Genome*, 51(8), 599-615.
12. Ebrahimi, A. & Sarrafi, A. (2012). Genetic variability and identification of markers associated with germination parameters in gamma-irradiation induced mutants of sunflower under water stress condition. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 1(2), 1-8.
13. Haddadi, P., Ebrahimi, A., Langlade, N.B., Yazdi-samadi, B., Berger, M., Calmon, A., Naghavi, M.R., Vincourt, P. & Sarrafi, A. (2012). Genetic dissection of tocopherol and hytosterol in recombinant inbred lines of sunflower through quantitative trait locus analysis and the candidate gene approach. *Molecular Breeding*, 29(3), 717-729.
14. Han, F., Ullrich, S.E., Kleinhofs, A., Jones, B.L., Hayes, P.M. & Wesenberg, D.M. (1997). Fine structure mapping of the barley chromosome 1 centromere region containing malt quality QTL. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(5-6), 903-910.
15. Katerji, N., van Hoorn, J.W., Hamdy, A. & Mastrorilli, M. (2000). Salt tolerance classification of crops according to soil salinity and to water stress day index. *Agricultural Water Management*, 43(1), 99-109.
16. Kaya, M.D., Okc, G., Atak, M., Cikili, Y. & Kolsarici, O. (2005). Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, 24(4), 291-295.
17. Lenzi, A., Fambrini, M., Barotti, S., Pugliesi, C. & Vernieri, P. (1995). Seed germination and seedling growth in a wilty mutant of sunflower (*Helianthus annuus* L.): Effect of abscisic acid and osmotic potential. *Environmental and Experimental Botany*, 35(4), 427-434.
18. Lexer, C., Welch, M.E., Durphy, J.L. & Rieseberg, L.H. (2003). Natural selection for salt tolerance quantitative trait loci (QTLs) in wild sunflower hybrids: Implication for the origin of Helianthus paradoxus, a diploid hybrid species. *Molecular Ecology*, 12(5), 1225-1235.
19. Lexer, C., Lai, Z. & Rieseberg, L.H. (2004). Candidate gene polymorphisms associated with salt tolerance in wild sunflower hybrids: implication for the origin of Helianthus paradoxus , a diploid hybrid species. *National Institute of Health*, 16(1), 225-233.
20. Lin, C. & Kao, C.H. (1996). Proline accumulation is associated with inhibition of root growth of rice seedling caused by NaCl. *Plant Science*, 114(2), 121-128.
21. Mansour, M.M.F. (1994). Changes in growth, osmotic potential and cell permeability of wheat cultivars under salt stress. *Biologia Plantarum*, 36(3), 429-434.

22. Map Chart. (2008). Map Chart Suite X4. Map Chart.
23. Mayer, A.M. & Poljakoff-Mayber, A. (1989). The Germination of Seeds Pergamon Press: Oxford.
24. Mohamed, S., Boehm, R., Binsfeld, P.C. & Schnabl, H. (2004). Agrobacterium-mediated transformation of two high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.). Genotypes: assessment and optimization of important parameters. *Helia*, 27(40), 25-40.
25. Nabipour, A.R. (2004). Identification and localization of QTLs controlling some agronomic traits in sunflower. Tehran, Karaj, Iran.
26. Perez Alfocea, F., Estañ, M.T., Caro, M. & Bolarín, M.C. (1993). Responses of tomato cultivars to salinity. *Plant and Soil*, 150(2), 203-211.
27. Poormohammad Kiani, S., Talia, P., Maury, P., Grieu, P., Heinz, R., Perrault, A., Nishinakamasu, V., Hopp, E., Gentzbittel, L., Paniego, N. & Sarrafi, A. (2007). Genetic analysis of plant water status and osmotic adjustment in recombinant inbred lines of sunflower under two water treatments. *Plant Science*, 172(4), 773-787.
28. Rogers, M.E. & Noble, C.L. (1991). The effect of NaCl on the establishment and growth of balansa clover (Trifolium michelianum Savi var. balansae Boiss.) *Australian Journal of Agricultural Research*, 42(5), 847-857.
29. Tang, S., Leon, A., Bridges, W.C. & Knapp, S.J. (2006). Quantitative trait loci for genetically correlated seed traits are tightly linked to branching and pericarp pigment loci in sunflower. *Crop Science Society of America*, 46(2), 721-734.
30. Turhan, H. & Ayaz, C. (2004a). Effect of Salinity on Seedling Emergence and Growth of Sunflower (*Helianthus annuus* L. Cultivars). *International Journal of Agriculture and Biology*, 1(1), 149-152.
31. Turhan, H. & Baser, I. (2004b). In vitro and In vivo water stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia*, 27(40), 227-236.
32. Wang, S., Basten, C.J. & Zeng, Z.B. (2007). Windows QTL cartographer 2.5., Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. Available at http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm.
33. Yapsania, T., Moustakas, M. & Domiandou, K. (1994). Protein Phosphorylation dephosphorylation in alfalfa seeds germinating under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 143(2), 234-240.

Iranian Journal of Filed Crop Science, Vol. 46, No. 3, Autumn 2015

QTL mapping for seed germination parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) *recombinant inbred lines* under salt stress

Asa Ebrahimi[1*], Amir Hossein Fartash[2], Ali Mafakheri[3] and Zahra Saatian[4]
1, 2, 3, 4. Assistant Professor of Biotechnology and Former M.Sc. Students, Department of Biotechnology, College of Agriculture and Natural Resources, Islamic Azad University, Science and Research
(Received: Aug. 25, 2014 - Accepted: Aug. 8, 2015)

ABSTRACT

In order to assess the genetic variability for seed germination parameters under salt stress in sunflower and corresponding QTL locations, an experiment was conducted using a population of 80 recombinant inbred lines obtained from a cross between PAC2 and RHA266. The experiment was arranged under a randomized complete block design with three replications in control and saline conditions. Several germination parameters were measured including time to start germination (TSG), time to 50% germination (T50%G), time to maximum germination (TMG) and percentage of seed germination (PSG). Results showed highly significant variations among genotypes (RILs) for all traits. Salt stress had a negative effect on germination; however the significance of RIL × Condition interaction suggested that the RILs have different responses to salt stress. In this study, "1.T50%G.16.1" and "2.T50%G.17.1" QTLs (controlling T50%G under salt and control conditions, respectively) were introduced as large-effect QTLs. Moreover, "2.TSG.16.1" and "1.TSG.16.1" QTLs (controlling TSG) and also "2.PSG.12.1", "1.PSG.12.1", "2.PSG.12.3" and "1.PSG.12.2" QTLs (controlling PSG) were introduced as stable QTLs.

Keywords: germination, *QTL*, salt stress, sunflowers.

* Corresponding author E-mail: Dr.asaebrahimi@gmail.com Tel: +98 21 22576543