

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

آسا ابراهیمی^{۱*}، امیرحسین فرتاش^۲، علی مفاخری^۳ و زهرا ساعتیان^۴

۱، ۲، ۳ و ۴. استادیار گروه بیوتکنولوژی و کارشناسان ارشد بیوتکنولوژی، دانشکده 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 کنترل‌کننده صفات کمی (QTL) مشخصه (پارامتر)های جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری در گیاه آفتابگردان، آزمایشی شامل هشتاد ژن‌نمون (ژنوتیپ) از یک جامعه خویش‌آمیخته (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 بذر، زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی، زمان بیشترین جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بودند. نتایج گویای معنی‌دار بودن تنش شوری و تأثیر ژن‌نمون‌ها در همه صفات اندازه‌گیری شده بود. اگرچه تنش شوری تأثیر منفی روی جوانه‌زنی نشان داد، اما معنی‌دار بودن تأثیر ژن‌نمون در تنش نشان‌دهنده رفتار متفاوت ژن‌نمون‌ها در پاسخگویی به تنش شوری بود. در این تحقیق، QTL‌های "1.T50%G.16.1" و "2.T50%G.17.1" کنترل‌کننده زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط کنترل و تنش شوری، به عنوان QTL‌های بزرگ‌تأثیر معرفی شدند. همچنین QTL‌های (1.TSG.16.1) و (2.TSG.16.1) کنترل‌کننده زمان آغاز جوانه‌زنی بذر و QTL‌های (1.PSG.12.1)، (2.PSG.12.3) و (1.PSG.12.2) کنترل‌کننده درصد جوانه‌زنی بذر به عنوان QTL‌های 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). مرحله جوانه‌زنی حساس‌ترین مرحله 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, 1991; Rogers et al., 1994) و بعضی دیگر آن را به اثر سمی یون‌های کلر و سدیم نسبت داده‌اند (Lin et al., 1996; Perez Alfocea et al., 1993; Yapsania

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 کنترل‌کننده 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 رگه (لاین) خویش‌آمیخته (اینبرد) نوترکیب (*RIL*) آفتابگردان ناشی از تلاقی بین *RHA266*×*PAC2* استفاده شده است. *RHA266* از تلاقی آفتابگردان وحشی *H. annuus* با *Peredovik* به‌وسیله USDA به‌دست آمده است. *PAC2* نیز یک رگه خویش‌آمیخته به‌دست‌آمده از تلاقی *H. petiolaris* و *HA61* به‌وسیله INRA- France است. این والدین به همراه هشتاد رگه خویش‌آمیخته به‌دست‌آمده از آنها در یک طرح فاکتوریل در دو شرایط کنترل و تنش شوری در سه تکرار در شرایط آزمایشگاهی کنترل‌شده 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 ۱۵۰mM کلوروسدیم 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 درجه سلسیوس و ۱۶ ساعت در روز و ۱۸ درجه سلسیوس و ۸ ساعت در شب، قرار داده شدند. شمارش بذرها در جوانه‌زده به صورت روزانه هر ۸ و ۱۶

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 تهیه نقشه‌های پیوستگی (لینکاژی) مترکم بر پایه نشانگرهای مولکولی، یافتن جایگاه صفت کمی و استفاده از آن امکان‌پذیر شده و کارایی‌گزینه‌ش به کمک نشانگرها بهبود یافته است (Ayoub et al., 1997; Han et al., 2003). توسعه فناوری نشانگرهای مولکولی، تهیه 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 کنترل‌کننده بسیاری از صفات کمی 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., 2012; Ebrahimi et al., 2004) 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

آغاز جوانه‌زنی، زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی بذر مشاهده شد که نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار شوری بر صفات زمان جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی است. تأثیر متقابل ژن‌نمون در شوری برای همه 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 بهره 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 نشان‌دهنده تفاوت والدین در تحمل شوری بوده و گویای آن است که رگه‌های والدینی ژن‌های متفاوتی برای سازگاری با تنش شوری دارند. این نتیجه به وسیله محققان دیگر نیز در مورد تنش خشکی به‌دست آمده است (Ebrahimi et al., 2008; Poormohammad Kiani et al., 2007). بهره ژنتیکی (اختلاف بین میانگین والدین با میانگین ۱۰ درصد از بهترین رگه‌های خویش‌آمیخته گزینش‌شده) برای صفات درصد جوانه‌زنی بذر (PSG) تحت تنش شوری و وزن هزاردانه مشاهده شد. معنی‌دار شدن بهره ژنتیکی نشان می‌دهد که هم‌ردیف (آلل)‌های ژنی افزایش‌دهنده صفت در بین دو والد پخش بوده‌اند و در برخی از نتایج 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 تجزیه QTL

نتایج تجزیه QTL و محل‌های تعیین‌شده برای QTL‌ها روی نقشه 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 افزایش‌دهنده صفت و در صورت منفی بودن، هم‌ردیف ژنی موجود در رگه پدری، افزایش‌دهنده صفت

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

صفات مورد بررسی

بر پایه 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 نقشه پیوستگی شامل ۴۹۵ نشانگر (SSR۱۹۱ و AFLP۳۰۴) با میانگین فاصله ۳/۷ سانتی‌متر استفاده شده است (Poormohammad Kiani et al., 2007). تجزیه‌های آماری و تجزیه واریانس به کمک نرم‌افزارهای آماری SPSS /SAS انجام شدند. تجزیه QTL با استفاده از نرم‌افزار Win QTL Cartographer نسخه 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 QTL‌ها روی نقشه پیوستگی با نرم‌افزار Map Chart رسم شد (Map Chart, 2008). بهره ژنتیکی از اختلاف بین میانگین والدین و ۱۰ درصد بهترین رگه‌های خویش‌آمیخته برای هر صفت به‌دست آمد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه رخ‌نمونی

تجزیه واریانس رگه‌های خویش‌آمیخته و والدینشان (جدول ۱) نشانگر اختلاف بسیار معنی‌داری بین ژن‌نمون (ژنوتیپ)‌ها برای همه 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 خویش‌آمیخته مورد آزمایش رخ داده است. اختلاف بسیار معنی‌داری بین شرایط کنترل و تنش شوری از نظر زمان

آغاز جوانه‌زنی تحت تنش شوری هفت *QTL* یافت شد، مهم‌ترین آنها (*2.TSG.16.1*) نیز در گروه پیوستگی ۱۶ قرار گرفته و ۱۹ درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند. این *QTL* با *QTL* (*1.TSG.16.2*) کنترل‌کننده همین صفت در شرایط کنترل همپوشانی دارد. این منطقه کروموزومی صفت زمان آغاز جوانه‌زنی بذر را در همه 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 شماره ۳ برای صفت آغاز جوانه‌زنی در شرایط شوری یافت شد (*2.TSG.3.1*) که این *QTL* بیشتر برای وزن هزاردانه معرفی شده است (Ebrahimi et al., 2009). این *QTL* با نشانگر "HA2920" پیوسته بود.

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 بذر 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* کنترل‌کننده 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 پیرووات به اسید هموزنتیسیک یا اسید ملانیک است (Haddadi et al., 2012) که سوخت‌وساز (متابولیسم) واسطه تجزیه تیروزین و فنل آلانین است. احتمال دارد که در فرایند آغاز جوانه‌زنی از این مواد استفاده شود. برای

جدول ۱. تجزیه واریانس رگه‌های خویش‌امیخته نوترکیب آفتابگردان برای مشخصه‌های مختلف جوانه‌زنی بذر

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

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

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

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

TSG: زمان آغاز جوانه‌زنی؛ *T50%G*: زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی؛ *TMG*: زمان بیشترین جوانه‌زنی؛ *PSG*: درصد جوانه‌زنی؛ *PAC 2 (P1)* و *RHA 266 (P2)*: رگه‌های والد؛ $10\% SRIL - \bar{X} P$: میانگین بهترین ۱۰ درصد *RIL*‌های گزینش‌شده؛ *GG10%*: اختلاف میانگین ۱۰ درصد از بهترین *RIL*‌های گزینش‌شده با میانگین والدین.*: معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۰/۰۵؛ ns: اختلاف غیرمعنی‌دار.

هم‌ردیف‌های ژنی مطلوب برای هر دو QTL از والد پدری به ارث می‌رسد. روی کروموزوم شماره ۱۰ نیز QTL کنترل‌کننده 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 تشکیل‌دهنده آن با زمان آغاز جوانه‌زنی ارتباط دارد و به‌وسیله مناطق با اثرگذاری‌های چنداثری (پلیوتروپی) کنترل می‌شود.

کروموزوم شماره ۱۶ محل قرار گرفتن QTL بزرگ اثری است که ۲۰ درصد از تغییرپذیری‌های آغاز جوانه‌زنی در شرایط شوری را کنترل می‌کند. این QTL با QTL کنترل‌کننده وزن مغز آفتابگردان (Ebrahimi et al., 2009) و نیز با QTL کنترل‌کننده اسید پالمیتیک در آفتابگردان (Ebrahimi et al., 2009) همپوشانی دارد. این QTLها با نشانگر SSR "HA2193" کنترل می‌شوند. شایان یادآوری است

جدول ۳. محل قرارگیری QTLهای پیداشده روی نقشه و میزان تأثیر افزایشی آنها برای مشخصه‌های جوانه‌زنی بذر در جامعه رگه خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان تحت شرایط کنترل و شوری

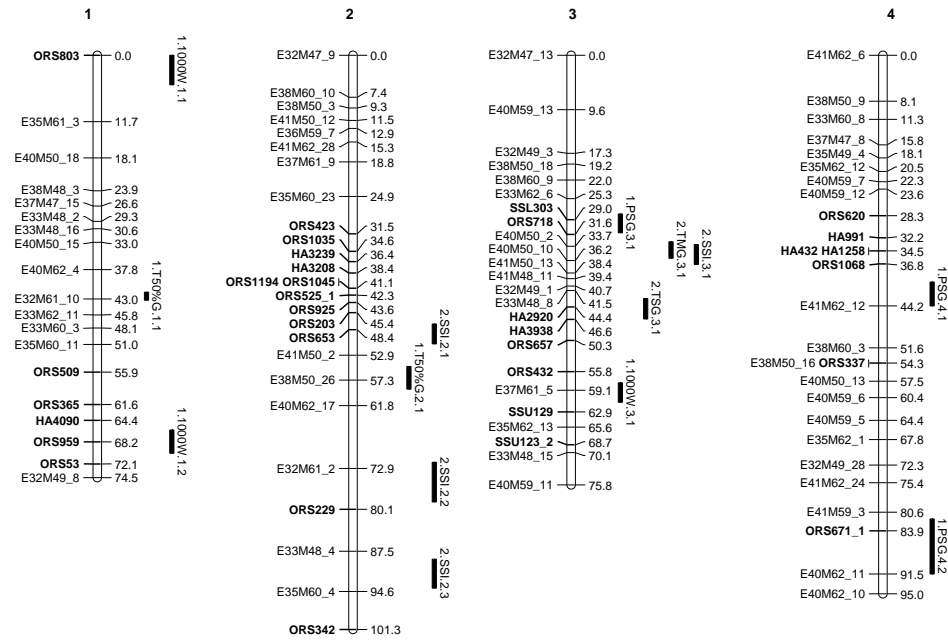
شاهد							
Trait	LG	QTL	Marker	Position (cM)	LOD	Additive	%R ²
TSG	۸	1.TSG.8.1	HA3513	۲/۰۱	۴/۶۵	۴/۵۵	۹
	۱۰	1.TSG.10.1	ORS878	۱۲/۴	۳/۲۰	-۳/۹۴	۷
	۱۴	1.TSG.14.1	ORS391	۷۳/۳۶	۳/۷۱	۳/۹۱	۶
	۱۶	1.TSG.16.1	E41M59-2	۰/۰۱	۴/۷۸	-۶/۰۳	۴
	۱۶	1.TSG.16.2	ORS665	۱۲۰/۰۶	۳/۷۶	-۴/۵۸	۷
T50%G	۱	1.T50%G.1.1	E32M61_10	۴۲/۹۶	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
TMG	۱۶	1.T50%G.16.2	E37M61_8	۸۰/۸۱	۳/۶۶	-۶/۷۰	۶
	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
PSG	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
	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
PSG	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 به ترتیب: ۱. شرایط کنترل؛ ۲. تنش شوری؛ TSG: زمان آغاز جوانه‌زنی؛ T50%G: زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی؛ TMG: زمان بیشترین جوانه‌زنی؛ PSG: درصد جوانه‌زنی بذرها؛ SSI: تحمل به تنش؛ گروه پیوستگی؛ شمار QTL روی هر گروه پیوستگی.

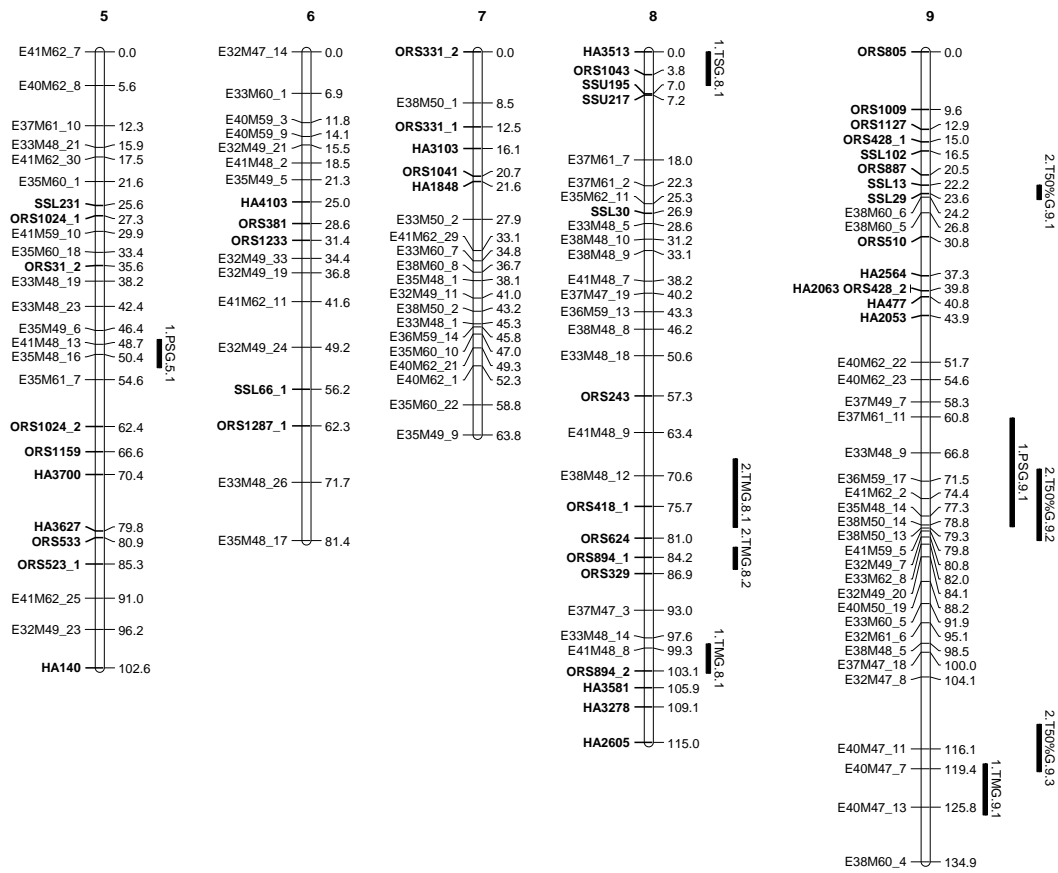
ادامه جدول ۳. محل قرارگیری *QTL* های پیداشده روی نقشه و میزان تأثیر افزایشی آنها برای مشخصه های جوانه زنی بذر در جامعه رگه خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان تحت شرایط کنترل و شوری

تنش شوری							
Trait	LG	QTL	Marker	Position (cM)	LOD	Additive	%R ²
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
T50%G	۱۶	2.TSG.16.1	HA2193	۱۲۲/۶۱	۷/۸۰	-۵/۷۶	۱۹
	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
	TMG	۱۷	2.T50%G.17.1	E32M61_14	۶۴/۲۱	۹/۸۷	۹/۳۲
۱۷		2.T50%G.17.2	E38M50_7	۷۴/۱۱	۷/۹۸	۸/۰۷	۱۶
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
PSG	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
	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
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	

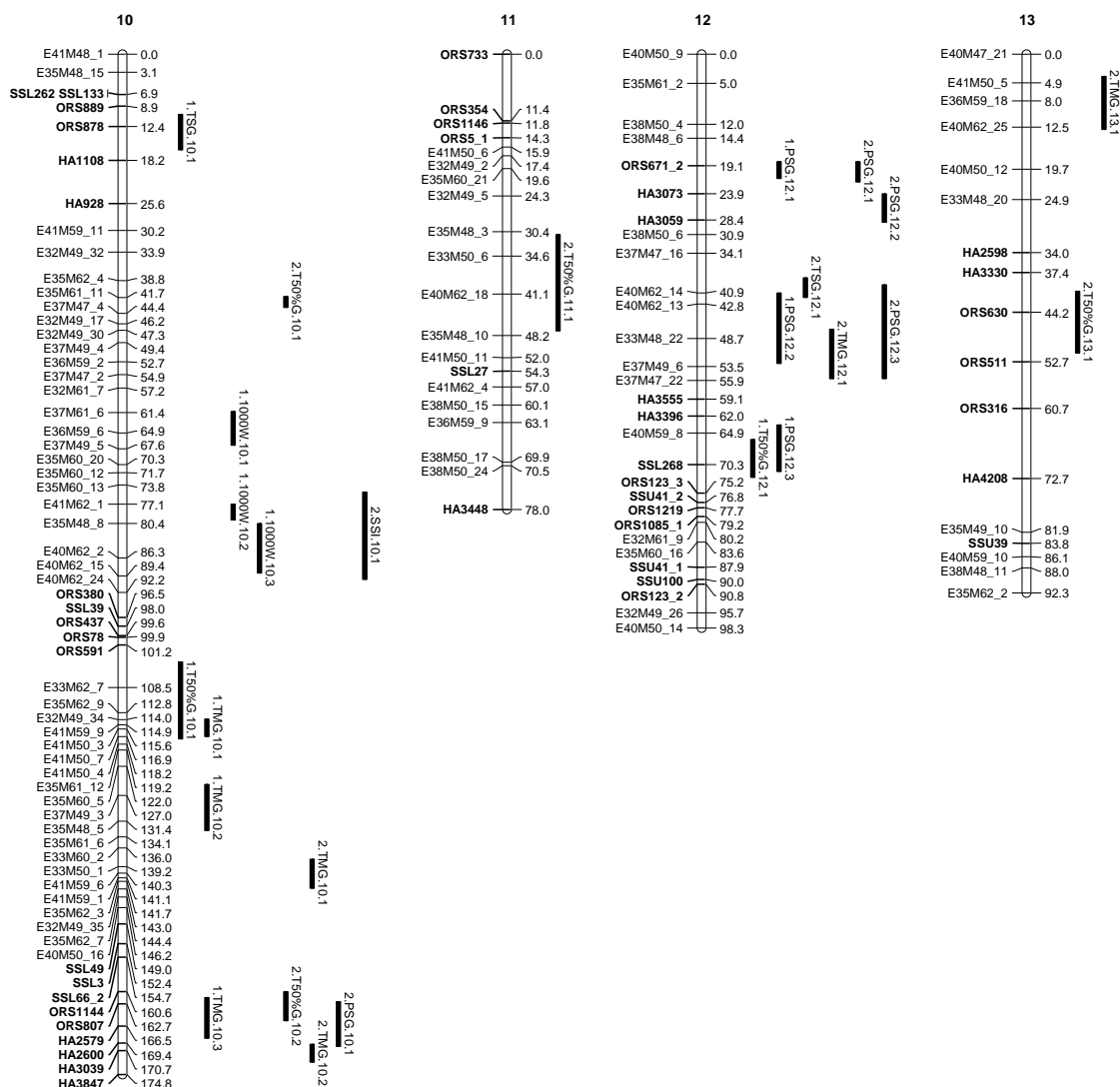
* اعدادی که در ابتدای نام *QTL* نشان داده شده به ترتیب: ۱. شرایط کنترل؛ ۲. تنش شوری؛ *TSG*: زمان آغاز جوانه زنی؛ *T50%G*: زمان ۵۰ درصد جوانه زنی؛ *TMG*: زمان بیشترین جوانه زنی؛ *PSG*: درصد جوانه زنی بذرها؛ *SSI*: تحمل به تنش؛ گروه پیوستگی؛ شمار *QTL* روی هر گروه پیوستگی.



شکل ۱. محل قرارگیری QTL‌های پیداشده بر روی گروه‌های پیوستگی و نقشه ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (۱۹۱ SSR) و (۳۰۴ AFLP) تهیه‌شده از ۸۰ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی RHAY۲۶۶×PAC۲.



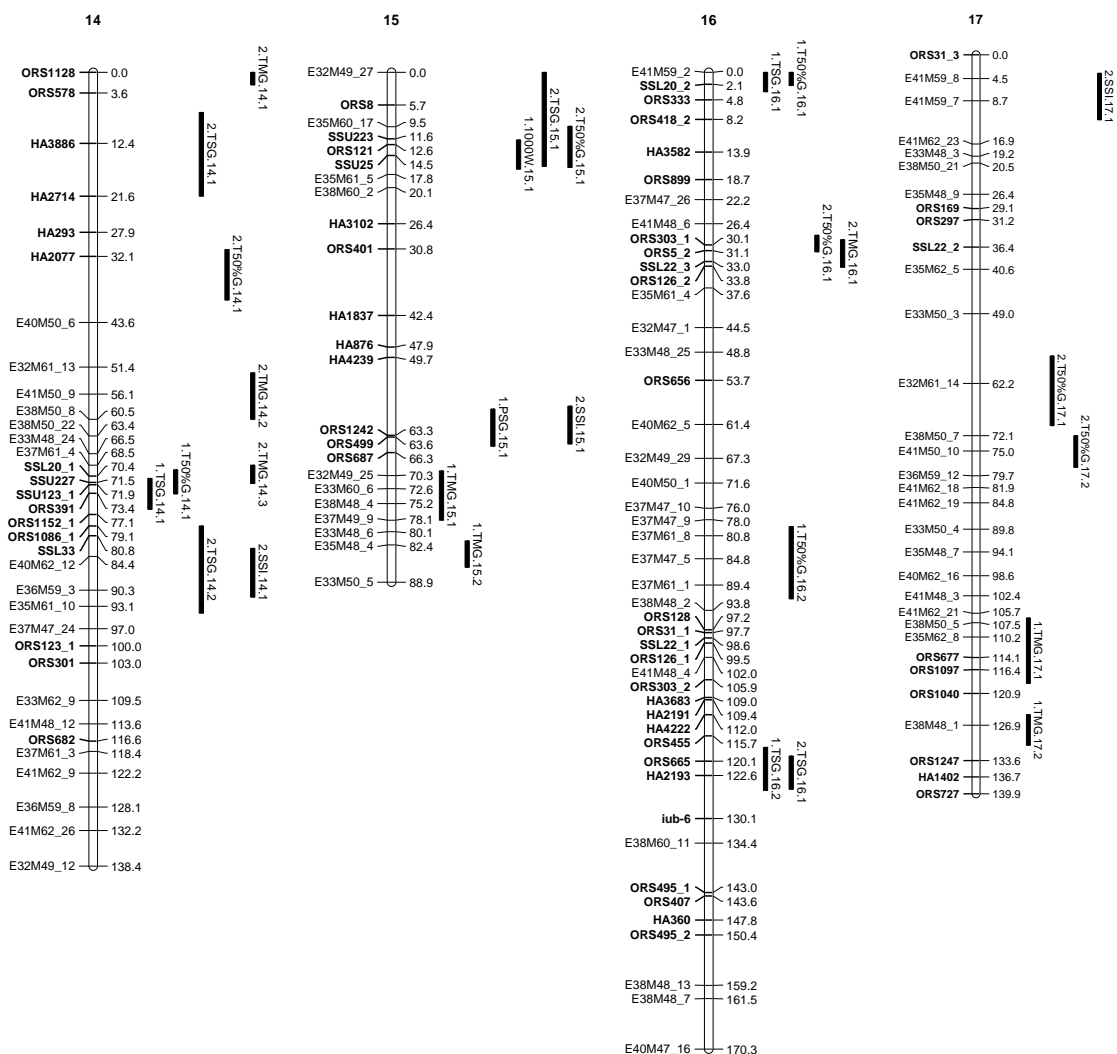
ادامه شکل ۱. محل قرارگیری QTL‌های پیداشده بر روی گروه‌های پیوستگی و نقشه ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (۱۹۱ SSR) و (۳۰۴ AFLP) تهیه‌شده از ۸۰ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی RHAY۲۶۶×PAC۲.



ادامه شکل ۱. محل قرارگیری QTL های پیداشده بر روی گروه های پیوستگی و نقشه ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (SSR) ۱۹۱ و (AFLP) ۳۰۴ تهیه شده از ۸۰ رگه خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی RHA266×PAC2.

زمان آغاز جوانه زنی بذر تحت تنش شوری پیوستگی دارد؛ با *QTL* کنترل کننده بلندی جوانه (Al-Chaarani *et al.*, 2004) و نیز با *QTL* کنترل کننده میزان اسید پالمیتیک بذر تحت تنش خشکی (Ebrahimi *et al.*, 2008) همپوشانی دارد. روی کروموزوم شماره ۱۴ دو *QTL*، "2.TSG.14.1" و "2.TSG.14.2" (کنترل کننده صفت آغاز جوانه زنی در شرایط تنش شوری) وجود دارند که این دو *QTL* با نشانگرهای "HA 3886" و "SSL 33" کنترل می شوند. این نشانگرها به ترتیب پیوسته با *QTL* های کنترل کننده میزان اسید استتاریک و اسید پالمیتیک در شرایط تنش خشکی معرفی شده اند (Ebrahimi *et al.*, 2008).

در این تحقیق، نشانگر "HA3886" با *QTL* کنترل کننده زمان آغاز جوانه زنی بذر تحت تنش شوری پیوستگی دارد. این نشانگر پیوسته با *QTL* کنترل کننده میزان اسید استتاریک بذر در شرایط کنترل گزارش شده است (Ebrahimi *et al.*, 2008). به هر حال ذخایر بذر نیروی جوانه زنی را تأمین می کنند و این احتمال وجود دارد که بین میزان اسید استتاریک و تحمل شوری ارتباطی وجود داشته است. این احتمال که این اسید چرب روی زمان جوانه زنی تأثیر داشته است به بررسی های بیشتری نیاز دارد. هم ردیف های ژنی مطلوب برای هر دو صفت از سوی والد (RHA266) آمده اند. همچنین، نشانگر "SSL33" که با *QTL* کنترل کننده



ادامه شکل ۱. محل قرارگیری QTL‌های پیداشده بر روی گروه‌های پیوستگی و نقشه ژنتیکی شامل ۴۹۵ نشانگر (SSR) ۱۹۱ و ۳۰۴ AFLP تهیه شده از ۸۰ رگه خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان ناشی از تلاقی PAC۲×RHA۲۶۶.

هزارپوسته و هزاردانه، همپوشان است (Ebrahimi *et al.*, 2009) که نشان‌دهنده 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 پالمیتیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک و اسید لینولئیک) همپوشان است

به نظر 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 QTL‌های بزرگ‌اثر معرفی شدند. همچنین روی کروموزوم ۱۲ QTL "1.T50%G.12.1" با نشانگر SSR "SSL268" که کنترل‌کننده صفت زمان ۵۰ درصد جوانه‌زنی در شرایط کنترل است با QTL که کنترل‌کننده صفت وزن

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* کنترل‌کننده درصد جوانه‌زنی بذر قرار داشت، در نزدیکی *QTL*‌های کنترل‌کننده درصد روغن بذر، وزن پوسته بذر و نسبت وزن دانه به پوسته بذر گزارش شده بود (Tang et al., 2006). همچنین نشانگر "HA3073" که کنترل‌کننده درصد جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری است با *QTL* کنترل‌کننده پتانسیل اسمزی و تورم برگ پیوستگی داشت (Poormohammad Kiani et al., 2007). این تحقیق نشان می‌دهد نشانگر "HA3073" در ناحیه 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 ۱۴ درصد 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 ۷ درصد از تغییرپذیری‌های رخ‌نمونی را تبیین می‌کند.

تحمل آفتابگردان به تنش شوری از راه افزایش جذب پتاسیم صورت می‌گیرد (Lexer et al., 2003). تجزیه *QTL* ژن‌های نامزد (کاندید) تحمل به شوری در آفتابگردان نشان داد که سه کلاس مختلف ژنی شامل؛ جذب/تبادل کلسیم، گیرنده 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 مرحله 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

(Ebrahimi et al., 2009; Ebrahimi et al., 2008). احتمال دارد این منطقه کروموزومی با کنترل ذخایر بذر جوانه‌زنی آن را در شرایط تنش کنترل کند. در آفتابگردان گونه‌های *Helianthus annuus* و *Helianthus petiolaris* ناحیه جذب کلسیم روی کروموزوم شماره ۱ بین دو نشانگر *SSR* "ORS728" و "ORS1128" و ناحیه جذب پتاسیم روی کروموزوم شماره 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 به دست آمد. احتمال دارد این نشانگر از راه جذب کلسیم با سازوکار تحمل به تنش شوری ارتباط داشته باشد که در گونه اهلی آفتابگردان نیز در شرایط تنش شوری بیشترین جوانه‌زنی را کنترل می‌کند.

برای درصد جوانه‌زنی بذرهای 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 ناحیه کروموزومی در جوانه‌زنی آفتابگردان با ۶ *QTL* کنترل‌کننده درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و شاهد شناخته شده است. دو ناحیه همپوشان در گروه پیوستگی ۱۲ دیده می‌شود که به ترتیب *QTL* "2.PSG.12.1" کنترل‌کننده درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش شوری و *QTL* "1.PSG.12.1" کنترل‌کننده درصد جوانه‌زنی در شرایط بدون تنش شوری (کنترل) است. این منطقه کروموزومی، صفت درصد جوانه‌زنی بذر را در همه شرایط تحقیق ما (تنش و غیرتنش) کنترل می‌کند و یک *QTL* ثابت‌اثر است. این مکان ژنی با نشانگر *SSR* "ORS671-2" پیوستگی دارد. این منطقه کنترل‌کننده درصد پروتئین بذر در شرایط تنش خشکی و میزان اسید استتاریک 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" کنترل‌کننده صفت درصد جوانه‌زنی تحت تنش شوری و "1.PSG.12.2" کنترل‌کننده همین صفت در شرایط بدون تنش

تأیید این QTLها نیاز است. برای استفاده از این QTLها در برنامه‌های اصلاحی لازم است تا آنها پیوستگی شدیدی با نشانگرهای مناسب داشته باشند.

ماهیت هم‌بازری نشانگرهای SSR و مکان ژنی (لوکوس) - اختصاصی بودن آن باعث شده است تا این نشانگر ابزاری مطلوب برای برنامه‌های گزینش نشانگری باشد.

REFERENCES

- 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.
- Ashraf, M. & Tufail, M. (1995). Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Agronomy and Crop Science*, 174(5), 351-362.
- 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.
- 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.
- Bresler, E., McNeal, B.L. & Carter, D.L. (1982). Saline and sodic soil springer: Berlin, Heidelberg, New York.
- 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.
- 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.
- 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.
- Davar, R., Darvishzadeh, R. & Majd, A. (2011). Genotype-isolate Interaction for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in Sunflower. *Phytopathologia Mediterranea*, 50(1), 442-449.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 hystosterol in recombinant inbred lines of sunflower through quantitative trait locus analysis and the candidate gene approach. *Molecular Breeding*, 29(3), 717-729.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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., Paniago, 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.

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

Asa Ebrahimi^{1*}, Amir Hossein Fartash², Ali Mafakheri³ and Zahra Saatian⁴

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 \times 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