

مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده سرعت و درصد جوانه‌زنی در آفتابگردان تحت شرایط تنش شوری

فریبا مرسلی آقاجری^۱، رضا درویش زاده^{۲*} و حمید حاتمی ملکی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه. ۲- دانشیار گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه. ۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه.

چکیده

تنش شوری از جمله عوامل محدود کننده رشد گیاهان می‌باشد. به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف شوری بر صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور آفتابگردان و تعیین مکان ژن‌های کنترل‌کننده صفات مذکور در ژنوم آفتابگردان، مطالعه‌ای در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده ارومیه به اجرا در آمد. عامل اول شامل ۷۰ رگه درون‌زاد نو ترکیب آفتابگردان حاصل از تلاقی PAC2 (به عنوان والد مادری) و RHA266 (به عنوان والد پدری) به همراه والدین و عامل دوم سطوح مختلف تنش شوری شامل صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح مختلف شوری و رگه‌های خالص و برای هر دو صفت مورد مطالعه تفاوت معنی دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد و اثر متقابل رگه و شوری نیز معنی دار است. وراثت‌پذیری برای درصد جوانه‌زنی ۱۴ درصد و برای سرعت جوانه‌زنی ۲۰ درصد برآورد شد. مکان‌یابی ژن‌ها با استفاده از نقشه پیوستگی شامل ۲۲۱ نشانگر SSR/SNP با متوسط فاصله ۷/۴۴ سانتی‌مورگان بین نشانگرها انجام گرفت. در سطوح مختلف تنش شوری، برای صفت درصد جوانه‌زنی ۱۲ QTL و برای صفت سرعت جوانه‌زنی ۲۲ QTL شناسایی شد. درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط QTL‌ها برای صفات مورد مطالعه بین ۲/۰۴٪ تا ۶۷/۶۱٪ متغیر بود. در این مطالعه، QTL‌های salt2.PG.13.1، salt2.PGS.2.1، salt2.GR.1.1، salt4.GR.9.1، salt6.GR.10.1 و salt8.GR.6.1 دارای بیشترین ضریب تغییرات فنوتیپی می‌باشند. نتایج این تحقیق بیانگر وجود QTL‌های غیر اختصاصی (هم مکان) برای صفات مورد مطالعه است که این امر اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهی داشته و گزینش هم‌زمان چندین صفت را امکان‌پذیر می‌سازد.

کلمات کلیدی: آفتابگردان، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، نقشه پیوستگی، QTL.

مقدمه

میلیون هکتار از خشکی‌های دنیا و ۱۵ درصد از خشکی‌های ایران در معرض تنش شوری می‌باشند (Munns, 2005; Khan and Gulzar, 2003) بنابراین مشکل شوری باید به‌طور خاصی مورد توجه قرار گیرد. اگر چه تنش شوری در تمام مراحل رشدی گیاه می‌تواند رخ دهد، اما با توجه به اینکه استقرار اولیه گیاه در عملکرد نهایی آن تأثیر زیادی دارد، بنابراین تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای

تنش‌های محیطی از قبیل تنش شوری از جمله عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهان است که باعث کاهش عملکرد آنها می‌شود. افزایش جمعیت جهان، روند رو به کاهش منابع آب شیرین و شور شدن زمین‌های زراعی، ایجاد گیاهان متحمل در برابر شرایط نامناسب محیطی را ضروری ساخته است (Akbari Moghaddam *et al.*, 2011). بالغ بر ۸۰۰

* نویسنده مسئول: رضا درویش زاده، نشانی: ارومیه، بلوار دانشگاه، کیلومتر ۱۱ جاده سرو، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه

اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، کدپستی: ۵۷۵۶۱۵۱۸۱۸

E-mail: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۵

تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۰۶/۲۶

و پیوستگی آن‌ها با نشانگرهای مولکولی به اثبات برسد، در این صورت می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی انتخاب را بر اساس نشانگرها انجام داد (Collard *et al.*, 2005). مطالعات بسیاری در مورد تعیین جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده صفات مرتبط با رشد و نمو و صفاتی که از نظر زراعی مهم می‌باشند مثل کمیت و کیفیت روغن (Mokrani *et al.*, 2002; Peres-Vich *et al.*, 2002, 2004a)، مقاومت به سرما (Allinne *et al.*, 2009)، مقاومت به خشکی (Poormohammad Kiani *et al.*, 2007 a, b, 2008, 2009; Abdi *et al.*, 2012, 2013)، مقاومت به انگل گل جالیز (Peres-Vich *et al.*, 2004b)، مقاومت به بیماری‌های ناشی از *Diaporthe helianthi* (Bertt *et al.*, 2002)، *Sclerotinia sclerotiorum* (Micic *et al.*, Bertt *et al.*, 2002, 2004; Davar *et al.*, 2010; 2002، بیماری ساقه سیاه فوما (Rachid Al-Chaarani *et al.*, 2002; Bertt *et al.*, 2007; Darvishzadeh *et al.*, 2004) و بیماری ناشی از *Plasmopara halstedii* (Rachid Al-Chaarani *et al.*, 2002) در آفتابگردان با استفاده از جمعیت رگه های درونزاد نوترکیب حاصل از تلاقی PAC2 × RHA266 صورت گرفته است. برای نمونه، داور و همکاران (Davar *et al.*, 2011) با استفاده از جمعیت مورد استفاده در تحقیق حاضر و نقشه پیوستگی SSR/AFLP مکان‌یابی QTL برای صفات جوانه‌زنی، بنیه بذر و رشد و نمو گیاهچه‌ها در شرایط کاملاً کنترل شده را انجام دادند. آنها (Davar *et al.*, 2011) برای سرعت جوانه‌زنی، ۲ عدد QTL در گروه‌های پیوستگی ۶ و ۱۰ و برای زمان ظهور دانه‌رست‌ها، ۶ عدد QTL در گروه‌های پیوستگی ۳، ۵، ۸ و ۱۰

می‌تواند برای گیاه بسیار مضر باشد (Rauf *et al.*, 2007). البته میزان حساسیت به شوری در ارقام مختلف گیاهان متفاوت است (Mir Mohammadi Meybodi and Ghareyazi, 2002). محققان در بررسی جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه‌های چهار گیاه چغندرقد (*Beta vulgaris*)، کلم پیچ (*Brassica oleracea capitata* L.)، تاج خروس (*Amaranthus paniculatus*) و کلم صحرايي (*Brassica campestris*) تحت تأثیر شوری، کاهش معنی‌دار در درصد جوانه زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه را گزارش نمودند (Jamil *et al.*, 2006). آنها همچنین به رابطه خطی منفی بین تنش شوری و رشد گیاه دست یافتند. ولیدانی و همکاران (Validani *et al.*, 2005) در ارزیابی ارقام کلزای پاییزه تحت پنج سطح مختلف شوری (صفر، ۴، ۸، ۱۰ و ۱۲ میلی‌موس برسانتی‌متر کلرید سدیم)، کاهش در درصد جوانه زنی، طول و وزن تر و خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه ارقام کلزای پاییزه را گزارش نمودند و نتیجه گرفتند که شوری باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و همچنین کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاه کلزای می‌گردد. آفتابگردان در گروه گیاهان نسبتاً متحمل به شوری قرار دارد. عملکرد آفتابگردان در شوری حدود ۵ دسی‌زیمنس بر متر تحت تأثیر قرار نگرفته ولی مقدار شوری بالاتر از آن موجب کاهش ۵۰ درصدی عملکرد می‌شود (Khajepour, 2006). شناسایی نشانگرهای DNA پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (تجزیه QTL) می‌تواند در گزینش به کمک نشانگر^۱ مورد استفاده قرار گیرد. اگر محل QTL در روی نقشه کروموزومی تعیین شود

گزارش کردند. درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط QTL‌های شناسایی شده برای صفت سرعت جوانه‌زنی بین ۰/۰۸٪ تا ۱۱/۷٪ و برای زمان ظهور دانه‌رست‌ها بین ۰/۰۶٪ تا ۱۴/۶۲٪ متغییر بود. مهم‌ترین QTL برای سرعت جوانه‌زنی روی گروه ۶ قرار داشت که ۱۱/۷٪ از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه می‌نمود و از طریق والد مادری منتقل شده بود. با توجه به نتایج داور و همکاران (Davar *et al.*, 2011) QTL زمان ظهور دانه‌رست‌ها روی گروه پیوستگی ۵ قرار داشت که ۱۴/۶۲٪ از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه می‌کرد و آلل مطلوب از والد مادری (PAC2) منتقل شده بود. با توجه به این که سازوکارهای مربوط به جذب، انتقالات یونی، مکانیسم‌های تحمل، و ... در مراحل مختلف رشد گیاه متفاوت بوده و ژن‌های مختلفی تحمل به شوری را کنترل می‌کنند (Qasim and Ashraf, 2006; Khan, 2011)، پس توصیه می‌شود ارزیابی تحمل به شوری و شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده تحمل به شوری در مراحل مختلف رشدی گیاه مانند مرحله جوانه‌زنی، گیاهچه‌ای، رشد رویشی و زایشی انجام بگیرد و سپس راهکار هرم بندی ژن‌ها برای ایجاد ارقام متحمل انجام گیرد (Ashraf and Foolad, 2013). مطالعه حاضر با هدف بررسی نحوه کنترل ژنتیکی صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی در آفتابگردان و مشخص نمودن سهم اثرات افزایشی در کنترل ژنتیکی آن‌ها و به تبع آن انتخاب روش اصلاحی موثر انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و اندازه‌گیری سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور تحت شرایط تنش شوری

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل ۷۰ رگه درونزاد نوترکیب (نسل F₉) حاصل از

تلاقی PAC2 × RHA266 به همراه والدین می‌باشد. رگه‌های درونزاد با استفاده از روش نسل تک بذر توسط انیستیتو ملی تحقیقات آگرونومی^۱ فرانسه تهیه شده بود. واکنش لاین‌های مورد مطالعه (عامل اول) به سطوح مختلف تنش شوری شامل صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر (عامل دوم) به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشگاه ارومیه ارزیابی شدند. سطوح مختلف پتانسیل اسمزی با استفاده از نمک کلرید سدیم و آب مقطر استریل شده به کمک دستگاه EC متر (Metrohm Model: 712) آماده شدند. به این ترتیب که با قرار دادن حسگر دستگاه EC متر در آب مقطر و قرائت صفحه نمایشگر، نمک کلرید سدیم تا رسیدن به سطح شوری مورد نظر اضافه گردید. در این روش حین اضافه نمودن کلرید سدیم به آب مقطر از هم‌زن مغناطیسی برای محلول شدن کامل نمک در آب استفاده شد. هر تکرار شامل یک پتری‌دیش با قطر ۹۵ میلی‌متر و حاوی ۲۰ بذر بود. بذرها با هیپوکلرید سدیم ۵٪ ضدعفونی و سه بار با آب مقطر استریل شست و شو داده شدند و سپس در پتری‌دیش‌هایی شامل سه لایه کاغذ واتمن و ۸ میلی‌لیتر آب مقطر با شوری صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر بسته به نوع تیمار کشت و به اتاق رشد با دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵۸٪ و دوره روشنایی ۱۶ ساعت با شدت نور ۲۰۰ μEm⁻² منتقل شدند. بذرها زمانی جوانه‌زده به حساب آمدند که ریشه‌چه حداقل دو میلی‌متر یا بیشتر طول داشت (Khan *et al.*, 2004). با بررسی وضعیت جوانه‌زنی بذور در روزهای متوالی،

$$h^2 = V_g / V_{ph} \quad \text{معادله (۴)}$$

نقشه پیوستگی و شناسایی جایگاه‌های ژنی کنترل کننده سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور

در این آزمایش از نقشه پیوستگی توسعه یافته توسط حدادی و همکاران (Haddadi *et al.*, 2012) و عموزاده و همکاران (Amouzadeh *et al.*, 2013) برای شناسایی جایگاه‌های ژنی کنترل کننده صفات سرعت و درصد جوانه‌زنی لاین‌های آفتابگردان استفاده گردید. نقشه ژنتیکی گزارش شده، از ۲۲۱ نشانگر SSR و SNP با میانگین تراکم ۷/۴۴ سانتی‌مورگان بین نشانگرها تشکیل یافته است. موقعیت کروموزومی QTLها با روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (Composite Interval Mapping: CIM) با استفاده از نرم افزار WinQTL Cartographer شناسایی شد (Wang *et al.*, 2012). بدین صورت که ژنوم در فواصل ۲ سانتی‌مورگان با اندازه پنجره ۱۵ سانتی-مورگان مورد کاوش قرار گرفت و سطح آستانه یا LOD برای شناسایی QTLهای معنی‌دار از طریق آزمون جایگشت (n=1000) توسط نرم افزار WinQTL Cartographer تعیین شد (Churchill and Doerge, 1994). اثرات افزایشی هر QTL با استفاده از برنامه Zmapqtl در نرم افزار QTL Cartographer تعیین گردید. از موقعیت پیک QTL جهت تخمین درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده (R^2) توسط آن استفاده شد (Basten *et al.*, 2002). برای رسم گروه‌های پیوستگی و نشان دادن موقعیت QTLهای شناسایی شده در گروه‌های پیوستگی از نرم افزار MapChart استفاده شد. نام‌گذاری مکان‌های ژنی (QTLها) به صورت (دز + Salt + صفت + گروه پیوستگی + شماره QTL) انجام گرفت. اگر بیش از یک QTL در یک گروه پیوستگی قرار داشته باشد

درصد جوانه‌زنی^۱ و سرعت جوانه‌زنی^۲ با استفاده از معادله‌های ۱ و ۲ محاسبه شدند:

$$PG = (Ni/S) \times 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

$$GR = \sum Ni/Ti \quad \text{معادله (۲)}$$

در این فرمول‌ها PG درصد جوانه‌زنی، Ni تعداد بذور جوانه زده در روز i ام، S تعداد کل بذور کشت شده، GR سرعت جوانه‌زنی (برحسب تعداد بذور جوانه زده در روز)، Ni تعداد بذور جوانه زده در روز i ام و Ti تعداد روز تا شمارش i ام می‌باشد (Bajji *et al.*, 2002).

تجزیه آماری داده‌ها

نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی مطابق با روش شاپیرو و ویلک (Shapiro and Wilk, 1965) در نرم افزار SAS (Version 9.1) بررسی شد. برای داده‌های درصد، از تبدیل زاویه‌ای استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌های مربوطه بر اساس مدل طرح پایه با استفاده از مدل خطی عمومی (GLM) در نرم افزار SAS انجام گرفت. توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در رگه‌های درون‌زاد نو ترکیب و والدین آنها در نرم افزار SPSS (Version 20) رسم گردید. سود ژنتیکی با مقایسه میانگین ۱۰٪ از بهترین رگه‌های درون‌زاد نو ترکیب ($\bar{X}_{10\% \text{ best RILs}}$) با میانگین والدین آنها (\bar{X}_P) (معاله ۳) (Poormohammad Kiani *et al.*, 2009a, b, 2009) و وراثت‌پذیری بر اساس امید ریاضی میانگین مربعات جدول تجزیه واریانس (Kearsey and Pooni, 1996) و با استفاده از معادله ۴، محاسبه شد.

$$GG10\% = \bar{X}_{10\% \text{ best RILs}} - \bar{X}_P \quad \text{معادله (۳)}$$

1. Percentage of Germination (PG)

2. Germination Rate (GR)

به ترتیب با شماره‌های یک، دو و غیره نشان داده شدند.

نتایج و بحث

ارزیابی سرعت و درصد جوانه‌زنی لاین‌های آفتابگردان تحت شرایط تنش شوری

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که صفات مورد مطالعه به طور معنی‌داری تحت تأثیر لاین، شوری و اثر متقابل شوری × لاین می‌باشند که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. نظیر چنین تنوعی توسط (Hussein *et al.*,

2011) برای تحمل به تنش شوری در آفتابگردان گزارش شده است. همچنین این تنوع در توافق با گزارش‌های قبلی در مطالعات مربوط به رشد و توسعه گیاهچه در آفتابگردان (Rachid Al-chaarani *et al.*, 2011; Davar *et al.*, 2005) می‌باشد. در این مطالعه، به دلیل معنی‌دار بودن اثر متقابل، برش‌دهی اثر متقابل صورت گرفت (جدول ۱) و نتایج نشان داد که میانگین مربعات صفات مورد بررسی در لاین‌های مورد مطالعه در هر یک از سطوح تنش شوری معنی‌دار است.

جدول ۱- تجزیه واریانس سرعت و درصد جوانه زنی بذور آفتابگردان تحت شرایط سطوح مختلف تنش شوری

Table 1- Analysis of variance for germination rate and percentage of sunflower seeds under different levels of salinity stress conditions

Source of variation (منابع تغییرات)	df (درجه آزادی)		Mean square (میانگین مربعات)	
	GR (سرعت جوانه‌زنی)	PG (درصد جوانه‌زنی)	GR (سرعت جوانه‌زنی)	PG (درصد جوانه‌زنی)
Line (لاین)	71	71	0.058**	10.56**
Salt (شوری)	4	4	2.35**	159471.62**
Line × Salt	221	226	0.0236**	432.50**
Error (خطا)	295	299	0.003	75.23
Salt × Line effect sliced by salt (برش‌دهی اثر متقابل شوری × لاین برای سطوح شوری)				
0	56	54	0.026**	84.04
2	43	39	0.033**	675.13**
4	69	71	0.015**	683.78**
6	66	67	0.017**	1018.33**
8	58	66	0.073**	387.05**
CV (ضریب تغییرات)			14.89	12.56

GR: Germination Rate; PG: Percentage of Germination, CV: Coefficient of Variation. ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشند.

با توجه به جدول ۲، میانگین رگه‌های درون‌زاد نو ترکیب از نظر صفت درصد جوانه‌زنی در تمامی سطوح شوری و برای صفت سرعت جوانه‌زنی در تمامی سطوح شوری به غیر از سطح شوری ۲، روند کاهشی داشته و میانگین ۱۰ درصد رگه‌ها برای هر دو صفت نیز معنی‌دار می‌باشد. سود ژنتیکی که از طریق تفاوت بین میانگین ۱۰ درصد از بهترین لاین‌های انتخابی ($\bar{X}_{10\%bestRILs}$) و میانگین والدین (\bar{X}_P) محاسبه می‌شود، برای صفت درصد جوانه‌زنی در تمامی سطوح به جز سطح شوری ۸ غیر معنی‌دار اما

برای صفت سرعت جوانه‌زنی در تمامی سطوح به غیر از سطح ۴، معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲) که این پدیده می‌تواند به دلیل ماهیت کمی صفات و تجمع آلل‌های مطلوب از هر دو والد در رگه‌ها باشد. این روند تغییرات همسو با مطالعات (Davar *et al.*, 2011) می‌باشد. از نظر صفت درصد جوانه‌زنی (PG)، تفاوت میانگین والدین از میانگین رگه‌ها در تمامی سطوح به غیر از سطح شوری ۶ و ۸، غیر معنی‌دار می‌باشد و این در حالی است که برای صفت سرعت جوانه‌زنی، تفاوت میانگین والدین از میانگین رگه‌ها در سطح

پایین می‌باشد. طبق این نظریه صفات مورد مطالعه در این تحقیق دارای توارث پذیری متوسط به پایین هستند. شناسایی QTL و توسعه تکنولوژی گزینش بر اساس نشانگرهای مولکولی (Marker assisted selection: MAS) یکی از بهترین روش‌ها در به نژادی صفات با وراثت پذیری پایین می‌باشد (Collard and Mackill, 2008). مقایسه میانگین لاین‌ها (جدول ۲) نشان داد که برای هر یک از صفات مورد مطالعه و در شرایط نرمال و تنش شوری، میانگین صفات در شرایط تنش شوری کاهش یافته است. کاهش صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی تحت تنش شوری در پژوهش حاضر در توافق با نتایج تورهان و ایاز (Turhan and Ayaz, 2004) می‌باشد.

شوری صفر و ۶ غیر معنی‌دار ولی در سطوح شوری ۲ و ۴ و ۸ معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). وراثت پذیری صفت درصد جوانه‌زنی ۱۴ درصد و صفت سرعت جوانه‌زنی ۲۰ درصد برآورد شد. در این بررسی، برآورد وراثت پذیری‌ها بعد از اطمینان از وجود اختلاف معنی‌دار بین لاین‌ها برای صفات مورد مطالعه و بر اساس امید ریاضی میانگین مربعات انجام گرفت. مطابق با نظریه استانسفیلد (Stansfield, 1991) چنانچه توارث پذیری صفتی بیشتر از ۰/۵ باشد، صفت دارای توارث پذیری بالا، چنانچه توارث پذیری عمومی صفتی بین ۰/۲ تا ۰/۵ باشد، صفت دارای توارث پذیری متوسط و چنانچه توارث پذیری صفت مورد نظر کمتر از ۰/۲ باشد، صفت دارای توارث پذیری

جدول ۲- پارامترها و بازده ژنتیکی برای سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور آفتابگردان تحت شرایط سطوح مختلف تنش شوری
Table 2- Genetic parameters and gains for germination rate and percentage of sunflower seeds under different level of salinity stress conditions

Parameters (پارامترها)	Characters (صفات)									
	PG0d	GR0d	PG2d	GR2d	PG4d	GR4d	PG6d	GR6d	PG8d	GR8d
والد ۱: والد مادری (PAC2)	100	0.55	97.5	0.62	100	0.59	87.5	0.46	95	0.40
والد ۲: والد پدری (RHA266)	100	0.52	100	0.61	100	0.60	97.5	0.53	72.5	0.40
اختلاف دو والد (P ₁ -P ₂)	0	0.03	2.5	0.01	0	0.01	10	0.07	22.5	0
میانگین والدین ($\bar{X}_p = (P_1+P_2)/2$)	100	0.54	98.75	0.615	100	0.59	92.5	0.49	83.8	0.40
میانگین رگه‌های درون‌نژاد نوترکیب (\bar{X}_{RIL})	91.44	0.48	87.32	0.51	87.2	0.45	78.1	0.41	8.3	0.14
$\bar{X}_{RIL} - \bar{X}_p$	8.56	0.06	11.43	0.10	12.8	0.14	14.4	0.08	75.5	0.26
میانگین ۱۰٪ از بهترین رگه‌های درون‌نژاد نوترکیب ($\bar{X}_{10\%SRIL}$)	100	0.65	88.13	0.67	100	0.61	100	0.58	39.4	0.49
بازده ژنتیکی (GG10%)	0	0.11	10.62	0.05	0	0.01	7.5	0.09	44.4	0.09
LSD _{0.05}	12.14				0.08					

\bar{X}_p : میانگین والدین. \bar{X}_{RIL} : میانگین رگه‌های درون‌نژاد نوترکیب. $\bar{X}_{10\%bestRILs}$: میانگین ۱۰٪ از بهترین رگه‌های درون‌نژاد انتخابی برای صفات مورد مطالعه. GG10%: بازده یا سود ژنتیکی زمانی که ۱۰٪ از بهترین رگه‌های درون‌نژاد انتخابی با میانگین والدین مقایسه شوند. GR: سرعت جوانه‌زنی. PG: درصد جوانه‌زنی. PG0d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۰ دسی‌زیمنس بر متر. GR0d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۰ دسی‌زیمنس بر متر. PG2d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر. GR2d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۲ دسی‌زیمنس بر متر. PG4d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر. GR4d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر. PG6d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر. GR6d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر. PG8d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر. GR8d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر.

GR: Germination Rate; PG: Percentage of Germination; GG: Genetic Gain; LSD: Least Significant Difference. RIL: Recombinant Inbred Line

سلولی و متابولیسم گیاه، جوانه‌زنی گیاهچه را کاهش داده و از طرفی اثر بازدارندگی کلرید سدیم بر

آنها (Turhan and Ayaz, 2004) دریافتند که افزایش سطوح تنش شوری با اثر بر روی تقسیم

تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط هر QTL و اثر افزایشی آنها در جدول ۳ آورده شده‌اند.

در مکان‌یابی QTL، وجود اختلاف بین والدین از لحاظ فنوتیپی، برای شناسایی QTL ضروری نیست. در مواقعی که بین والدین تفاوت فنوتیپی وجود نداشته باشد، نیز می‌توان QTL برای صفات مورد مطالعه شناسایی نمود که این امر می‌تواند ناشی از الگوی تکمیل‌کنندگی اثرات آلی مثبت و منفی باشد (Xu, 2002). با توجه به این که جمعیت مورد مطالعه لاین‌های خالص می‌باشد، بنابراین برای هیچ یک از QTL‌های مکان‌یابی شده در این مطالعه، اثرات غالبیت و اپیستازی مشاهده نگردید. برای تمامی صفات مورد مطالعه و در سطوح شوری مختلف، در مجموع ۳۴ عدد QTL (برای درصد جوانه‌زنی بذور ۱۲ عدد QTL و برای سرعت جوانه‌زنی بذور ۲۲ عدد QTL) شناسایی شدند. QTL‌های مکان‌یابی شده در گروه‌های پیوستگی، بین ۱ تا ۵ عدد متغیر بوده؛ بیشترین تعداد آن با پنج QTL در گروه پیوستگی شماره ۱۰ شناسایی شد. با توجه به شکل ۲، QTL‌های مربوط به صفات در سطوح مختلف شوری در سراسر ژنوم (۱۷ گروه پیوستگی) به غیر از گروه‌های پیوستگی ۳، ۴، ۷، ۱۱ و ۱۷ پراکنده هستند. در مطالعه‌ای که توسط داور و همکاران (Davar et al., 2011) به منظور شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده صفات مربوط به جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های آفتابگردان انجام گردید، برای ۱۰ صفت، در مجموع ۵۸ عدد QTL با ضریب تبیین بین ۵/۴٪ تا ۳۵/۷٪ شناسایی شدند که در آنها آلل‌های مطلوب از هر دو والد منتقل شده بودند.

هم‌چنین، در تحقیقی مشابه در برنج (Cui et al., 2002) در مجموع ۳۱ عدد QTL برای سرعت جوانه-

جوانه‌زنی بذور آفتابگردان به جذب یون‌های کلر و سدیم توسط هیپوکوتیل بستگی دارد.

بررسی محمد و همکاران (Mohammed et al., 2002) در آفتابگردان نشان داد که درصد جوانه‌زنی با افزایش تنش شوری کاهش می‌یابد. در مطالعه‌ای، حقانی و همکاران (Hagghani et al., 2008) بیان نمودند که با افزایش شدت تنش شوری درصد جوانه‌زنی شدیداً کاهش می‌یابد. کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و نیز کاهش طول ریشه‌چه و ساقه-چه در پتانسیل‌های حاصل از شوری در آزمایشات متعدد نیز گزارش گردیده است (Huang and Redmann, 1995; Ghoulam and Fares, 2001; Jamil et al., 2006; Broumand Rezazadeh and Koocheki, 2007). بایوردی و طباطبایی (Bybord and Tabatabaei, 2009) اعلام نمودند که کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی با کاهش جذب آب توسط بذور در مرحله آبیگری و تورژانس ارتباط دارد. حسین و همکاران (Hussain et al., 2011) علت تفاوت تحمل ارقام آفتابگردان به تنش شوری را وجود تنوع ژنتیکی دانستند.

الگوی پیوسته توزیع فراوانی رگه‌های درون‌زاد نو ترکیب و والدین آنها برای صفات مورد مطالعه حاکی از یک سیستم کنترل چند ژنی است (شکل ۱). به‌طور کلی بررسی فنوتیپی وجود تفکیک متجاوز برای صفات و تنوع لازم برای تجزیه QTL را نشان داد (شکل ۱).

شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور آفتابگردان

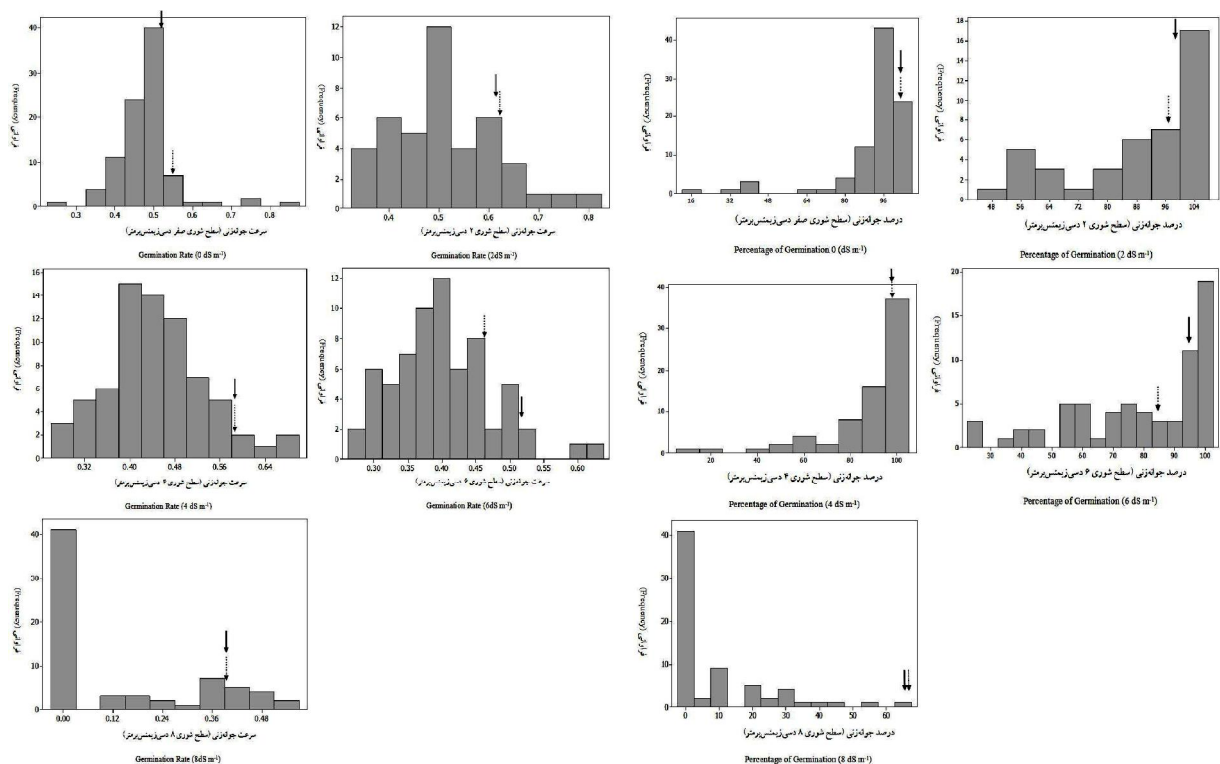
QTL‌های شناسایی شده برای صفات مورد مطالعه در جمعیت حاصل از تلاقی PAC2 × RHA266، به-همراه موقعیت QT‌ها در کروموزوم، مقادیر LOD،

دهد که آلل افزایشده توسط والد پدری (RHA266) منتقل شده است. برای صفت درصد جوانه‌زنی و در سطح شوری ۲، ۳ عدد QTL شناسایی گردید که در گروه‌های پیوستگی ۲، ۱۳ و ۱۵ قرار دارند که از این میان، مهم‌ترین QTL در گروه پیوستگی ۲ با R^2 برابر با ۳۸٪ می‌باشد که توسط والد RHA266 منتقل شده است.

زنی، وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه و طول ریشه شناسایی شد.

line show: P_1 =PAC2 and dotted line show: P_2 =RHA266) concerning to each characters.

بر اساس نتایج مکان‌یابی ژنی، برای صفت درصد جوانه‌زنی در سطح شوری صفر، یک QTL در گروه پیوستگی ۸ و در موقعیت ۱/۰۸ سانتی‌مورگان شناسایی شد. اثر افزایشی با علامت مثبت نشان می‌-



شکل ۱- توزیع فراوانی رگه های درونزاد نوترکیب آفتابگردان و والدین آنها برای صفات درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطوح مختلف (خط منتهی والد مادری و نقطه چین والد پدری) ارزش‌های فنوتیپی لاین‌های والدی را نشان می‌دهند شوری. فلش‌ها $(P_2=RHA266$ و $P_1=PAC2)$.

Fig 1- Frequency distribution of sunflower recombinant inbred lines (RILs) and their parents for germination rate and percentage of germination. Arrows show phenotypic values of parental lines (solid line show: P_1 =PAC2 and dotted line show: P_2 =RHA266) concerning to each characters.

درصد جوانه‌زنی شناسایی گردید که مهم‌ترین QTL در گروه‌های پیوستگی ۱۰ و ۴ قرار داشته و هر دو نیز توسط والد پدری (RHA266) منتقل شده‌اند. نتایج این تحقیق نشان داد که از مجموع ۲۲ عدد QTL مکان‌یابی شده برای سرعت جوانه‌زنی، در سطح

در سطح شوری ۴، ۳ عدد QTL واقع در گروه‌های پیوستگی ۱۰، ۱۲ و ۱۴ شناسایی شد، مهم‌ترین QTL در گروه ۱۰ قرار دارد که R^2 آن ۲۱٪ و در موقعیت ۰/۳۷ سانتی‌مورگان می‌باشد. در سطوح شوری ۶ و ۸، به ترتیب ۳ و ۲ عدد QTL برای صفت

شوری ۲، در گروه‌های ۱، ۶، ۸، ۱۱، ۱۲، ۱۵ و ۱۶ شناسایی شد. دامنه LOD بین ۱/۴۷ تا ۲/۸۱ درصد متغیر بوده و بیشترین تعداد آلل‌های مطلوب توسط والد پدری منتقل شده است. در سطوح شوری ۴ و ۶ (دسی‌زیمنس برمتر) به ترتیب ۶ و ۲ عدد QTL و در گروه‌های پیوستگی ۲، ۵، ۹، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۵ شناسایی شدند.

شوری صفر، ۴ عدد QTL در گروه‌های ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ قرار دارند. دامنه LOD برای QTL‌های شناسایی شده برای صفت و در سطح شوری صفر، بین ۵/۴ تا ۶/۶۳ متغیر بوده و مهم‌ترین QTL در گروه ۱۰ و در موقعیت ۰/۲۷ سانتی‌مورگان قرار دارد که توسط والد RHA266 منتقل شده است. با توجه به جدول ۳، ۸ عدد QTL برای سرعت جوانه‌زنی و در سطح

جدول ۳- موقعیت و اثر QTL‌های شناسایی شده برای سرعت و درصد جوانه‌زنی بذور لاین‌های درون‌زاد نوترکیب آفتابگردان حاصل از

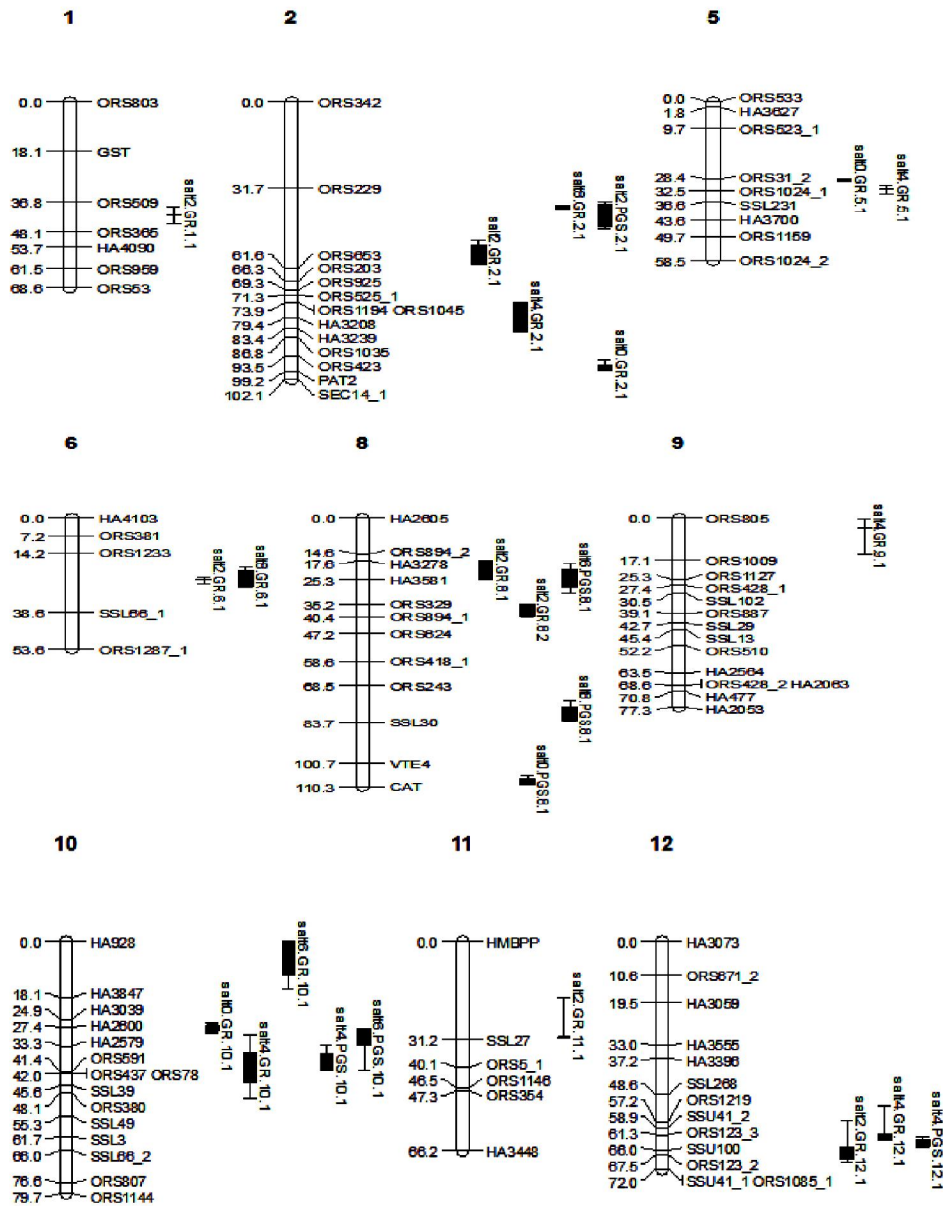
تلاقی PAC2 × RHA266

Table 4- Position and effect of detected QTLs for germination rate and percentage of germinated seed of sunflower recombinant inbred lines resulted from the cross PAC2 (as female parent) × RHA266 (as a male parent)

صفت	مکان‌های صفت	نشانه‌های مجاور	موقعیت	LOD	اثرات	R ²	صفت	مکان‌های صفت	نشانه‌های مجاور	موقعیت	LOD	اثرات	R ²	
Trait	Interval markers	Positn (cM)	افزایشی	Additive Effects	Trait	Interval markers	Positn (cM)	افزایشی	Additive Effects	Trait	Interval markers	Positn (cM)	افزایشی	Additive Effects
GR2d	salt2.GR.1.1	ORS509-ORS365	0.42	1.90	0.04	5.32	PG0d	salt0.PG.8.1	VTE4-CAT	1.08	16.78	0.17	2.04	
	salt2.GR.12.1	SSU100-ORS123_2	0.67	2.56	0.03	12.59	PG2d	salt2.PG.15.1	ORS687-HA4239	0.18	5.21	11.1	19.84	
	salt2.GR.6.1	ORS1233-SSL66_1	0.25	1.80	-0.11	17.54		salt2.PG.2.1	ORS229-ORS653	0.38	5.66	4.9	38.46	
	salt2.GR.8.1	HA3278-HA3581	0.19	2.68	-0.03	16.55		salt2.PG.13.1	ORS316-SSU39	0.44	4.74	1.65	30.61	
	salt2.GR.8.2	ORS329-ORS892_1	0.37	2.45	-0.03	11.59	PG4d	salt4.PG.12.1	ORS123_3-SSU100	0.63	5.56	3.14	7.77	
	salt2.GR.15.1	ORS499-ORS687	0.16	1.91	0.02	5.32		salt4.PG.14.1	SSL20_1-SSL33	0.62	5.47	-2.82	3.31	
	salt2.GR.11.1	HMBPP-SSL27	0.30	1.96	-0.04	3.59		salt4.PG.10.1	HA2579-ORS591	0.37	5.09	10.91	21	
GR4d	salt4.GR.9.1	ORS805-ORS1009	0.04	1.89	0.03	5.78	PG6d	salt6.PG.8.1	HA3581-ORS329	0.25	4.59	13.36	10.9	
	salt4.GR.10.1	ORS591-ORS437-ORS78	0.42	3.09	0.03	16.48		salt6.PG.10.1	HA2579-ORS591	0.37	6.48	17.83	30.5	
	salt4.GR.12.1	SSU41_2-ORS123_3	0.61	1.73	0.01	2.08		salt6.PG.14.1	SSL20_1-SSL33	0.64	3.91	-6.22	2.31	
	salt4.GR.15.1	SSU25-ORS8	0.94	1.78	0.02	2.68	PG8d	salt8.PG.8.1	ORS243-SSL30	0.81	4.92	2.34	4.91	
	salt4.GR.2.1	HA3208-HA3239	0.81	3.26	0.04	25.38		salt8.PG.16.1	ORS5_2-ORS303_1-ORS303_2	0.67	5.90	-0.35	3.03	
	salt4.GR.5.1	ORS31_2-ORS1024_1	0.32	1.78	0.02	5.55	GR0d	salt0.GR.2.1	ORS423-PAT2	0.98	6.63	-0.01	3.17	
GR6d	salt6.GR.14.1	SSU217-SSU195	0.001	4.43	0.01	4.56		salt0.GR.5.1	ORS31_2-ORS1024_1	0.29	5.93	-0.004	3.03	
	salt6.GR.10.1	HA928-HA3847	0.02	4.82	0.06	67.61		salt0.GR.15.1	SSU25-ORS8	0.91	5.59	0.008	3.65	
GR8d	salt8.GR.6.1	ORS1233-SSL66_1	0.24	13.61	0.11	30.6		salt0.GR.10.1	HA3039-HA2600	0.27	6.41	0.01	6.69	
	salt8.GR.2.1	ORS229-ORS653	0.39	12.81	-0.11	29.92	GR2d	salt2.GR.16.1	SSL20_2-ORS333	0.02	1.47	0.03	11.4	

GR: سرعت جوانه‌زنی. PG: درصد جوانه‌زنی. علامت منفی در اثرات افزایشی نشان دهنده نقش والد مادری (PAC2) در افزایش صفت و علامت مثبت در اثرات افزایشی نشان دهنده نقش والد پدری (RHA266) در افزایش صفت است. R²: درصد واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط QTL. LOD: لگاریتم نسبت بیشترین درست‌نمایی وجود کیو تی ال به عدم وجود کیو تی ال در هر جایگاه بین دو نشانگر مجاور را نشان می‌دهد. PG0d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۰ دسی‌زیمنس برمتر. GR0d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۰ دسی‌زیمنس برمتر. PG2d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۲ دسی‌زیمنس برمتر. GR2d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۲ دسی‌زیمنس برمتر. PG4d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۴ دسی‌زیمنس برمتر. GR4d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۴ دسی‌زیمنس برمتر. PG6d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۶ دسی‌زیمنس برمتر. GR6d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۶ دسی‌زیمنس برمتر. PG8d: درصد جوانه‌زنی در شوری ۸ دسی‌زیمنس برمتر. GR8d: سرعت جوانه‌زنی در شوری ۸ دسی‌زیمنس برمتر.

cM: centimorgan; LG: linkage group; LOD: log₁₀ likelihood ratio (likelihood that the effect occurs by linkage/likelihood that the effect occurs by chance). QTL: Quantitative Trait Loci. R² is the percentage of individual phenotypic variance explained by each QTL.



های درونزاد نوترکیب گروه‌های پیوستگی ژنوم آفتابگردان و جایگاه‌های ژنی کنترل کننده سرعت و درصد جوانه‌زنی در رگه-۲ شکل
PAC2 × RHA266 آفتابگردان حاصل از تلاقی

Figure 2- Sunflower genome linkage groups and loci controlling germination rate and percentage of germinated seeds in crossed sunflower recombinant inbred lines (RILs)

شده (۶۷/۶۱٪) مربوط به QTL، Salt6.GR.10.1، است که توسط نشانگرهای HA928-HA3847 با اثر افزایشی مثبت محصور شده است. در مطالعه‌ای که توسط ابراهیمی و صرافعی (Ebrahimi and Sarrafi, 2012) به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی و شناسایی نشانگرهای مرتبط با پارامترهای

در سطح شوری ۸ (دسی‌زیمنس بر متر) ۲ عدد QTL در گروه‌های پیوستگی ۲ و ۶ مکان‌یابی شد. آلل‌های مطلوب برای QTLها در این سطح از شوری توسط هر دو والد PAC2 و RHA266 منتقل شده است. برای سرعت جوانه‌زنی در سطح شوری ۸ (دسی‌زیمنس بر متر)، بیشترین تغییرات فنوتیپی توجیه

بر وجود سیستم کنترل چند ژنی است شناسایی شد (جدول ۳ و شکل ۲). طبق نتایج به دست آمده چندین QTL هم‌مکان در گروه‌های ۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۱۵ شناسایی گردید. بیشترین مقادیر واریانس فنوتیپی توجیه شده برای سرعت و درصد جوانه‌زنی (به ترتیب ۲۹/۹۲٪ و ۳۸/۴۶٪) مربوط به QTL های شناسایی شده در روی گروه لینکاژی ۲ می‌باشد (شکل ۲). شناسایی QTL های مربوط به صفات که در گروه‌های پیوستگی با هم تداخل دارند بیانگر وجود اثر پلیوتروپی یا پیوستگی شدید ژن‌ها می‌باشد و اهمیت زیادی در به‌نژادی گیاهی دارد، زیرا گزینش همزمان چندین صفت را امکان‌پذیر می‌سازد و بدین ترتیب کارایی انتخاب (اصلاح چند صفت به‌طور همزمان) را در برنامه‌های اصلاحی افزایش می‌دهد. QTL های شناسایی شده در صورت تأیید می‌توانند در توسعه استراتژی گزینش به کمک نشانگر کمک نمایند.

سپاسگزاری

بدینوسیله نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از دانشکده کشاورزی و پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه که امکانات لازم برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند، صمیمانه تشکر نمایند. از انستیتو تحقیقات آگرونومی تولوز فرانسه به خاطر در اختیار قرار دادن بذور جمعیت رگه‌های درونزاد نو ترکیب تشکر و قدردانی می‌گردد.

جوانه‌زنی در لاین‌های جهش یافته آفتابگردان تحت تنش خشکی انجام شد، برای صفت درصد جوانه‌زنی بذور در شرایط تنش خشکی و نرمال به ترتیب ۸ و ۶ عدد QTL، با ضریب تبیین ۱۲/۵٪ الی ۲۰٪ و ۱۲/۹۰٪ الی ۲۳/۴۰٪ شناسایی شدند. در مطالعه دیگری (Davar *et al.*, 2011) مکان‌یابی صفات مرتبط با بنیه بذر و رشد و توسعه بذور در آفتابگردان انجام گرفت و برای صفت روز تا جوانه‌زنی (DSE) ۷ عدد QTL با R^2 بین ۶/۹٪ تا ۱۴/۶۲٪ شناسایی شدند که آلل‌های مطلوب از طریق والد مادری (PAC2) منتقل شده‌اند. گزارشات (Davar *et al.*, 2011) نشان داد که برای صفت سرعت جوانه‌زنی (GR) ۲ QTL در گروه‌های ۶ و ۱۰ قرار دارند که دامنه LOD برای آنها بین ۵/۰۸ تا ۷/۷۹ بوده و دامنه ضریب تبیین آنها بین ۸/۱٪ تا ۱۱/۷٪ است. در تحقیق آنها (Davar *et al.*, 2011) آلل‌های مطلوب برای صفت سرعت جوانه‌زنی از هر دو والد (PAC2, RHA266) منتقل شده بودند هم-چنین، در مطالعه دیگری (Rachid Al-Chaarani *et al.*, 2005) برای صفت درصد جوانه‌زنی بذور آفتابگردان، ۴ QTL در گروه‌های پیوستگی ۳، ۶ و ۹، با R^2 بین ۸٪ تا ۱۶٪ شناسایی نمودند و ۳ آلل مطلوب از طریق والد پدری (RHA266) منتقل شده بود.

در تحقیق حاضر، چندین QTL اختصاصی و غیر اختصاصی (هم‌مکان) برای صفات مورد بررسی و نیز QTL‌هایی با اثرات کوچک که در واقع تأییدی

References

منابع مورد استفاده

- Abdi, N., R. Darvishzadeh, M. Jafari, A. Pirzad and P. Haddadi. 2012. Genetic analysis and QTL mapping of agro-morphological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under two contrasting water treatment conditions. *Plant Omics J.* 5: 149-158.
- Abdi, N., R. Darvishzadeh, H. Hatami Maleki, P. Haddadi and A. Sarrafi. 2013. Identification of quantitative trait loci for relative water content and chlorophyll concentration traits in recombinant inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Zemdirbyste-Agriculture* 100: 159-166.

- Akbari Moghaddam, H., M. Galavi, A. Ghanbari and N. Panjehkeh. 2011.** Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. *Trakia J. Sci.* 9: 43-50.
- Allinne, C., P. Maury, A. Sarrafi and P. Grieu. 2009.** Genetic control of physiological traits associated to low temperature growth in sunflower under early sowing conditions. *Plant Sci.* 177: 349-359.
- Amouzadeh, M., R. Darvishzadeh, P. Haddadi, B. Aabdollahi Mandoulakani and Y. Rezaee Danesh. 2013.** Genetic analysis of partial resistance to basal stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) in sunflower. *Genetika* 3: 737-748.
- Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2013.** Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection. *Plant Breed.* 132: 10-20.
- Basten, C.J., B.S. Weir and Z.B. Zeng. 2002.** QTL cartographer, version 1.16. Department of Statistics, North Carolina State University: Raleigh, NC, USA.
- Bajji, M., J.M. Kinet and S. Lutts. 2002.** Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (*Chenopodiaceae*). *Can. J. Bot.* 80: 297-304.
- Bert, P.F., I. Jouan, D. Tourvieille de Labrouhe, F. Serre, P. Nicolas and F. Vear. 2002.** Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus L.*). 1. Characterisation of QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Diaporthe helianthi*. *Theor. Appl. Genet.* 105: 985-993.
- Bert, P.F., I. Jouan, G. Dechamp-Guillaume, F. Serre, J. Philippon, P. Nicolas and F. Vear. 2004.** Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus L.*) 3. Characterisation of QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Phoma macdonaldi*. *Theor. Appl. Genet.* 109: 865-874.
- Bybordi, A. and J. Tabatabaei. 2009.** Effect of salinity stress on germination and seedling properties in canola cultivars (*Brassica napus L.*). *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj-Na.* 37: 71-76.
- Broumand Rezazadeh, Z. and A. Koochaki. 2005.** Germination response of Ajowan, Fennel and Dill to osmotic potential of sodium chloride and polyethylene glycol 6000 in different temperature regimes. *Iran. J. Field Crops Res.* 320: 207-217. (In Persian, with English abstract).
- Churchill, G.A. and R.W. Doerge. 1994.** Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics* 138: 963-971.
- Collard, B.C.Y., M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer and E.C.K. Pang. 2005.** An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142: 169-196.
- Collard, B.C.Y. and D.J. Mackill. 2008.** Marker assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty first century. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 363: 557-572.
- Cui, K.H., S.B. Peng, Y.Z. Xing, C.G. Xu, S.B. Yu and Q. Zhang. 2002.** Molecular dissection of seedling vigour and associated physiological traits in rice. *Theor. Appl. Genet.* 105: 745-753.
- Darvishzadeh, R., S. Poormohammad Kiani, G. Dechamp-Guillaume, L. Gentzbittel and A. Sarrafi. 2007.** Quantitative trait loci associated with isolate specific and isolate nonspecific partial resistance to *Phoma macdonaldii* in sunflower. *Plant Pathol.* 56: 855-861.
- Davar, R., R. Darvishzadeh, A. Majd, Y. Gousta and A. Sarrafi. 2010.** QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. *Phytopathol. Mediterr.* 49: 330-341.
- Davar, R., A. Majd, R. Darvishzadeh and A. Sarrafi. 2011.** Mapping quantitative trait loci for seedling vigour and development in sunflower (*Helianthus annuus L.*) using recombinant inbred line population. *Plant Omics J.* 4: 418-427.
- Ebrahimi, A. and A. Sarrafi. 2012.** Genetic variability and identification of markers associated with germination parameters in gamma-irradiation induced mutants of sunflower under water stress condition. *Iran. J. Genet. Plant Breed.* 1: 1-8.
- Ghoulam, C. and K. Fares. 2001.** Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (*Beta vulgaris L.*). *Seed Sci. Technol.* 29: 357-364.
- Haddadi, P., A. Ebrahimi, N.B. Langlade, B. Yazdi-Samadi, M. Berger, A. Calmon, M.R. Naghavi, P. Vincourt and A. Sarrafi. 2012.** Genetic dissection of tocopherol and phytosterol in recombinant inbred lines of sunflower through QTL analysis and the candidate gene approach. *Mol. Breed.* 29: 717-729.
- Hagghani, M., M. Saffari and A.A. Magsoudi-Moud. 2008.** Effect of Different levels of NaCl salinity on germination and seedling growth of safflower cultivars (*Carthamus tinctorius L.*). *J. Agric. Sci. Nat. Res.* 45: 449-458. (In Persian, with English abstract).
- Huang, J. and R.E. Redmann. 1995.** Salt tolerance of *Hordeum* and *Brassica* species during germination and early seedling growth. *Can. J. Plant Sci.* 75: 815-819.
- Hussain, S.A., J. Akhtar, M. Anwar-ul-haq and R. Ahmad. 2011.** Growth, yield and ionic concentration of two sunflower (*Helianthus annuus L.*) genotypes exposed to brackish water irrigation. *Soil & Environment* 30: 58-65.

- Jamil, M., D.B. Lee, K.Y. Jung, M. Ashraf, S.C. Lee and E.S. Rha. 2006.** Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. *J. Cent. Eur. Agric.* 7: 273-282.
- Khajehpour, M.R. 2006.** Industrial crops, Second edition. Jihad Academic Press. Ind. Univ. of Esfahhan, 250p. (In Persian).
- Kearsey, M.J. and H.S. Pooni. 1996.** The Genetical Analysis of Quantitative Traits. Chapman & Hall, London.
- Khan, M.A. and S. Gulzar. 2003.** Germination responses of *Sporobolus ioclados*: A saline desert grass. *J. Arid. Environ.* 55: 453-464.
- Khan, M.M., M.J. Iqbal, M. Abbas, H. Reza, R. Waseem and A. Ali. 2004.** Loss of vigour and viability in aged onion (*Allium cepa L.*) seed. *Int. J. Agric. Biol.* 6:708-711.
- Khan, M.S. 2011.** Role of sodium and hydrogen (Na⁺/H⁺) antiporters in salt tolerance of plants: present and future challenges. *Afr. J. Biotechnol.* 10: 13693-13704.
- Micic, Z., V. Hahn, E. Bauer, C.C. Schon, S.J. Knapp, S. Tang and A.E. Melchinger. 2004.** QTL mapping of *Sclerotinia* midstalk-rot resistance in sunflower. *Theor. Appl. Genet.* 109: 1474-1484.
- Mir Mohammadi Meybodi, A. and B. Ghareyazi. 2002.** Physiologic and Breeding aspects of salt stress. Esfahan University of Technology Press. Esfahan, Iran. 274p. (In Persian, with English abstract).
- Mohammed, E.I.M., M. Benbella and A. Talouizete. 2002.** Effect of sodium chloride on sunflower (*Helianthus annuus L.*) seed germination. *Helia* 25: 51-58.
- Mokrani, L., L. Gentzbittel, F. Ananza, L. Fitamant, G. Rachid Al Chaarani and A. Sarrafi. 2002.** Mapping and analysis of quantitative trait loci for grain oil content and agronomic traits using AFLP and SSR in sunflower (*Helianthus annuus L.*). *Theor. Appl. Genet.* 106: 149-156.
- Munns, R. 2005.** Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* 167: 645-663.
- Peres-Vich, B., J.M. Fernandes-Martinez, M. Grondona, S.J. Knapp and S.T. Berry. 2002.** Stearoyl-ACP and oleoyl-PC desaturase genes cosegregate with quantitative trait loci underlying high stearic and high oleic acid mutant phenotypes in Sunflower. *Theor. Appl. Genet.* 104: 338-349.
- Peres-Vich, B., S.J. Knapp, A.J. Leon, J.M. Fernandes-Martinez and S.T. Berry. 2004a.** Mapping minor QTL for increased stearic acid content in Sunflower seed oil. *Mol. Breed.* 13: 313-322.
- Peres-Vich, B., B. Akhtoch, S.J. Knapp, A.J. Leon, L. Vlascom, J.M. Fernandes-Martinez and S.T. Berry. 2004b.** Quantitative trait loci for broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) resistance in sunflower. *Theor. Appl. Genet.* 109: 92-102.
- Poormohammad Kiani, S., P. Talia, P. Maury, P. Grieu, R. Heinz, A. Perrault, V. Nishinakamasu, E. Hopp, L. Gentzbittel, N. Panieg and A. Sarrafi. 2007a.** Genetic analysis of plant water status and osmotic adjustment in recombinant inbred lines of sunflower under two water treatments. *Plant Sci.* 172: 773-787.
- Poormohammad Kiani, S., P. Grieu, P. Maury, T. Hwezzi, L. Gentzbittel and A. Sarrafi. 2007b.** Genetic variability for physiological traits under drought conditions and differential expression of water stress-associated genes in sunflower (*Helianthus annulus L.*). *Theor. Appl. Genet.* 114: 193-207.
- Poormohammad Kiani, S., P. Maury, A. Sarrafi and P. Grieu. 2008.** QTL analysis of chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus L.*) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Sci.* 175: 565-573.
- 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.
- Qasim, M. and M. Ashraf. 2006.** Time course of ion accumulation and its relationship with the salt tolerance of two genetically diverse lines of canola (*Brassica napus L.*). *Pak. J. Bot.* 38: 663-672.
- Rachid Al-Chaarani, G., A. Roustae, L. Gentzbittel, L. Mokrani, G. Barrault, G. Dechamp-Guillaume and A. Sarrafi. 2002.** A QTL analysis of sunflower partial resistance to downy mildew (*Plasmopara halstedii*) and black stem (*Phoma macdonaldii*) by the use of recombinant inbred lines (RILs). *Theor. Appl. Genet.* 104: 490-496.
- Rachid Al-Chaarani, G., L. Gentzbittel, M. Wedzony and A. Sarrafi. 2005.** Identification of QTLs for germination and seedling development in sunflower (*Helianthus annuus L.*). *Plant Sci.* 169: 221-227.
- Rauf, M., M. Munir, M.U. Hassan, M. Ahmad and M. Afzal. 2007.** Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. *Afr. J. Ecol.* 6: 971-975.
- Shapiro, S. S. and M.B. Wilk. 1965.** An analysis of variance test for normality. *Biometrika* 52: 591-599.
- Stansfield, W.D. 1991.** Theory and Problems in Genetics. McGraw-Hill.
- Turhan, H. and C. Ayaz. 2004.** Effect of salinity on seedling emergence and growth of sunflower (*Helianthus annuus L.*) cultivars. *Int. J. Agric. Biol.* 6: 149-152.
- Wang, S., C.J. Basten and Z.B. Zeng. 2012.** Windows QTL Cartographer 2.5 [Online]. Available at <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm> (accessed 20 June 2013; verified 11 Nov 2016). Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.

- Validani, A.R., A.A. Hasanzadeh Ghorttappah and M. Tajbakhsh. 2005.** Study on the effects of salt stress in germination and embryo growth stages of the four prolific and new cultivars of winter rapeseed (*Brassica napus* L.). Pajouhesh & Sazandegi 66: 23-32. (In Persian, with English abstract).
- Xu Y. 2002.** Global view of QTL: rice as a model. In: Kang MS, editor. Quantitative genetics, genomics and plant breeding. Wallingford (UK): CAB Int., 109-134.