

## شناسایی QTL های کنترل کننده عملکرد و اجزای عملکرد در آفتابگردان در شرایط تنش شوری

فریبا مرسلی آقاجری<sup>۱</sup>، رضا درویش زاده<sup>۲\*</sup>، حمید حاتمی ملکی<sup>۳</sup>، محسن برین<sup>۴</sup> و ناصر عباسپور<sup>۵</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲. استاد، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه و استاد پژوهشکده زیست فناوری

دانشگاه ارومیه

۳. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

۴. استادیار، گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۵. دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۵/۵ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۷/۱)

### چکیده

تنش شوری از جمله مهم ترین تنش های غیرزنده تهدیدکننده گیاهان است. به منظور بررسی تأثیر تنش شوری بر صفات عملکرد و اجزای عملکرد آفتابگردان و تجزیه ژنتیکی این صفات در رابطه با تحمل به شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی با سه تکرار در گلدان و در فضای باز انجام گرفت. عامل های مورد بررسی در این آزمایش شامل سطوح مختلف تنش شوری (عادی یا نرمال و تنش ناشی از ۶ دسی زیمنس بر متر) و رگه (لاین) های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان (۱۰۲ رگه حاصل از تلاقی بین دورگه RHA266 و PAC2 به همراه والدین) بودند. نتایج نشان داد که اثر تنش شوری بر همه صفات مورد بررسی به جز صفات طول دم برگ، عرض برگ، طول برگ، قطر طبق و وزن صددانه معنی دار است. تأثیر ژنوتیپ بر همه صفات مورد بررسی معنی دار بود. تجزیه ژنتیکی صفات اندازه گیری شده با استفاده از نقشه پیوستگی تهیه شده با ۲۲۱ نشانگر مولکولی (۲۱۰ SSR/۱۱ SNP) با میانگین فاصله ۷/۴۴ سانتی مورگان بین نشانگرها به روش مکان یابی فاصله ای مرکب (CIM) انجام گرفت. برای صفات مورد بررسی در مجموع ۳۱ QTL شناسایی شد که ۱۴ QTL مربوط به شرایط عادی و ۱۷ QTL مربوط به شرایط تنش شوری بود. بیشترین مقدار  $R^2$  (درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده) (۳۹/۷ درصد) مربوط به QTL شناسایی شده برای صفت شمار روز تا گلدهی در شرایط تنش شوری بود. چندی از QTL های شناسایی شده برای صفات مختلف هم جایگاه بودند. استفاده از QTL های هم مکان موجب افزایش کارایی انتخاب به کمک نشانگر و پیشبرد برنامه های بهنژادی گیاهی می شود.

**واژه های کلیدی:** آفتابگردان، تجزیه ژنتیکی، تنش شوری، مکان یابی ژنی.

### مقدمه

۵۰ درصد زمین های مناسب کشاورزی بر اثر شوری قابلیت کشت خود را از دست خواهند داد (Bahmani *et al.*, 2015). شوری خاک ناشی از آنیون ها و کاتیون های بسیاری از جمله  $Na^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Cl^-$ ،  $SO_4^{2-}$  و  $HCO_3^-$  است اما از مهم ترین آن ها می توان به  $Na^+$  و

تنش شوری یکی از مهم ترین تنش های غیرزنده بوده (Matsui *et al.*, 2008) که اثرگذاری های زیانباری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول دارد. پیش بینی می شود که در ۲۵ سال آینده ۳۰ درصد و تا سال ۲۰۵۰،

بررسی‌های بسیاری برای بررسی و تولید محصولات متحمل به شوری صورت گرفته است (Ashraf & Akram, 2009; Azzedine *et al.*, 2011; Rai *et al.*, 2011; Ashraf & Foolad, 2013). تحمل به شوری صفت پیچیده‌ای است که به‌تنهایی توسط یک ژن کنترل نمی‌شود (Shannon, 1997). به دلیل پیچیدگی صفات کمی، محققان ژنتیک و به‌نژادگران گیاهی، اطلاعات اندکی از شمار ژن‌ها، جایگاه کروموزومی آن‌ها و سهم نسبی شرکت هر یک از ژن‌ها در تظاهر و توزیع فنوتیپی یک صفت کمی دارند. مکان‌یابی ژن‌های کمی می‌تواند این مدل پیچیده ژنتیکی را به اجزای ژنتیکی منفرد تجزیه کند، که در این صورت صفات کمی نیز با کارایی صفات تک ژنی بررسی خواهند شد (Lander & Botstein, 1989). یکی از روش‌های نوین برای اصلاح گیاهان و تولید رقم‌های جدید، شناسایی نشانگرهای DNA پیوسته با ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی (تجزیه QTL) به‌منظور استفاده در گزینش به کمک نشانگر<sup>۱</sup> است (Collard *et al.*, 2005). بررسی‌های بسیاری در مورد تعیین جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده صفات در واکنش به تنش‌های محیطی از قبیل تحمل به تنش خشکی (Poormohammad Kiani *et al.*, 2009; Abdi *et al.*, 2012, 2013)، مقاومت به بیماری ساقه سیاه فوما (Hatami Maleki *et al.*, 2014)، مقاومت نسبی به پوسیدگی ساقه (Amouzadeh *et al.*, 2015) در آفتابگردان صورت گرفته است. بررسی منابع نشان می‌دهد که درزمینه تجزیه ژنتیکی تحمل به شوری در آفتابگردان با روش‌های متداول (کلاسیک) مانند تلاقی‌های دی آلل و تجزیه میانگین نسل‌ها و نیز روش‌هایی مانند تجزیه QTL گزارش‌های محدودی وجود دارد (Lexer *et al.*, 2003). این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر تنش شوری بر صفات زراعی آفتابگردان و شناسایی و مشخص کردن QTL‌های کنترل‌کننده، جایگاه ژنگانی (ژنومی) و سهم هر یک از آن‌ها با استفاده از جمعیت رگه (لاین)‌های خویش‌آمیخته PAC2 × RHA266 حاصل از تلاقی دورگه انجام گرفت.

CI اشاره کرد (Ebrahimi & Bhata, 2012; Rai *et al.*, 2011). بنابراین، در بیشتر تحقیقات مربوط به شوری از نمک NaCl برای ایجاد تنش استفاده می‌شود. یون‌های کلراید و سدیم بیشتر از دیگر یون‌ها توسط یاخته‌های ریشه جذب می‌شوند (Shahbaz & Ashraf, 2013; Rani *et al.*, 2012).

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، یکی از گیاهان دانه روغنی متعلق به تیره Compositae است که زراعت آن در سراسر جهان به سه دلیل عمده، زیبا بودن گل، مصرف مستقیم دانه (مصرف آجیلی) و تولید روغن آفتابگردان انجام می‌شود (Vollmann & Rajcan, 2010). Haffman & Mass (1977) آستانه تحمل به شوری آفتابگردان را ۲/۳ دسی‌زیمنس برمتر گزارش کردند، پس می‌توان گفت آفتابگردان گیاهی نیمه‌حساس به شوری است. پرورش آفتابگردان در زمین‌های شور همراه با کاهش عملکرد، کاهش قطر طبق، محتوای پروتئین بذرها، ارتفاع گیاه، سطح و شمار برگ، سرعت نورساخت (فتوسنتز) خالص و نیز کاهش میزان هدایت روزنه‌ای آفتابگردان است (Liu & Shi, 2010; Asia Khaton *et al.*, 2000).

شوری از سه راه بر رشد و عملکرد گیاه تأثیر می‌گذارد؛ نخست به‌خاطر کل املاح محلول در خاک، پتانسیل اسمزی و انرژی آزاد آب کاهش‌یافته و بنابراین گیاه برای به دست آوردن مقداری مشخص از آب، باید انرژی حیاتی بیشتری مصرف کند. تأثیر دوم مربوط به وجود یون‌هایی خاص نظیر کلر، سدیم و بر در محلول خاک می‌شود، که به‌طور مستقیم موجب بروز سمیت در گیاه شده و در سازوکارهای جذب گیاه اختلال ایجاد می‌کنند. تأثیر سوم مربوط به بروز نداشتن تعادل تغذیه‌ای است. به‌طوری‌که وجود برخی یون‌ها به میزان زیاد منجر به برهم خوردن تعادل عناصر غذایی موجود در محلول خاک شده و در نهایت جذب و انتقال دیگر عناصر غذایی ضروری مانند  $Ca^{2+}$ ،  $K^{+}$  و  $Mg^{2+}$  از خاک به گیاه مختل می‌شود (Pourmeidani *et al.*, 2011).

نخستین تحقیقات ژنتیکی درزمینه تحمل به شوری، به‌صورت کاربردی توسط Epstein *et al.* (1980) آغاز شد و از آن زمان تاکنون گزارش‌ها و

1. Marker assisted selection (MAS)

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی و طرح آزمایشی

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش ۱۰۲ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب (نسل F<sub>۲</sub>) آفتابگردان حاصل از تلاقی دورگه (♂) RHA266 و PAC2 (♀) هستند. جمعیت رگه‌ها با استفاده از روش بالک تک بذری و توسط مؤسسه ملی تحقیقات آگرونومی (INRA) فرانسه تهیه شده‌اند. رگه پدری RHA266 از تلاقی بین ژنوتیپ وحشی *H. annuus* و *Peredovik* توسط وزارت کشاورزی آمریکا (USDA) و رگه مادری PAC2 در INRA فرانسه از تلاقی بین *H. Petiolaris* و HA61 تولید شده‌اند (Gentzbittel et al., 1995). در این بررسی، ۱۰۲ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب<sup>۱</sup> به همراه والدین، تحت دو تیمار تنش شوری (عادی یا نرمال و تنش شوری ناشی از ۶ دسی‌زیمنس برمتر) اعمال شده با NaCl، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی با سه تکرار بررسی شدند. در بررسی واکنش ژنوتیپ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی در شرایط کنترل شده به طور معمول شدت تنش را متوسط در نظر می‌گیرند تا ژنوتیپ‌های با پتانسیل خوب در مراحل اولیه گزینش حذف نشوند (Morsali Aghajari et al., 2014). برای انجام کارهای مربوط به کشت، ۶۰۰ گلدان پلاستیکی با قطر ۲۶ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر آماده و با خاک مزرعه و پیت ماس به نسبت ۳ به ۱ پر شدند. در آغاز سه بذر از هر رگه در شش گلدان (۶ تکرار) در عمق ۲ سانتی‌متری خاک کاشته شد پس از استقرار گیاهچه‌ها در مرحله چهار برگی در هر گلدان قوی‌ترین گیاهچه نگهداری و بقیه حذف شدند. از شش گلدان مربوط به هر رگه به سه گلدان، شوری ۶ دسی‌زیمنس برمتر اعمال و به سه گلدان شوری اعمال نشد. جهت دستیابی به شوری ۶ دسی‌زیمنس برمتر، بر پایه میزان شوری اولیه خاک هر گلدان میزان ۹/۵ گرم نمک NaCl در ۵۰۰ سی‌سی آب حل و پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله هشت برگی به هر گلدان اضافه شد. کنترل میزان شوری خاک گلدان‌ها با دستگاه EC<sup>۲</sup> سنج انجام گرفت. برای

جلوگیری از تنش اسمزی، اعمال شوری در دو مرحله انجام شد به این ترتیب که ۲۵۰ سی‌سی از محلول نمک، صبح و ۲۵۰ سی‌سی نیز بعد از ظهر همان روز اعمال شد. سامانه آبیاری به صورت قطره‌ای و کود دهی در چندین نوبت در طول دوره رشد رویشی گیاه انجام شد. در هنگام آبیاری دقت می‌شد تا آب از زهکش گلدان‌ها خارج نشود. تاریخ کاشت بذرها اوایل خردادماه ۱۳۹۲ و طول دوره رشد گیاه تا آخر شهریورماه همان سال به طول انجامید. پس از مرحله گلدهی صفات مختلف مانند عملکرد تک بوته (برحسب گرم)، وزن صددانه (برحسب گرم)، شمار برگ، طول برگ (سانتی‌متر)، عرض برگ (سانتی‌متر) و سطح برگ (سانتی‌متر)، قطر ساقه (سانتی‌متر)، طول دم برگ (سانتی‌متر)، وزن خشک ساقه (گرم ماده خشک)، وزن خشک طبق (گرم ماده خشک)، وزن خشک کل گیاه (گرم ماده خشک) و شمار روز تا گلدهی اندازه‌گیری شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

عادی بودن توزیع اشتباه‌های آزمایشی برابر با روش Shapiro & Wilk و وجود داده‌های پرت با تحلیل باقی‌مانده‌ها (Kaps & Miroslav, 2004) بررسی شد. تجزیه واریانس داده‌ها به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی با استفاده از مدل خطی عمومی (GLM) انجام گرفت. میانگین جمعیت رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب و والدین آن‌ها برای صفات مورد نظر با استفاده از آزمون LSD مقایسه شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.2 و Minitab 16 انجام گرفت. با مقایسه میانگین ۱۰ درصد از بهترین نتایج برای هر یک از صفات با میانگین والدین آن‌ها، سود ژنتیکی (معادله ۱) محاسبه شد (Poormohammad, Kiani et al., 2007a, b, 2009).

$$GG10\% = \bar{X}_{10\% \text{ best RILs}} - \bar{X}_P \quad (1)$$

شناسایی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مورد بررسی با استفاده از نقشه پیوستگی توسعه یافته توسط Amouzadeh et al. (2015) انجام شد. به طور خلاصه نقشه ژنتیکی با ۲۱۰ نشانگر SSR و ۱۱ SNP با میانگین تراکم ۷/۴۴ سانتی‌مورگان بین نشانگرها

1. Recombinant inbred line (RIL)  
2. Electrical conductivity (EC)

آزمایش لازم است تکرار شود (Jayaraman, 1999). البته در مواقعی اگر آماره F تیمار معنی‌دار باشد لازم به تکرار آزمایش نیست. باور بر این است در چنین مواقعی اختلاف بین تیمارها به حدی است که باوجود بالا بودن ضریب تغییرات (بالا بودن واریانس اشتباه آزمایشی) باز اختلاف‌های خود را نشان داده‌اند و این مورد در چندین نتیجه پژوهشی گزارش شده است (Xu et al., 2000; Zarei et al., 2007, Darvishzadeh et al., 2010).

نتایج مربوط به بررسی اختلاف میانگین رگه‌ها در دو شرایط موردبررسی (جدول ۲) بیانگر این است که میانگین رگه‌ها در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط عادی، برای همه صفات موردبررسی کاهش یافته که این روند کاهش، دور از انتظار نیست، زیرا کاهش در قطر و وزن طبق آفتابگردان در شرایط شوری در بررسی‌های پیشین (Ahmed et al., 2005; Di Carerina et al., 2013; Anvar-ul-Haq et al., 2007)، نیز مشاهده شده است. همچنین، بررسی‌ها نشان داده که به‌طورمعمول تنش شوری منجر به کاهش وزن خشک و تر ریشه و اندام هوایی و کاهش شمار برگ در گیاه برنج می‌شود (Bunyamin et al., 2008). در پژوهشی، Dkhal & Denden (2010) بیان کردند که کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تحت تأثیر تنش شوری سبب کاهش سوخت‌وساز (متابولیسم) ذخایر غذایی بذر و در نتیجه کاهش رشد گیاهان می‌شود. نتایج همسانی مبنی بر کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه در تأثیر شوری برای آفتابگردان گزارش شده است (Shahbaz et al., 2011). Zareh et al. (2004) بیان کردند رخداد تنش، سطح برگ را کاهش می‌دهد که ناشی از کاهش اندازه‌یاخته‌ها است، همین روند توسط (Yilmaz & Kina, 2008; Rui et al., 2009) نیز گزارش شده است. در نتایج بررسی‌هایی، با اعمال تنش شوری کاهش ارتفاع بوته و زیست‌توده، کاهش سطح برگ و نرخ رشد مشاهده شد (Rui et al., 2009; Akram et al., 2010; Memon et al., 2010). Dehshiri et al. (2012) گزارش کردند که تنش شوری باعث کاهش عملکرد دانه در گیاه کلزا می‌شود. همین نتایج کاهش عملکرد در اثر اعمال تنش شوری در گیاه آفتابگردان در بررسی‌های Hussain et al. (2008) و Ashraf et al. (2008) نیز مشاهده شده است.

توسعه یافته است. شناسایی QTLها به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب<sup>۱</sup> (CIM) در نرم‌افزار QGene انجام گرفت. سطح آستانه یا LOD برای شناسایی QTLهای معنی‌دار با آزمون جایگشت (n=1000) توسط نرم‌افزار تعیین شد (Churchill & Doerge, 1994). از موقعیت اوج (پیک) QTL برای برآورد درصد واریانس فنوتیپی توجیه‌شده توسط آن (R<sup>2</sup>) استفاده شد (Basten et al., 2002). در مکان‌یابی فاصله‌ای احتمال وجود QTL در نقاط مختلف بین ۲ نشانگر مجاور با روش‌های مختلف آماری مانند بیشینه درست‌نمایی بررسی می‌شود (Lander & Botstein, 1989). مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب بسط روش مکان‌یابی فاصله‌ای با انتخاب شماری از نشانگرها علاوه بر نشانگرهای احاطه‌کننده QTL مورد آزمون، به‌عنوان عامل کمکی (کوفاکتور) برای جداسازی تغییرپذیری ژنتیکی ناشی از دیگر QTLهای پیوسته و یا ناپیوسته با QTL موردنظر است (Zeng, 1994).

## نتایج و بحث

### بررسی فنوتیپی عملکرد و اجزای عملکرد

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد تأثیر شوری برای بیشتر صفات موردبررسی (عملکرد دانه، شمار برگ، قطر ساقه، ارتفاع گیاه، وزن خشک طبق، وزن خشک ساقه، وزن خشک کل گیاه و روز تا گلدهی) و تأثیر ژنوتیپ برای همه صفات موردبررسی معنی‌دار است. در این بررسی تأثیر متقابل شوری در ژنوتیپ برای هیچ‌کدام از صفات موردبررسی معنی‌دار نبود بنابراین برش‌دهی تأثیر متقابل صورت نگرفت (جدول ۱). مقادیر ضریب تغییرات بین ۵/۰۴ درصد تا ۵۶/۸۹ درصد متغیر بود. کمترین CV مربوط به صفت روز تا گلدهی و بیشترین میزان مربوط به صفت عملکرد دانه است (جدول ۱). Nooryazdan et al. (2010) بیشترین میزان ضریب تغییرات را برای صفات وزن دانه (عملکرد دانه)، طول دم برگ و قطر ساقه در آفتابگردان روغنی گزارش کردند. ضریب تغییرات دقت آزمایش را نشان می‌دهد. مقادیر کمتر از ۳۰ درصد گویای دقت بالای آزمایش است ولی اگر ضریب تغییرات بیش از ۳۰ درصد باشد نشان می‌دهد

جدول ۱. تجزیه واریانس برای عملکرد و اجزای عملکرد در رگه های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان در شرایط عادی و تنش شوری  
Table 1. Analysis of variance for yield and yield components in sunflower recombinant inbred lines under normal and salt stress conditions

Source of variation	degree of freedom (df)														
	GYP	100SW	LN	SD	PH	HD	LL	LW	LA	PL	SDW	CDW	TDW	DF	
Salt	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Genotype	101	101	103	103	103	103	102	102	102	102	101	103	101	101	
Genotype × Salt	95	99	103	103	103	103	102	102	102	102	101	103	100	100	
Error	288	284	400	400	405	389	1586	1591	1583	1594	381	321	279	361	
		Mean of Square (MS)													
		GYP	100SW	LN	SD	PH	HD	LL	LW	LA	PL	SDW	CDW	TDW	DF
Salt		289.95 <sup>**</sup>	11.73 <sup>ns</sup>	103.92 <sup>***</sup>	4.84 <sup>***</sup>	1206.71 <sup>***</sup>	8 <sup>ns</sup>	5.95 <sup>ns</sup>	5.85 <sup>ns</sup>	3049.6 <sup>ns</sup>	2.35 <sup>ns</sup>	789.41 <sup>***</sup>	202.7 <sup>***</sup>	1544.4 <sup>***</sup>	340.79 <sup>***</sup>
Genotype		175.01 <sup>***</sup>	27.05 <sup>***</sup>	30.97 <sup>***</sup>	0.89 <sup>***</sup>	548.33 <sup>***</sup>	22.33 <sup>***</sup>	22.11 <sup>***</sup>	24.12 <sup>***</sup>	8753.06 <sup>***</sup>	16.98 <sup>***</sup>	139.81 <sup>***</sup>	96.02 <sup>***</sup>	300.35 <sup>***</sup>	95.15 <sup>***</sup>
Genotype × Salt		27.33 <sup>ns</sup>	5.39 <sup>ns</sup>	3.57 <sup>ns</sup>	0.23 <sup>ns</sup>	123.23 <sup>ns</sup>	4.62 <sup>ns</sup>	7.57 <sup>ns</sup>	7.48 <sup>ns</sup>	2808.7 <sup>ns</sup>	5.48 <sup>ns</sup>	77.5 <sup>ns</sup>	26.94 <sup>ns</sup>	115.21 <sup>ns</sup>	16.68 <sup>ns</sup>
Error		35.62	4.34	5.06	0.25	10.77	3.77	8.15	9.01	323.73	4.96	70.17	29.18	98.81	14.87
Coefficient of variation		52.94	27.47	9.62	11.56	11.12	20.11	25.65	36.16	56.89	31.67	39.28	37.42	27.89	5.04

ns غیر معنی دار؛ \*، \*\* و \*\*\* به ترتیب معنی دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱.

GYP: عملکرد (g/100SW); وزن ۱۰۰ دانه (g)/LN: تعداد برگ /SD: قطر ساقه (cm)/PH: ارتفاع گیاه (cm)/HD: قطر طبق (cm)/LL: طول برگ (cm)/LW: عرض برگ (cm)/LA: سطح برگ (cm<sup>2</sup>)/PL: طول دمبرگ (cm)/SDW: وزن خشک ساقه (g)/CDW: وزن خشک طبق (g)/TDW: وزن خشک (کل) (g)/DF: روز تا گلدهی (day).

Ns: non significant. \*, \*\* and \*\*\* significant at 5, 1 and 0.1% probability levels, respectively.

GYP: Grain yield per plant (g), 100SW: One hundred seed weight (g), LN: Leaf number, SD: Shoot diameter (mm), PH: Plant height (cm), HD: Head diameter (cm), LL: Leaf length (cm), LW: Leaf width (cm), LA: Leaf area (cm<sup>2</sup>), PL: Petiole length (cm), SDW: Shoot dried weight (g), CDW: Capital dried weight (g), TDW: Total dried weight, DF: Days to flowering (day).

جدول ۲. مشخصه ها و سود ژنتیکی در رگه های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان در شرایط عادی و تنش شوری

Table 2. Parameters and genetic gain in sunflower recombinant inbred lines under normal and salt stress conditions

Conditions	Characters															
	GYP	100SW	LN	PH	SD	HD	LL	LW	LA	PL	DF	SDW	CDW	TDW		
Normal conditions	PAC2 (P <sub>1</sub> )	4.077	5.55	19	79	4.5	9	11.44	7.94	96.63	7.38	79	24.76	13.4	38.16	
	RHA266 (P <sub>2</sub> )	2.94	2.44	28.33	79.66	4	8.83	11.5	8.61	104.19	6.83	75	9.06	7.3	16.36	
	P <sub>1</sub> -P <sub>2</sub>	1.12	3.10	-9.33 <sup>*</sup>	-0.66	0.5	0.17	-0.06	-0.66	-7.55	0.55	4	15.7 <sup>*</sup>	6.1	21.8 <sup>*</sup>	
	(Parents differences)															
	$\bar{X}_P$	3.51	3.99	23.66	79.33	4.25	8.91	11.47	8.27	100.41	7.11	77	16.93	10.35	27.26	
	(Means of parents)															
	Max	30.41	16.06	31.66	122	5.75	15.62	14.41	11.33	163.5	10.25	88	41.77	15.69	59.82	
	Min	0.62	2.4	18.33	57	3.16	4.25	8.11	5.22	46.52	4.16	66	9.57	43.17	9.82	
	$\bar{X}_{RIL}$	12.33	7.68	23.08	92.5	4.46	9.71	11.21	8.37	101.37	6.98	76.77	23.3	4.42	37.75	
	(Means of lines)															
	$\bar{X}_{RIL} - \bar{X}_P$	8.82	3.69 <sup>*</sup>	23.76 <sup>*</sup>	92.49 <sup>*</sup>	4.45	0.80	-0.26	0.09	0.96	-0.12 <sup>*</sup>	-0.23	23.3 <sup>*</sup>	15.65 <sup>*</sup>	10.49	
	$\bar{X}_{10\%bestRIL}$	22.94	12.77	27.1	106.43	5.12	13.6	13.13	10.19	136.87	8.87	82.33	34.15	26.92	49.1	
	GG <sub>10%</sub>	19.42 <sup>*</sup>	8.78 <sup>*</sup>	3.34	27.1 <sup>*</sup>	0.87 <sup>*</sup>	4.68 <sup>*</sup>	1.66	1.91	36.46 <sup>*</sup>	1.76	5.33	17.23 <sup>*</sup>	16.56 <sup>*</sup>	21.84 <sup>*</sup>	
STDEV	7.11	2.75	2.42	11.91	0.46	2.41	1.32	1.32	26.34	1.12	4.01	6.81	6.69	10.18		
Salt stress conditions	PAC2 (P <sub>1</sub> )	2.1	5.26	18.66	73.66	4.33	6.87	11.33	7.72	91.41	7.61	78	14.99	7.28	22.27	
	RHA266 (P <sub>2</sub> )	2.82	3.42	26	78	3.75	9.37	10.56	8.43	91	6.87	73	11.75	8.33	16.94	
	P <sub>1</sub> -P <sub>2</sub>	-0.72	1.84	-7.34 <sup>*</sup>	-4.34	0.58	-2.5	0.77	-0.71	0.41	0.73	5	3.24	-1.05	5.33	
	(Parents differences)															
	$\bar{X}_P$	2.46	4.34	22.33	75.83	4.04	8.12	10.93	8.07	91.2	7.24	75.5	26.74	7.80	19.6	
	(Means of parents)															
	Max	28.73	15.83	29.33	115.5	5.33	16.83	14.08	12.16	177.3	10.83	84.66	33.8	29	55.07	
	Min	0.59	1.4	18	58	3.16	4.62	7.66	5.77	49.3	3.61	67.33	8.59	4.45	11.95	
	$\bar{X}_{RIL}$	10.67	7.48	22.98	89.21	4.28	9.48	10.93	8.25	98.87	7.07	75.55	20.59	14.18	34.16	
	(Means of lines)															
	$\bar{X}_{RIL} - \bar{X}_P$	8.21	5.91 <sup>*</sup>	0.65	13.38	0.24	8.80 <sup>*</sup>	11.08 <sup>*</sup>	0.18	7.67	-0.16	0.05	-6.14	6.28	14.55	
	$\bar{X}_{10\%bestRIL}$	21.91	11.78	26.21	98.16	4.87	12.8	12.44	10.86	135.34	8.76	80.31	28.37	23.33	44.89	
	GG <sub>10%</sub>	3.78	7.44 <sup>*</sup>	3.88 <sup>*</sup>	22.28 <sup>*</sup>	0.83 <sup>*</sup>	4.68 <sup>*</sup>	1.51	2.79	44.14 <sup>*</sup>	1.51	4.81	1.63	15.52 <sup>*</sup>	25.29 <sup>*</sup>	
STDEV	6.25	2.63	2.35	10.22	0.44	2.18	1.30	1.38	26.26	1.16	3.33	5.83	5.41	9.06		
LSD (0.05%)	9.55	3.33	3.59	16.06	0.8	3.10	4.56	4.8	28.79	3.56	6.17	13.4	8.64	15.9		

GYP: عملکرد (g/100SW); وزن ۱۰۰ دانه (g)/LN: تعداد برگ /PH: ارتفاع گیاه (cm)/SD: قطر ساقه (mm)/HD: قطر طبق (cm)/LL: طول برگ (cm)/LW: عرض برگ (cm)/LA: سطح برگ (cm<sup>2</sup>)/PL: طول دمبرگ (cm)/SDW: شمار روز تا گلدهی (day)/CDW: وزن خشک ساقه (g)/TDW: وزن خشک (کل) (g).

GYP: Grain yield per plant (g), 100SW: One hundred seed weight (g), LN: Leaf number, PH: Plant height (cm), SD: Shoot diameter (mm), HD: Head diameter (cm), LL: Leaf length (cm), LW: Leaf width (cm), LA: Leaf area (cm<sup>2</sup>), PL: Petiole length (cm), DF: Days to flowering (day), SDW: Shoot dried weight (g), CDW: Capital dried weight (g), TDW: Total dried weight.

صفات مورد بررسی بین ۶/۸ درصد تا ۳۹/۷ درصد و دامنه LOD بین ۱/۱۴ تا ۸/۳۵ متغیر بود (جدول ۳). بیشترین درصد تغییرپذیری فنوتیپی توجیه شده ( $R^2=39.7\%$ ) مربوط به صفت شمار روز تا گلدهی در شرایط تنش است که QTL مربوطه در گروه نه و در موقعیت ۴۲ سانتی مورگانی شناسایی شده و همردیف ژنی (آلل) مطلوب برای این QTL از راه والد مادری PAC2) منتقل شده است (جدول ۳). برای صفت شمار روز تا گلدهی در مجموع ۴ QTL در شرایط تنش و ۱ QTL در شرایط بدون تنش در گروه‌های پیوستگی ۵، ۹، ۱۳ و ۱۷ شناسایی شد (جدول ۳ و شکل ۱). برای عملکرد و وزن صدانه، ۴ QTL روی گروه‌های ۵، ۱۰ و ۱۴ با ضریب تبیین ۱۲/۴ درصد الی ۱۵/۸ درصد شناسایی شد (جدول ۳ و شکل ۱). از ۴ QTL شناسایی شده بیشترین میزان  $R^2$  متعلق به QTL شناسایی شده برای عملکرد دانه در شرایط تنش است که بین نشانگرهای ORS1043-HA3513 روی کروموزوم ۱۴ شناسایی شده است (جدول ۳). در پژوهشی که توسط Abdi *et al.* (2012) انجام گرفت، QTL مربوط به عملکرد دانه در شرایط اعمال تنش خشکی روی گروه ۱۴ و در فاصله ۲۸ سانتی مورگانی شناسایی شد. برای صفات وزن خشک ساقه، طبق و وزن خشک کل گیاه ۶ QTL در گروه‌های ۱۳، ۱۴ و ۱۶ شناسایی شد (جدول ۳ و شکل ۱). درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط QTLها بین ۱۰/۶ درصد الی ۱۶/۲ درصد متغیر بود. ۳ همردیف ژنی مطلوب برای این صفات از راه والد پدری RHA266 و ۳ همردیف ژنی دیگر از راه والد مادری PAC2 منتقل شده است (جدول ۳). برای صفات قطر طبق و ساقه در مجموع دو شرایط تنش ۴ QTL همگی در گروه پیوستگی شماره ۱۴ شناسایی شد (جدول ۳ و شکل ۱). همردیف‌های ژنی مطلوب برای QTLهای قطر طبق و ساقه به نسبت یکسان از هر دو والد منتقل شده‌اند. برای صفات طول، عرض و سطح برگ در مجموع ۶ QTL در گروه‌های پیوستگی ۵، ۱۰، ۱۳، ۱۴ و ۱۶ شناسایی شدند (جدول ۳ و شکل ۱) که بیشترین درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده (۱۵/۵ درصد) مربوط به QTL LL.S.13.1 بود و همردیف ژنی

تفاوت بین میانگین رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب و میانگین والدین برای بیشتر صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد جمعیت RIL استفاده شده برای این بررسی مجموعه کاملی از همه رگه‌های نوترکیب ممکن از تلاقی PAC2×RHA266 است. سود ژنتیکی که حاصل اختلاف میانگین ۱۰ درصد از بهترین رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب با میانگین والدین است در شرایط تنش شوری برای صفات شمار برگ، ارتفاع گیاه، قطر ساقه و طبق، سطح برگ، وزن خشک طبق و وزن خشک کل گیاه معنی‌دار بود (جدول ۲). وجود مقادیر کمتر و بیشتر در اندازه صفات مورد بررسی نسبت به والدین در شماری از رگه‌ها نشان‌دهنده پدیده جداسازی متجاوز برای صفات مورد بررسی است (Mohammadi *et al.*, 2008; Dashti *et al.*, 2010). به‌طور کلی جداسازی متجاوز برای صفات تنوع لازم در جمعیت مورد نظر برای تجزیه QTL را نشان می‌دهد. وقوع جداسازی متجاوز برای مقاومت به عامل کپک پودری در توتون شرقی (Darvishzadeh *et al.*, 2010)، مقاومت به عامل ساقه سیاه فوما در آفتابگردان (Bert *et al.*, 2004; Darvishzadeh *et al.*, 2007) و نیز مقاومت نسبی به قارچ اسکروتینا در همان گیاه گزارش شده است (Micici *et al.*, 2005; Davar *et al.*, 2010).

#### شناسایی مکان‌های ژنی کنترل‌کننده عملکرد و اجزای عملکرد

در مجموع ۳۱ QTL برای چهارده صفت مربوط به عملکرد و اجزای عملکرد شناسایی شد که از این شمار، ۱۷ QTL در شرایط تنش و ۱۴ QTL در شرایط عادی (بدون تنش شوری) دخیل هستند (جدول ۳). در این بررسی نام‌های QTLها با مخفف نام لاتین صفات + شرایط تنش (S: شرایط اعمال تنش شوری و NS: شرایط بدون تنش شوری) + گروه پیوستگی + شمار QTL در گروه پیوستگی (یک، دو، سه و ...) نام‌گذاری شدند (جدول ۳). QTLهای مربوط به صفات در سراسر ژنگان آفتابگردان به‌جز گروه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۱۱، ۱۲ و ۱۵ مکان‌یابی شدند. درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط QTLها برای

مطلوب برای آن از راه والد پدری RHA266 منتقل شده است. برای صفات شمار برگ، طول دم برگ و ارتفاع گیاه شمار ۶ QTL در گروه های پیوستگی ۸، ۹، ۱۳، ۱۶ و ۱۷ شناسایی شد (جدول ۳ و شکل ۱).

جدول ۳. QTL های کنترل کننده عملکرد و اجزای عملکرد در رگه های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان در شرایط عادی و تنش شوری

Table 3. QTLs controlling yield and yield component in sunflower recombinant inbred lines under normal and salt stress conditions

Conditions	Characters	QTL	Linkage group	Position of QTL	LOD	Marker interval	Additive effect	R <sup>2</sup>
Normal conditions	GYP	GYP.NS.10.1	10	114	1.95	ORS613- ORS112	-1.71	12.8
	100SW	100SW.NS.5.1	5	42	2.16	ORS1024-ORS649	1.03	13.6
	CDW	CDW.NS.14.1	14	18	1.85	SSU195-SSL33	0.22	10.6
	SDW	PDW.NS.16.1	16	110	2.91	HA2193- iub-6	-3.59	16.2
	HD	CD.NS.14.1	14	20	2.51	SSU195- ORS1043	-4.53	14.1
	TDW	TPDW.NS.13.1	13	50	1.91	ORS511- ORS316	-5.15	11.4
	SD	SD.NS.14.1	14	26	2.03	ORS1043-HA3513	-0.17	11.6
	DF	DF.NS.17.1	17	118	1.79	HA1402- ORS988	1.97	10.3
	LL	LL.NS.14.1	14	74	2.08	ORS1024-2	-1.89	12
	LW	LW.NS.10.1	10	78	2.2	ORS380- SSL49	-0.13	12.7
	LS	LA.NS.5.1	5	43	1.2	ORS1024-2	7.8	7.1
	LN	LN.NS.9.1	9	76	2.1	HA477- HA2053	-1.15	12
	PL	PL.NS.17.1	17	82	1.14	ORS727- ORS735	-0.14	6.8
	PH	SH.NS.13.1	13	88	1.53	ORS191- SSL412	0.08	8.9
Salt stress conditions	GYP	GYP.S.14.1	14	28	2.57	ORS1043-HA3513	0.08	15.8
	100SW	100SW.S.5.1	5	36	1.98	SSL231-ORS1159	1.06	12.4
	CDW	CDW.S.16.1	16	46	2.19	ORS128	1.73	12.4
	SDW	PDW.S.16.1	16	0	2.23	SSL20-2	-0.16	12.7
	HD	CD.S.14.1	14	20	2.48	SSU195- ORS1043	0.33	14
	TDW	TPDW.S.14.1	14	134	1.18	HA2077- ORS782	2.10	12.3
	SD	SD.S.14.1	14	20	2.59	SSU195- ORS1043	0.05	14.5
	DF	DF.S.5.1	5	26	4.34	ORS31-2	-1.24	23.1
		DF.S.9.2	9	42	8.35	SSL29	-0.26	39.7
		DF.S.13.3	13	70	4.04	ORS316- SSU39	0.07	21.8
		DF.S.17.4	17	96	3.56	ORS127- ORS735	0.11	19.4
	LL	LL.S.13.1	13	12	2.74	ORS625- HA2598	1.11	15.5
	LW	LW.S.16.1	16	78	2.3	HUCL00667-1-HA3683	-0.72	13.2
	LA	LA.S.13.1	13	10	1.91	ORS625- HA2598	20.65	11.1
	LN	LN.S.16.1	16	120	2.13	HA2193- iub-6	1.03	12.2
	PL	PL.S.8.1	8	48	2.2	ORS243- SSL30	-0.41	12.7
	PH	SH.S.17.1	17	22	2.19	ORS297-ORS1040	4.72	12.4

GYP: عملکرد (g) 100SW: وزن ۱۰۰ دانه (g) / CDW: وزن خشک طبق (g) / SDW: وزن خشک ساقه (g) / HD: قطر طبق (cm) / TDW: وزن خشک (کل) (g) / SD: قطر ساقه (mm) / DF: شمار روز تا گلدهی (day) / LL: طول برگ (cm) / LW: عرض برگ (cm) / LA: سطح برگ (cm<sup>2</sup>) / LN: تعداد برگ / PL: طول دم برگ (cm) / PH: ارتفاع گیاه (cm).

R<sup>2</sup>: درصد واریانس فنوتیپی بیان شده به وسیله QTL ها. 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. M: سانتی مورگان، محاسبه شده از طریق فرمول کوسامبی که فاصله از بالای گروه پیوستگی را نشان می دهد.

GYP: Grain yield per plant (g), 100SW: One hundred seed weight (g), CDW: Capital dried weight (g), SDW: Shoot dried weight (g), HD: Head diameter (cm), TDW: Total dried weight, SD: Shoot diameter (mm), DF: Days to flowering (day), LL: Leaf length (cm), LW: Leaf width (cm), LA: Leaf area (cm<sup>2</sup>), LN: Leaf number, PL: Petiole length (cm), PH: Plant height (cm).

R<sup>2</sup>: percentage of phenotypic variance explained by the individual QTL. Negative sign in additive effect indicates that the positive allele comes from the maternal line (PAC2); a positive sign indicates that the resistant allele is from the paternal line (RHA266). Position: expressed in Kosambi centiMorgans (cM), from the top of linkage group (LG). LOD: log10 likelihood ratio (likelihood that the effect occurs by linkage/likelihood that the effect occurs by chance). QTL: quantitative trait loci.

تنش نشان دهنده تفاوت مسیرهای بیان ژن در شرایط مختلف است. در این بررسی QTL هایی هم مکان روی گروه های پیوستگی ۵، ۱۳، ۱۴ و ۱۶ شناسایی شد. در گروه ۵، QTL های HSW.NS.5.1 و LA.NS.5.1 با

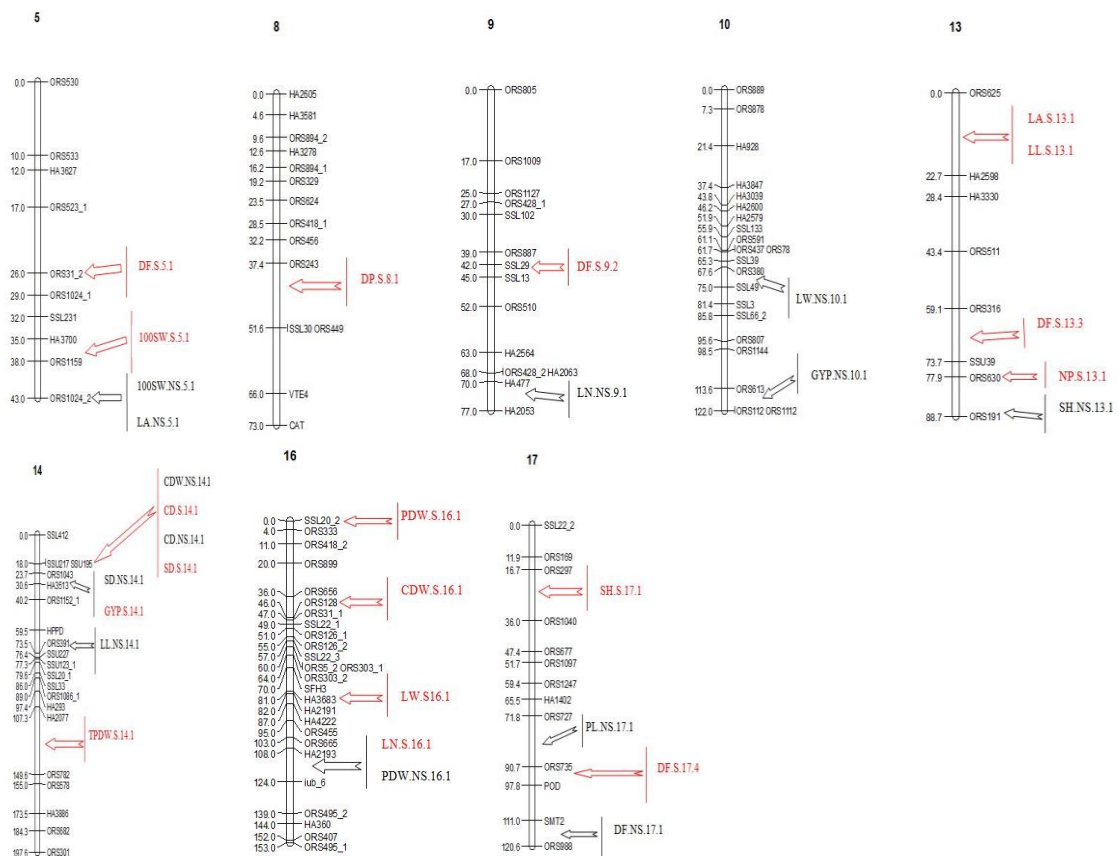
درصد تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط QTL های شناسایی شده بین ۸/۶ درصد تا ۱۲/۷ درصد متغیر بود (جدول ۳). در این پژوهش، تفاوت در شمار و نوع QTL های شناسایی شده در دو شرایط متفاوت

نشانه‌گرهای ORS1043-HA3513 پیوسته بودند. در گروه ۱۶ نیز ۱۶ QTL در فاصله ۱۱۰ تا ۱۲۰ سانتی‌مورگانی هم‌مکان بودند (جدول ۴ و شکل ۱). بررسی نتایج نشان می‌دهد QTL‌های شناسایی‌شده برای صفات ارتفاع گیاه و قطر طبق در شرایط عادی و نیز قطر ساقه، عملکرد دانه و سطح برگ در شرایط تنش شوری در این بررسی، با QTL‌های شناسایی‌شده در بررسی Abdi *et al.* (2012) در شرایط عادی و تنش خشکی روی گروه‌های پیوستگی یکسان قرار دارند.

یکدیگر هم‌مکان بودند. ۲ QTL نام‌برده در فاصله ۳۵ تا ۴۳ سانتی‌مورگانی گروه پیوستگی قرار داشتند (جدول ۴ و شکل ۱). QTL‌های مربوط به سطح و طول برگ، در شرایط تنش با همدیگر روی گروه ۱۳ هم‌مکان بودند. بیشترین شمار QTL‌های هم‌مکان روی گروه پیوستگی ۱۴ قرار داشت. در فاصله ۱۸ تا ۲۰ سانتی‌مورگان QTL‌های CDW.NS.14.1، CD.S.14.1، CD.NS.14.1 و SD.S.14.1 و در فاصله ۲۶ تا ۲۸ سانتی‌مورگانی QTL‌های SD.NS.14.1 با GYP.S.14.1 هم‌مکان بودند. QTL‌های نام‌برده با

جدول ۴. QTL‌های هم‌مکان برای صفات موردبررسی در رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان در شرایط عادی و تنش شوری  
Table 4. Co-localized QTLs for studied traits in sunflower recombinant inbred lines under normal and salt stress conditions

Linkage group	Co-localized QTLs	Position of QTL
5	HSW.NS.5.1- LA.NS.5.1	35- 43
13	LA.S.13.1- LL.S.13.1	0- 23
14	CDW.NS.14.1- CD.S.14.1- CD.NS.14.1-SD.S.14.1	18- 20
	SD.NS.14.1- GYP.S.14.1	26- 28
16	LN.S.16.1- PDW.NS.16.1	110- 120



شکل ۱. گروه‌های پیوستگی و جایگاه‌های ژنی کنترل‌کننده صفات در رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان در شرایط عادی و تنش شوری

Figure 1. Sunflower genome linkage groups and position of QTLs controlling characteristics in sunflower recombinant inbred lines (RILs) under normal and salt stress conditions.



برنامه‌های اصلاحی افزایش یابد. همچنین با توالی‌یابی QTL های دارای  $R^2$  بالا می‌توان به یافتن ژن‌های کدکننده این صفات امیدوار بود.

### سپاسگزاری

از دانشکده کشاورزی و پژوهشکده زیست‌فناوری دانشگاه ارومیه که امکانات لازم برای انجام این تحقیق را فراهم کردند، و همچنین از مؤسسه تحقیقات آگرونومی تولوز فرانسه برای در اختیار قراردادن بذرهای جمعیت رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب، تشکر و قدردانی می‌گردد.

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد که در جمعیت رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب مورد بررسی تنوع ژنتیکی برای تحمل به تنش شوری وجود دارد که از این تنوع می‌توان برای هدف‌های به‌نژادی استفاده کرد. چندین QTL برای صفات مرتبط با تحمل به تنش شناسایی شد. لازم است نشانگرهای شناسایی شده در چنین بررسی‌هایی در جمعیت‌های بزرگ نیز بررسی شوند تا از ارتباط آن‌ها با صفات مورد بررسی اطمینان حاصل شود و بدین ترتیب کارایی کاربرد این نشانگرها در

### REFERENCES

1. Abdi, N., Darvishzadeh, R., Jafari, M., Pirzad, A. & Haddadi, P. (2012). Genetic analysis & QTL mapping of agro-morphological traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under two contrasting water treatment conditions. *Plant OMICS Journal*, 5, 149-158.
2. Abdi, N., Darvishzadeh, R., Hatami Maleki, H., Haddadi, P. & Sarrafi, A. (2013). Identification of quantitative trait loci for relative water content & chlorophyll concentration traits in recombinant inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered & water-stressed conditions. *Zemdirbyste-Agriculture*, 100, 159-166.
3. Ahmed, I., Ali, A., Mahmood, I. A., Salim, M., Hussain, N. & Jamil, M. (2005). Growth & ionic relations of various sunflower cultivars under saline environment. *Helia*, 28, 147-158.
4. Akram, M., Ashraf, M. Y., Ahmad, R., Waraich, E. A., Iqbal, J. & Mohsan, M. (2010). Screening for salt tolerance in maize (*Zea mays* L.) hybrids at an early seedling stage. *Pakistan Journal of Botany*, 42, 141-154.
5. Amouzadeh, M., Darvishzadeh, R., Davar, R., Abdollahi Mandoulakani, B., Haddadi, P. & Basirnia, A. (2015). Quantitative trait loci associated with isolate specific & isolate non-specific partial resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in sunflower. *Journal of Agricultural Science & Technology*, 17, 213-226.
6. Amouzadeh, M., Darvishzadeh, R., Haddadi, P., Abdollahi Mandoulakani, B. & Rezaee Danesh, Y. (2013). Genetic analysis of partial resistance to basal stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) in sunflower. *Genetika*, 45, 737-748.
7. Anwar ul Haq, M., Akram, S., Akhtar, J., Saqib, M., Saqib, Z.A. & Jan, M. (2013). Morphophysiological characterization of sunflower genotypes (*Helianthus annuus* L.) under salin condition. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 50, 49-54.
8. Ashraf, M., Athar, H. R., Harris, P.J.C. & Kwon, T.R. (2008). Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. *Advances in Agronomy*, 97, 45-110.
9. Ashraf, M. & Akram, N.A. (2009). Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: an analytical comparison. *Biotechnol Adv.*, 27, 744-752.
10. Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2013). Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection. *Plant Breeding*, 132, 10-20.
11. Asia Khaton, M., Qureshi, S. & Hssain, M.K. (2000). Effect of salinity on some yield parameters of sunflower. *Inter. International Journal of Agriculture and Biology*, 4, 382-384.
12. Azzedine, F., Gherroucha, H. & Baka, M. (2011). Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7, 27-37.
13. Bahmani, K., Sadat Noori, S. A., Izadi Darb&A, A. & Akari, A. (2015). Molecular mechanisms of plant salinity tolerance: a review. *Australian Journal of Crop Science*, 9, 321-336.
14. Basten, C. J., Weir, B. S. & Zeng, Z. B. (2002). *QTL Cartographer, version 1.16: Program in Statistical Genetics*. Raleigh, NC, USA: North Carolina State University.
15. Bert, P. F., Jouan, I., Dechamp-Guillaume, G., Serre, F., Philippon, J., Nicolas, P. & Vear, F. (2004). Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) Characterisation of QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* & *Phoma macdonaldi*. *Theoretical & Applied Genetics*, 109, 865-874.

16. Bunyamin, Y., Yaser, F., Oz Pay, T., Turkozu, D., Terzioglu, O. & Tamkoc, A. (2008). Variations in response to salt stress among field pea genotypes (*Pisum sativum* sp. arvense L.). *Journal of Animal & Veterinary Advances*, 7, 907-910.
17. Churchill, G.A. & Doerge, R.W. (1994). Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 138, 963-971.
18. Darvishzadeh, R., Alavi, R. & Sarrafi, A. (2010). Resistance to powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum* DC.) in oriental & semi-oriental tobacco germplasm under field condition. *Journal of Crop Improvements*, 24, 122-130.
19. Darvishzadeh, R., Pirzad, A., Hatami-Maleki, H., Poormohammad-Kiani, S. & Sarrafi, A. (2010). Evaluation of the reaction of sunflower inbred lines and their F1 hybrids to drought conditions using various stress tolerance indices. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8, 1037-1046.
20. Darvishzadeh, R., Poormohammad Kiani, S., Dechamp-Guillaume, G., Gentzbittel, L. & Sarrafi, A. (2007). Quantitative trait loci associated with isolate specific & isolate nonspecific partial resistance to *Phoma macdonaldii* in sunflower. *Plant Pathology*, 56, 855-861.
21. Dashti, H., Naghavi, M. R. & Tajabadipour, A. (2010). Genetic analysis of salinity tolerance in a bread wheat cross. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 347-356.
22. Davar, R., Darvishzadeh, R., Majd, A., Gousta, Y. & Sarrafi, A. (2010). QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. *Phytopathologia Mediterranea*, 49, 330-341.
23. Dehshiri, A., Modares Sanavi, M., Rezai, H. & Shirani Rad, A. (2012). Effect of elevated concentration of atmospheric carbon dioxide on some traits of three rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under saline conditions. *Seed & Plant Production Journal*, 28, 35-52. (in Farsi)
24. Di Caterina, R., Giuliani, M. M., Rotunno, T., De Caro, A. & Flagella, Z. (2007). Influence of salt stress on seed yield & oil quality of two sunflower hybrids. *Annals of Applied Biology*, 151, 145-154.
25. Dkhil, B. B. & Denden, M. (2010). Salt stress induced changes in germination, sugars, starch & enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) seeds. *African Journal of Agricultural Research*, 5, 1412-1418.
26. Ebrahimi, R. & Bhatla, S.C. (2012). Ion distribution measured by electron probe X-ray microanalysis in apoplastic & symplastic pathways in root cells in sunflower plants grown in saline medium. *Journal of Biosciences*, 37, 713-721.
27. Epstein, E., Norlyn, J.D., Rush, D.W., Kingsbury, R.W., Kelley, D.B., Cunningham, G.A. & Wron, A.F. (1980). Saline culture of crops: a genetic approach. *Science*, 210, 399-404.
28. Gentzbittel, L., Vear, F., Zhang, Y.X., Berville, A. & Nicolas, P. (1995). Development of a consensus linkage RFLP map of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 90, 1079-1086.
29. 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 phytosterol in recombinant inbred lines of sunflower through QTL analysis and the candidate gene approach. *Molecular Breeding*, 29, 717-729.
30. Hatami Maleki, H., Darvishzadeh, R. & Sarrafi, A. (2014). Genetic linkage map & QTL analysis of partial resistance to black stem in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Australasian Plant Pathology*, 43, 205-213.
31. Hussain, S. A., Akhtar, J., Haq, M. A., Riaz, M. A. & Saqib, Z. A. (2008). Ionic concentration & growth response of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes under saline & or sodic water application. *Soil Environ*, 27, 177-184.
32. Jayaraman, K. (1999). *A statistical manual for forestry research, food and agricultural organization of the United Nations regional office for Asia and the Pacific Bangkok*, 234pp.
33. Kaps, M. & Lamberson, W. R. (2009). *Biostatistics for Animal Science: an introductory text*. 2<sup>nd</sup> Edition. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK, 504p.
34. Lander, E. S. & Botstein, D. (1989). Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121, 185-199.
35. 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: Implications for the origin of *Helianthus paradoxus*, a diploid hybrid species. *Molecular Ecology*, 12, 1225-1235.
36. Liu, J. & Shi, D.C. (2010). Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion & organic acid accumulations of sunflower in responses to salt & salt-alkaline mixed stress. *Photosynthetica*, 48, 127-134.
37. Mass, E. V. & Hoffman, G. J. (1977). Crop salt tolerance: current assessment. *Journal of Irrigation & Drainage Division, Association for the Study of the Cuban Economy (ASCE)*, 103, 115-134.

38. Matsui, A., Ishida, J., Morosawa, T., Mochizuki, Y., Kaminuma, E., Endo, T. A., Okamoto, M., Nambara, E., Nakajima, M., Kawashima, M., Satou, M., Kim, J. M., Kobayashi, N., Toyoda, T., Shinozaki, K. & Seki, M. (2008). Arabidopsis transcriptome analysis under drought, cold, high-salinity & ABA treatment conditions using a tiling array. *Plant Cell Physiology*, 49, 1135-49.
39. Memon, S. A., Hou, X. & Wang, L. J. (2010). Morphological analysis of salt stress response of pak Choi. *Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 9, 248-254.
40. Micic, Z., Hahn, V., Bauer, E., Schon, C. C. & Melchinger, A. E. (2005). QTL mapping of resistance to Sclerotinia mid-stalk rot in RIL of sunflower population NDBLOSSel×CM625. *Theoretical & Applied Genetics*, 110, 1490-1498.
41. Mohammadi, M., Talei, A., Zinali, H., Nagavi, M. R. & Bayvm, M. (2008). Mapping QTLs controlling drought tolerance in a barley doubled haploid population. *Seed & Plant Journal*, 24, 1-15.
42. Morsali Aghajari, F., Darvishzadeh, R., Hatami Maleki, H., Barin, M. & Hatamnia A. (2014). Investigation on the reaction of sunflower recombinant inbred lines to NaCl stress at seedling stage. *Applied Research in Soil*, 2, 77-91 (In Farsi).
43. Nooryazdan, H., Serieys, H., Bacilieri, R., David, J. & Berville, A. (2010). Structure of wild annual sunflower (*Helianthus annuus* L.) accessions based on agro-morphological traits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57, 27- 39.
44. Okhovatian Ardakani, A. R., Mehrabian, M., Dehghani, F. & Akbarzadeh, A. (2010). Salt tolerance evaluation & relative comparison in cuttings of different pomegranate cultivars. *Plant Soil Environ*, 56, 176-185.
45. Poormohammad Kiani, S., Maury, P., Nouri, L., Ykhlef, N., Grieu, P. & Sarrafi, A. (2009). QTL analysis of yield-related traits in sunflower under different water treatments. *Plant Breeding*, 128, 363- 373.
46. Poormohammad Kiani, S., Talia, P., Maury, P., Grieu, P., Heinz, R., Perrault, A., Nishinakamasu, V., Hopp, E., Gentzbittel, L., Panieg, N. & Sarrafi, A. (2007a). Genetic analysis of plant water status and osmotic adjustment in recombinant inbred lines of sunflower under two water treatments. *Plant Science*, 172, 773-787.
47. Poormohammad Kiani, S., Grieu, P., Maury, P., Hewezi, T., Gentzbittel, L. & Sarrafi, A. (2007b). Genetic variability for physiological traits under drought conditions and differential expression of water stress-associated genes in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 114, 193- 207.
48. Pourmeidan, A., Naein, M.R., Bagheri, H. & Karimi, G.H. (2011). Investigation on salinity tolerance of three rangeland grasses in greenhouse condition. *Iranian Journal of Range and Desert Reseach*, 18, 58-70.
49. Rai, M. K., Kalia, R. K., Singh, R., Gangola, M. P. & Dhawan, A. K. (2011). Developing stress tolerant plants through in vitro selection-An overview of the recent progress. *Environmental & Experimental Botany*, 71, 89-98.
50. Rani, C.R., Reema, C., Alka, S. & Singh, P.K. (2012). Salt Tolerance of Sorghum bicolor Cultivars during Germination & Seedling Growth. *Research Journal of Recent Sciences*, 1, 1-10.
51. Rui, L., Wei, S., Mu-xiang, C., Cheng-Jun, J., Min, W. & Bo-ping, Y. (2009). Leaf anatomical changes of Burguieragymnorhiza seedlings under salt stress. *Journal of Tropical & Subtropical Botany*, 17, 169-175.
52. Shahbaz, M. & Ashraf, M. (2013). Improving salinity tolerance in cereals. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32, 237-249.
53. Shahbaz, M., Ashraf, M., Akram, N., Hanif, A., Hameed, S., Joham, S. & Rehman, R. (2011). Salt-induced modulation in growth, photosynthetic capacity, proline content & ion accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 1113-1122.
54. Shannon, M. C. (1997). Adaptation of plants to salinity. In: Sparks, D. (ed.). *Advances in Agronomy*. Academic Press, 75-120 pp.
55. Vollmann, J. & Rajcan, I. (2010). *Oil Crop Breeding & Genetics*. In: Vollmann J, Rajcan I (ed) Oil Crops, Springer, New York, pp 1-30.
56. Xue, D.W., Zhou, M.X., Zhang, X.Q., Chen, S., Wei, K., Zeng, F.R., Mao, Y., Wu, F.B. & Zhang, G.P. (2010). Identification of QTLs for yield & yield components of barley under different growth conditions. *Journal of Zhejiang University*, 11, 169-176.
57. Xu, W., Subudhi, P. K., Crasta, O. R., Rosenow, D. T., Mullet, J. E. & Nguyen, H. T. (2000). Molecular mapping of QTLs conferring stay-green in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Genome*, 43, 461-469.
58. Yilmaz, H. & Kina, A. (2008). The influence of NaCl salinity on some vegetative & chemical changes of strawberries (*Fragaria x ananssa* L.). *African Journal of Biotechnology*, 7, 3299-3305.

59. Zareh, M., Daneshiyan, J. & Zeynali Khaneghah, H. (2004). Genotypic variation in soybean cultivars for drought tolerance. *Journal of Agricultural Science*, 35, 859-86.
60. Zarei, L., Farshadfar, E., Haghparast, R., Rajabi, R. & Mohammadi Sarab Badieh, M. (2007). Evaluation of some indirect traits and indices to identify drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Asian Journal of Plant Sciences*, 6, 1204-1210.
61. Zeng, Z. B. (1994). Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics*, 136, 1457-1468.

## Identification of QTLs controlling yield and yield components in sunflower under salinity stress conditions

Fariba Morsali Aghajari<sup>1</sup>, Reza Darvishzadeh<sup>2\*</sup>, Hamid Hatami Maleki<sup>3</sup>, Mohsen Barin<sup>4</sup> and Naser Abbaspour<sup>5</sup>

1. Former M.Sc. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran and Professor, Institute of Biotechnology, Urmia University, Urmia, Iran
3. Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran
4. Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
5. Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

(Received: Jul. 27, 2015 - Accepted: Sep. 23, 2015)

### ABSTRACT

Salinity stress is one of the most important abiotic stresses which threaten plants. In order to study the effect of salinity stress on yield and yield components of sunflower and also genetic analysis of these traits in relation with salt tolerance, a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications was conducted. Pots were arranged outside the greenhouse in an open air area under natural environmental conditions. The studied factors were 2 salinity stress levels (normal and 6 dS/m) and sunflower recombinant inbred lines (102 lines derived from the cross PAC2 ×RHA266 together with parental lines). Results showed the significant effect of salinity stress on all of studied traits except petiole length, leaf width, leaf length, head diameter and seed weight, meanwhile, the effect of genotype was significant on all of the studied traits. Genetic analysis of measured traits was done using a linkage map with 221 molecular markers (210SSR/11SNP) with an average distance of 7.44 cM between markers via composite interval mapping (CIM). 14 and 17 QTLs were detected for studied traits under normal and salt stress conditions, respectively. The maximum amount of  $R^2$  (39.7%) was detected for QTL identified for days to flowering in salinity stress conditions. The results showed the existence of co-localized QTLs for some of the studied traits under normal and salt stress conditions. Using co-localized QTLs improve the efficiency of marker-assisted selection in plant breeding programs.

**Keywords:** Genetic analysis, gene mapping, salinity stress, sunflower.