

"Research Paper"

QTL Mapping for Some Morphological Traits under Salt Stress Condition in Recombinant Inbred Lines of Bread Wheat

Elena Khabiri¹, Ali Asghari², Seyed Abulghasem Mohammadi³, Ali Rasolzadeh⁴ and Mojtaba Nouraein⁵

1. Ph.D. Student of Molecular Plant Breeding, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohagheh Ardabili
2. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran, (Corresponding author: ali_asgharii@yahoo.com)
3. Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
4. Associate Professor, Department of Water Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran
5. Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Received: 18 September, 2021 Accepted: 24 December, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Salinity stress is one of the most important abiotic stresses that have harmful effects on plant performance and quality. So that according to the predictions made until 2050, 50% of agricultural lands will lose their ability to be cultivated due to salinity. Due to the complexity of salinity resistance traits, there is little information about the number of genes, their chromosomal location, and the relative contribution of each gene in the incidence and phenotypic distribution. Locating quantitative genes can break down this complex genetic model into individual genetic components, in which case quantitative traits will also be investigated like monogenic traits.

Material and Methods: In order to identify QTLs controlling some root and shoot traits under salinity stress in bread wheat, 148 recombinant inbred lines of spring bread wheat obtained from the cross of Yecora Rojo cultivar (early and dwarf as a parent of American origin) and genotype No.49 (late and tall as a parent originating from Sistan and Baluchestan) were studied with the parents. This research was carried out in 2020 in the research greenhouse of Mohagheh Ardabili University under salinity and non-stress conditions in pitmas and perlite culture medium and factorial based on a completely randomized design with five replications. Traits measured in this experiment included root length, root fresh weight, root dry weight, fresh and dry weight of shoots. In this study, linkage map was used based on 202 markers (177 SSR markers and 51 Retro transposon Markers). The map length was about 691.36 cM with the average distance of 3.42 cM in every marker pair, and 21 chromosomes covered in bread wheat. QTL analysis was done based on composite interval mapping (CIM) method, and additive effects were estimated for the identified QTLs.

Results: The results of QTL analysis showed that in stress-free conditions, one QTL for root dry weight and shoot dry weight, two QTL shoot fresh weight and three QTL for root wet weight and root length were identified. Under salinity stress conditions, one QTL was identified for root dry weight and root length, two QTLs for shoot dry weight and three QTLs for shoot fresh weight. Among the QTLs identified, QRFW6A.n had the highest additive effect under normal conditions and QSFW2A.s under salinity stress conditions. For shoot dry weight and root fresh weight under normal conditions and shoot fresh weight under salinity stress, the positive additive effect of the located QTL-s showed the inheritance of the desired allele at this site from Yecora Rojo's parent. The phenotypic variance justified by these QTLs varied from 5.43 to 8.97 under normal conditions and from 5.51 to 7.43 percent under salinity stress.

Conclusion: In this study, the number of QTLs identified for root and shoot-related characteristics was low, which could be due to the high number of low-impact QTLs, interactions, and environmental effects.

Key Words: Additive effects, Bread wheat, Mapping, Marker Morphological traits

**"مقاله پژوهشی"****مکان‌یابی نواحی ژنومی کنترل‌کننده برخی صفات مورفولوژیکی در شرایط تنش شوری در لاین‌های اینبرد نوترکیب گندم نان**النا خبیری^۱، علی اصغری^۲، سید ابوالقاسم محمدی^۳، علی رسول‌زاده^۴ و مجتبی نور آئین^۵^۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات مولکولی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی
^۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی (نویسنده مسوول: ali.asghari@yahoo.com)^۳- استاد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز^۴- دانشیار گروه مهندسی آب، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی^۵- استادیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۳

صفحه: ۱۰۴ تا ۱۱۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: تنش شوری از جمله مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی بوده که اثرات زیانباری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول آن دارد. به‌طوری که طبق پیش‌بینی‌های صورت گرفته تا سال ۲۰۵۰، ۵۰ درصد زمین‌های کشاورزی بر اثر شوری قابلیت کشت خود را از دست خواهند داد. به‌دلیل پیچیدگی صفات مقاومت به شوری، اطلاعات اندکی از تعداد ژن‌ها، جایگاه کروموزومی آن‌ها و سهم نسبی هر یک از ژن‌ها در بروز و توزیع فنوتیپی وجود دارد. مکان‌یابی ژن‌های کمی می‌تواند این مدل پیچیده ژنتیکی را به اجزای ژنتیکی منفرد تجزیه، که در این صورت صفات کمی نیز همانند صفات تک ژنی بررسی خواهند شد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور شناسایی QTL‌های کنترل‌کننده برخی صفات ریشه و اندام‌هوایی در شرایط تنش شوری در گندم نان، ۱۴۸ لاین اینبرد نوترکیب گندم نان بهاره حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo (زودرس و پاکوتاه به‌عنوان والد پدری با منشاء آمریکا) و ژنوتیپ No.49 (دیررس و پابلند به‌عنوان والد مادری با منشاء سیستان و بلوچستان) به‌همراه والدین مورد مطالعه قرار گرفتند. این پژوهش در سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی تحت شرایط تنش شوری (شوری ۸ دسی زیمنس در متر مربع) و بدون تنش در محیط کشت پیت‌ماس و پرلیت و به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار به اجرا درآمد. صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی بود. برای تجزیه QTL از نقشه پیوستگی حاوی ۲۰۲ نشانگر (۱۷۷ نشانگر ریزماهواره و ۵۱ نشانگر رتروترانسپوزون) استفاده شد که طول نقشه حدود ۶۹۱/۳۶ سانتی‌مورگان با میانگین فاصله ۳/۴۲ بین هر جفت نشانگر بود و ۲۱ کروموزوم گندم نان را پوشش می‌داد. تجزیه QTL به روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب (CIM) صورت گرفت و اثرات افزایشی QTL‌های شناسایی شده، برآورد گردید.

یافته‌ها: نتایج تجزیه QTL نشان داد که در شرایط بدون تنش برای وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی یک QTL، وزن تر اندام هوایی دو QTL و برای وزن تر ریشه و طول ریشه هر کدام سه QTL شناسایی شد. در شرایط تنش شوری برای وزن خشک ریشه و طول ریشه هر کدام یک QTL، برای وزن خشک اندام هوایی دو QTL و برای وزن تر اندام هوایی سه QTL شناسایی شد. در بین QTL‌های شناسایی شده QRFW6A.n در شرایط نرمال و QSFW2A.s در شرایط تنش شوری بیشترین اثر افزایشی را داشتند. برای وزن خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه در شرایط نرمال و صفت وزن تر اندام هوایی در شرایط تنش شوری اثر افزایشی مثبت QTL‌های مکان‌یابی شده نشان‌دهنده توارث الی مطلوب در این جایگاه از والد Yecora Rojo به نتاج بود. واریانس فنوتیپی توجیه‌شده توسط این QTL‌ها در شرایط نرمال از ۵/۴۳ تا ۸/۹۷ و در شرایط تنش شوری از ۵/۵۱ تا ۷/۴۳ درصد متغیر بود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه تعداد QTL‌های شناسایی شده برای خصوصیات مرتبط با ریشه و اندام هوایی کم بود که می‌تواند به‌دلیل تعداد بالای QTL‌های با اثر کم، وجود اثرات متقابل و همچنین اثرات محیطی باشد.

واژه‌های کلیدی: اثرات افزایشی، صفات نشانگر مورفولوژیکی، گندم نان، مکان‌یابی**مقدمه**

مسئول اسید نوکلئیک و متابولیسم پروتئین را به همراه دارد و در نهایت باعث عدم تعادل هورمونی و زوال ذخایر غذایی بذر می‌شود (۲۳). افضل و همکاران (۱) گزارش کردند که بذور گندم در شرایط تنش شوری (۱۲۵ میلی‌مولار سدیم کلسیم)، نیاز به زمان بیشتری برای جوانه‌زنی نسبت به شرایط بدون تنش دارند. اکبری مقدم و همکاران (۲) تأخیر و کاهش جوانه‌زنی بذور گندم در شوری ۱۲/۵ دسی زیمنس بر متر گزارش کردند. فولر و همکاران (۱۷) وجود ارتباط مستقیم بین کاهش درصد جوانه‌زنی بذور گندم و افزایش سطح شوری (بالای ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl) را نشان دادند. تنش شوری به‌طور چشمگیری بر روی رشد گیاهچه‌های گندم تأثیر می‌گذارد (۲۴). نقشه‌یابی مکان‌های کنترل‌کننده صفات کمی ابزار اصلی برای مطالعه توارث صفات پیچیده در گیاهان می‌باشد (۲۷). اغلب صفات زراعی مهم همانند عملکرد،

شوری یکی از مخرب‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که اثرات منفی زیادی بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گندم از جمله جوانه‌زنی، رشد، جذب آب، فتوسنتز، جذب مواد مغذی، فعالیت‌های آنزیمی و عملکرد دارد. افزایش شدت تنش شوری باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی، فتوسنتز، تعرق و تجمع بیشتر یون‌های سدیم و کلر می‌شود که این به نوبه خود روند سوخت و ساز طبیعی گندم را مختل می‌کند (۲۴). مطالعات مختلف نشان داده است که بذور گندم در هنگام مواجهه با تنش شوری مدت زمان بیشتری را برای جوانه‌زنی صرف می‌کنند. علت اصلی این امر این است که غلظت‌های بالای نمک باعث ایجاد پتانسیل اسمزی پائین در محیط جوانه‌زنی می‌شود و در نتیجه از جذب آب توسط بذر جلوگیری می‌کند، عدم تعادل در فعالیت‌های طبیعی آنزیم‌های

روش نقشه‌یابی فاصله‌ای مرکب تحت شرایط نرمال و تنش شوری شناسایی شد. این QTLها روی ۱۲ کروموزوم توزیع شده بودند و ۷/۹ تا ۱۹ درصد از تغییرات فنوتیپی صفات را توجیه می‌کردند. در میان آن‌ها، ۱۱ و ۶ QTL به ترتیب در شرایط نرمال و تنش شوری شناسایی شد. کروموزوم‌های 1A، 3A و 7A ممکن است ژن‌های کاندیدای مهم مرتبط با تحمل به تنش شوری در گندم را حمل کنند. ادوارد و همکاران (۱۴)، برای شناسایی QTLهای مرتبط با تجمع سدیم در گندم نان از دو جمعیت دابل هاپلوئید حاصل از تلاقی بین Halbred/Cranbrook و Excalibur/Kukri استفاده کردند. تجمع سدیم در اندام هوایی در دو محیط کشت هیدروپونیک و مزرعه اندازه‌گیری شد و یک QTL روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره 7A در هر دو آزمایش (شرایط هیدروپونیک و مزرعه) و در هر دو جمعیت مکان‌یابی شد. این QTL ۳ تا ۴۱ درصد از کل تغییرات فنوتیپی این صفت را در دو جمعیت تبیین می‌کرد. جنک و همکاران (۱۹)، تعداد ۴۰ QTL برای هفت صفت گیاهچه‌ای شامل محتوای کلروفیل، K^+ و Na^+ در اندام هوایی و وزن بیوماس در شرایط تنش شوری شناسایی کردند. یک QTL روی کروموزوم 2A با ۱۰ درصد افزایش بیوماس گیاهچه همراه بود. دو مورد از پنج QTL شناسایی شده با QTLهای بیوماس گیاهچه در ارتباط بودند. با این حال، تمام پنج QTL تنها ۱۸ درصد از تنوع فنوتیپی بیوماس گیاهچه را به خود اختصاص دادند. بنابراین، نیاز به نقشه‌یابی QTL برای تحمل به شوری در جمعیت‌های بیشتر برای شناسایی دیگر QTLهای مهم یا جدید وجود دارد. قائدرحمتی و همکاران (۲۰)، در یک مطالعه نقشه‌یابی نواحی ژنومی صفات مرتبط با تحمل به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای گندم در یک جمعیت با ۲۵۴ لاین خالص نوترکیب (RIL) گندم حاصل از تلاقی ارقام سلان و روشن، ۳۱ QTL شناسایی کردند. نقشه مورد استفاده از ۲۳۹ نشانگر، یعنی ۲۲۵ DaRTs و ۱۴ SSR با مجموعاً پوشش ژنومی ۱۰۹۹/۷ سانتی‌مورگان تشکیل شده بود. در مجموع ۳۱ QTL برای تحمل به شوری شناسایی شد که بیش از ۵۰ درصد کل تنوع فنوتیپی را توجیه می‌کردند. بیشتر QTLهای شناسایی شده روی کروموزوم‌های 3B و 5B از بین ۳۱ کروموزوم قرار داشتند. دو QTL مربوط به وزن تر و ارتفاع ساقه در کروموزوم‌های 1A و 3A شناسایی شد که ۱۸ و ۱۲/۹ درصد از کل تنوع فنوتیپی را توجیه کردند. در پژوهشی، حسین و همکاران (۲۵)، از ۱۵۴ لاین F_2 گندم حاصل از تلاقی ارقام متحمل و حساس به شوری برای مکان‌یابی QTL استفاده و ۴۹ QTL شناسایی کردند. از ۴۹ QTL شناسایی شده، ۶ QTL برای دفع Na^+ و دو QTL روی کروموزوم 2A گزارش شدند که به ترتیب توجیه‌کننده ۱۱/۲۳ و ۱۸/۷۹ درصد از تحمل به شوری بودند. نتایج تحقیقات اخیر برخی از محققین نشان داد که مکان‌های ژنی دیگری نیز در خروج سدیم برای تحمل به تنش شوری نقش دارند. این QTLها بر روی کروموزوم‌های 2B، 2D، 3D، 4B، 4D، 6D، 7A و 7D قرار داشتند و دامنه واریانس فنوتیپی آن‌ها از ۵ تا ۲۵ درصد متغیر بود (۳۵). با توجه به اهمیت و نقش صفات ریشه و اندام‌هوایی

کیفیت دانه و تحمل یا مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی جزء صفات پیچیده هستند. نقشه‌یابی QTLهای مرتبط با این صفات بهترین روش برای درک اساس ژنتیکی صفات مختلف و پتانسیلی بسیار موثر برای شناخت و پیشرفت در اصلاح صفات هدف می‌باشد. نقشه‌یابی ژنتیکی در گندم در سال ۱۹۶۰ هنگامی که گری‌هارت بر روی شناسایی و نقشه‌یابی آیزوزیم‌ها مطالعه می‌کرد، آغاز شد. نقشه پیوستگی نشانگرها RFLP و نقشه‌های فیزیکی نشان داد که گندم دارای بیش از ۲۰۰۰ نشانگر DNA است (۹، ۱۲، ۲۲، ۴۳) که تمام هفت گروه هومولوگ را در ژنوم گندم پوشش می‌دهند. پیشرفت‌های اخیر در تکنیک‌های نقشه‌یابی ژنوم مبتنی بر PCR به سیستم‌های جدید نشانگرهای DNA از جمله SSR شتاب بخشید (۴۱). نشانگرهای SSR سطوح بالایی از چندشکلی را در گندم هگزالپلوئید نسبت به سایر سیستم‌های نشانگری نشان می‌دهند (۷، ۴۰). علاوه بر این، AFLP یک نشانگر قوی در ردیابی تعداد زیادی از مکان‌های ژنی می‌باشد که می‌توان به عنوان نقشه‌یابی با وضوح بالا و کلون کردن ژن‌های متصل به نشانگر مورد استفاده قرار داد. امروزه قابلیت تفسیر نقشه‌های پیوستگی نشانگرهای مولکولی این امکان را فراهم می‌سازد تا صفات کمی را در عوامل ژنتیکی مجزا که همان مکان‌یابی صفات کمی (QTL) نامیده می‌شود، ردیابی کرد (۱۸). تجزیه ژنتیکی صفات کمی تحت تنش‌های محیطی به ویژه تنش شوری از چندین سال پیش آغاز شده است. با این حال، تشخیص و تمایز بین این صفات که عملاً عملکرد را تحت تاثیر قرار می‌دهد، دشوار است (۳۶). با این حال، تجزیه و تحلیل QTL می‌تواند ارتباط قابل درکی برای افزایش کارایی به‌نژادی واریته‌ها با بهبود پاسخ به تنش‌های غیرزیستی شامل خشکی (۳۷) و شوری (۱۳) ایجاد کند. یکی از اهداف مهم نقشه‌یابی QTLها، امکان استفاده از اطلاعات بدست آمده از تعداد ژن و تاثیر آن‌ها برای توسعه گیاهان با گزینش براساس نشانگر (MAS) می‌باشد (۳۰). در مورد تحمل به شوری، مطالعات مختلفی با استفاده از جمعیت‌های در حال تفکیک انجام شده است. مکان‌یابی صفات کمی به‌عنوان روش کلاسیک که حاصل دو ژنوتیپ هموزن والدینی است، تکنیک رایج برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی تحمل به تنش شوری در برنج (۲۹، ۳۱، ۳۲)، گندم (۱۳، ۱۹) و جو (۱۶، ۳۳، ۴۲، ۴۶) می‌باشد. چندین مکان ژنی کدکننده HKT که نقش کلیدی در تقویت تحمل به تنش شوری دارند همانند مکان Salinityol (۶)، مکان SKC1 (۳۹) در برنج، مکان Knal در گندم نان (۱۳) و Nax1 و Nax2 در گندم دوروم (۸، ۳۴) شناسایی شده است. در مطالعه‌ای دیگر توسط خو و همکاران (۴۵)، در شرایط هیدروپونیک شناسایی QTLهای کنترل‌کننده تحمل شوری گندم تحت تاثیر غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl با استفاده از جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب (Xiaoyan 54 × Jing) (411) انجام شد. صفات گیاهچه گندم شامل حداکثر تعداد ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه، وزن خشک کل و نسبت وزن خشک کل گیاهان در شرایط تنش شوری و شاهد ارزیابی شد. در مجموع ۱۹ QTL برای پنج صفت از طریق

تاریخ دقیق سبز شدن (زمانی که ۵۰ درصد بذور سبز شدن)، جعبه‌ها با محلول غذایی هوگلند (جدول ۱) آبیاری شدند. در مرحله چهارم برگی با افزودن تدریجی کلرید سدیم به محلول هوگلند اعمال شوری آغاز شد. به‌طوری‌که، کلیه جعبه‌ها به‌جز سطح شاهد، با شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر مربع آبیاری شد. برای اعمال سطح تنش شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر مربع، به ازای یک لیتر آب مقدار ۶/۴ گرم کلرید سدیم مصرف شد. آبیاری جعبه‌ها هر سه روز یکبار انجام یافت و اعمال تیمار شوری تا پایان مرحله برداشت ادامه یافت. به‌منظور افزایش میزان دقت آزمایش در هنگام اعمال تنش شوری میزان EC جعبه‌ها اندازه‌گیری شد. شایان ذکر است جعبه‌ها در پایان هر هفته به‌منظور جلوگیری از تجمع بیش از حد نمک، آبشویی شدند. در پایان دوره رشد صفات طول ریشه، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، وزن تر اندام هوایی و وزن خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شد. برای تجزیه QTL از نقشه پیوستگی موجود جمعیت متشکل بر ۱۷۷ نشانگر ریزماهواره و ۵۱ نشانگر رتروترانسپوزون استفاده شد. در این نقشه ۲۰۲ نشانگر در ۳۶ گروه پیوستگی با طول نقشه ۶۹۱/۳۶ سانتی‌مورگان قرار داشتند و ۲۶ نشانگر به هیچ گروه پیوستگی منتسب نشده بود. براساس نقشه‌های پیوستگی ارائه شده برای گندم، ۳۴ گروه پیوستگی با ۱۹ کروموزوم از ۲۱ کروموزوم گندم مطابقت داشت و متوسط فاصله دو نشانگر مجاور در نقشه برابر ۳/۴۲ سانتی‌مورگان بود (۴۰). تجزیه QTL با برنامه Windows QTL Cartographer V.2.5_009 و براساس روش مکان‌یابی فاصله‌ای مرکب انجام و برای QTL‌های شناسایی شده اثر افزایشی برآورد شد. حداقل LOD برای شناسایی QTLها ۲/۵ در نظر گرفته شد. علاوه بر تعیین جایگاه و میزان اثر هر QTL، واریانس فنوتیپی که توسط هر یک از QTLها (R^2) در یک مدل رگرسیون چندگانه توجیه می‌شد، محاسبه شد.

در تعیین عملکرد نهایی، شناسایی QTL‌های مرتبط با این صفات در شرایط تنش شوری می‌تواند ما را در دستیابی به منابع ژنتیکی با عملکرد بالا راهنمایی کند. بنابراین، مطالعه حاضر به‌منظور مکان‌یابی QTL‌های مرتبط با صفات ریشه و اندام‌هوایی در شرایط تنش شوری در لاین‌های اینبرد نوترکیب گندم نان بهاره انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمعیت متشکل از ۱۴۸ لاین اینبرد نوترکیب گندم نان بهاره حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 به‌همراه والدین در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفتند. رقم Yecora Rojo، زودرس و پاکوتاه به‌عنوان والد پدری با منشاء آمریکا و ژنوتیپ No.49، دیررس و پابلند به‌عنوان والد مادری با منشاء سیستان و بلوچستان می‌باشد (۱۵). جمعیت فوق در دانشگاه روبرساید تولید و از طریق قطب علمی اصلاح مولکولی غلات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز در اختیار این پژوهش قرار گرفت. ارزیابی لاین‌ها به‌همراه والدین در دو شرایط تنش شوری و شاهد در سال ۱۳۹۸ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار اجرا شد. عامل اول ژنوتیپ شامل ۱۴۸ لاین اینبرد نوترکیب گندم نان به همراه والدین و عامل دوم شوری در دو سطح شاهد و ۸ دسی‌زیمنس بر متر مربع که این سطح بر اساس آزمایش تعیین سطح آستانه تحمل والدین مشخص شده است بود. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در جعبه‌های پلاستیکی به ابعاد ۴۰×۲۰ سانتی‌متر با بستر حاوی پرلیت و ماسه با نسبت ۵۰ به ۵۰ کشت شدند. برای این‌منظور ماسه و پرلیت ابتدا الک و سپس با آب مقطر سه بار شستشو داده شد. در هر جعبه پنج ژنوتیپ در ۵ تکرار در عمق حدود یک سانتی‌متری کشت شدند. جعبه‌ها از مرحله کاشت تا سبز شدن با آب مقطر آبیاری شد و پس از ثبت

جدول ۱- ترکیب محلول غذایی هوگلند برای رشد گیاهان

Table 1. Composition of Hoagland nutrient solution for plant growth

حجم محلول استوک در هر لیتر محلول نهایی (ml)	وزن مولکولی (g mol^{-1})	ترکیبات
6	101.10	KNO_3
4	236.16	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
2	115.05	$(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$
1	246.48	MgSO_4
1	61.83	H_3BO_3
1	169.01	MnSO_4
1	287.54	ZnSO_4
1	249.68	CuSO_4
1	161.97	H_2MoO_4
1	345.06	Fe-EDTA
0.5	136.08	KH_2PO_4
1	80.043	NH_4NO_3

تمامی صفات در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری در محیط کشت پیت ماس برای والد No.49 بیشتر از والد Yecora Rojo بود. ژنوتیپ فوق، دیررس و پابلند بوده و می‌تواند طول دوره رشد بیشتری داشته باشد. در این آزمایش برای تمامی صفات مورد مطالعه تفکیک متجاوز یا تفرق برتر از والدین مشاهده گردید که بیانگر ماهیت کمی صفات است.

نتایج و بحث

بررسی پارامترهای فنوتیپی (جدول ۲ و ۳) در شرایط تنش نرمال حاکی از آن بود که همه صفات از تنوع کمی و پیوسته برخوردار بودند. صفاتی که مقادیر چولگی و کشیدگی منحنی‌های توزیع نرمال آن‌ها غیرمعنی‌دار بود، توزیع نرمال داشتند. توزیع بقیه صفات با تبدیل مناسب (تبدیل لگاریتمی و جذری) به نرمال تبدیل شد. نتایج نشان داد که میانگین

اندام هوایی، تعداد دو QTL برای وزن تر اندام هوایی و سه QTL برای هر یک از صفات وزن تر ریشه و طول ریشه شناسایی شد. در شرایط تنش شوری نیز تعداد یک QTL برای وزن خشک ریشه و طول ریشه، دو QTL برای وزن خشک اندام هوایی و سه QTL برای وزن تر اندام هوایی شناسایی شد.

در این پژوهش مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات اندازه‌گیری شده در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری انجام شد. برای صفات مورد مطالعه در کل ۱۷ جایگاه دارای QTL (۱۰ و ۷ جایگاه به‌ترتیب برای شرایط نرمال و تنش شوری) شناسایی شد که روی کروموزوم‌های ۲، ۳، ۵، ۶ و ۷ قرار داشتند (جدول ۲ و ۳ و شکل ۱). در شرایط نرمال تعداد یک QTL برای هر یک از صفات وزن خشک ریشه و وزن خشک

جدول ۲- پارامترهای فنوتیپی برای صفات مورفولوژیک مورد ارزیابی در جمعیت RIL گندم نان حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 در شرایط نرمال در محیط پرلیت و پیت ماس

Table 2. Phenotypic parameters for morphological traits evaluated in RIL population of bread wheat obtained from the crossing of Yecora Rojo cultivar and genotype No.49 under normal conditions perlite and pitmas environment

طول ریشه Root Length	وزن تر اندام هوایی Shoot Fresh Weight	وزن تر ریشه Root Fresh Weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight	وزن خشک ریشه Root Dry Weight	
15.05	0.37	0.11	0.08	0.03	Yecora Rojo
49.83	1.04	1.08	0.20	0.05	No.49
-34.78	-0.67	-0.97	-0.12	-0.02	اختلاف والدین Parent Difference
32.35	0.78	0.81	0.42	0.19	میانگین اینبرد لاین‌های نوترکیب Mean of Recombinant Inbred Lines
10.03	0.33	0.16	0.19	0.038	کمینه لاین‌های اینبرد Minimum of Inbred Lines
53.86	1.58	2.93	0.88	0.78	بیشینه لاین‌های اینبرد Maximum of Inbred Lines
9.17	0.233	0.48	0.12	0.117	انحراف استاندارد Standard Deviation
0.16	0.57	1.29	0.72	1.64	چولگی Skewness
-0.21	0.58	2.28	0.66	4.16	کشیدگی Kurtosis

جدول ۳- پارامترهای فنوتیپی برای صفات مورفولوژیک مورد ارزیابی در جمعیت RIL گندم نان حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 در شرایط تنش شوری در محیط پرلیت و پیت ماس

Table 3. Phenotypic parameters for morphological traits evaluated in RIL population of bread wheat obtained from the crossing of Yecora Rojo cultivar and genotype No.49 under salt stress conditions perlite and pitmas environment

طول ریشه Root Length	وزن تر اندام هوایی Shoot Fresh Weight	وزن تر ریشه Root Fresh Weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight	وزن خشک ریشه Root Dry Weight	
9	0.3	0.06	0.071	0.011	Yecora Rojo
40.16	0.31	0.53	0.074	0.079	No.49
-31.16	-0.01	-0.47	-0.003	-0.068	اختلاف والدین Parent Difference
28.42	0.40	0.38	0.05	0.08	میانگین اینبرد لاین‌های نوترکیب Mean of Recombinant Inbred Lines
7.35	0.060	0.080	0.008	0.012	کمینه لاین‌های اینبرد Minimum of Inbred Lines
53.90	0.98	1.30	0.20	0.34	بیشینه لاین‌های اینبرد Maximum of Inbred Lines
10.78	0.17	0.18	0.027	0.047	انحراف استاندارد Standard Deviation
0.248	0.581	1.71	1.32	2.15	چولگی Skewness
-0.583	0.437	4.67	4.86	7.56	کشیدگی Kurtosis

وزن خشک ریشه در شرایط نرمال روی کروموزوم 7B بود که در فاصله نشانگری Wms46 و Wms400 قرار داشت. مقدار LOD و اثر افزایشی این QTL برابر ۳/۲۲ و ۰/۰۳۴- بود و به نام QRDW7B.n نامگذاری شد. این در حالی است که برای صفت فوق در شرایط تنش شوری تنها یک QTL بر روی کروموزوم 6B با LOD برابر ۲/۰۵ در محدوده ۳۵/۰۰ سانتی‌مورگان شناسایی شد. این QTL با نام QRDW6B.s و در فاصله نشانگری 5LTR.2/Nikita.770 و

ژو و همکاران (۴۴، ۴۵)، با انجام آزمایشات متعدد در زمینه مکان‌یابی نواحی کنترل‌کننده صفات مختلف ریشه و اندام هوایی با استفاده از جمعیت‌های دیگر گندم نان در شرایط نرمال و تنش شوری، ده‌ها ناحیه واجد QTL شناسایی کردند. در این آزمایش اغلب آلل‌ها از طریق والد No.49 انتقال یافته بود. چرا که اغلب QTL‌های شناسایی شده برای صفات مختلف دارای اثرات افزایشی منفی بودند. بر اساس نتایج حاصل از آزمایش، تنها QTL شناسایی شده برای صفت

تعداد شش QTL برای وزن خشک اندام هوایی در ارزیابی ۱۳۲ لاین اینبرید نوترکیب حاصل از تلاقی LYP9's و PA64s در شرایط نرمال و تنش شوری شناسایی کردند. برای صفت وزن تر ریشه تعداد سه QTL، فقط در شرایط نرمال شناسایی شد. این سه QTL، با نام‌های QRFW6A.n، QRFW7A.n و QRFW7B.n به ترتیب روی کروموزوم‌های 6A، 7A و 7B قرار داشتند. میزان اثر افزایشی هر کدام از این QTL‌ها برابر ۰/۱۲۸، ۰/۱۲۷ و ۰/۱۴۱- بود و در موقعیت‌های ۲۳/۳۰، ۱۷/۵۰ و ۱۰/۳۰ قرار داشتند. مقدار LOD آن‌ها برابر ۲/۳۷، ۲/۰۴ و ۲/۹۷ بود. از بین سه QTL شناسایی شده برای این صفت، QRFW7B.n با بیشترین LOD نسبت به سایر QTL‌های انفرادی این صفت قوی‌ترین QTL شناسایی شده بود. در این آزمایش برای وزن تر اندام هوایی، تعداد دو QTL در شرایط نرمال روی کروموزوم 3A و 7B و در فاصله‌های نشانگری Barc12-Nikita/ISSR5.620 و Wms400-Wms46 و سه QTL روی کروموزوم‌های 5A، 7B و 2A در شرایط تنش شوری مکان‌یابی شد. دو QTL شناسایی شده در شرایط نرمال با نام‌های QSF7A.n و QSF7B.n به ترتیب در موقعیت ۲۹/۳۰ و ۱۱/۳۰ سانتی‌مورگان قرار داشتند. مقدار اثر افزایشی این QTL‌ها به ترتیب برابر ۰/۱۱۹- و ۰/۱۰۷- و LOD آن‌ها برابر ۲/۲۹ و ۲/۳۶ بود. در مقابل برای صفت فوق در شرایط تنش شوری سه QTL شناسایی شده با نام‌های QSF7A.s، QSF7B.s و QSF7A.s به ترتیب دارای مقدار اثرات افزایشی ۰/۰۴۶-، ۰/۰۴۱- و ۰/۰۴۲ بودند. مقدار LOD این مکان‌های شناسایی شده برابر ۲/۴۳، ۲/۰۵ و ۲/۲۳ و محدوده آن‌ها برابر ۲۵/۴۰، ۵/۰۰ و ۸/۷۰ سانتی‌مورگان بود.

Sukkula/ISSR10.400 قرار داشت و مقدار اثر افزایشی آن برابر ۰/۰۱۳- بود. مقدار توجیه واریانس فنوتیپی این QTL برابر ۷ درصد بود و الل افزایش‌دهنده این جایگاه از طریق والد No.49 در نتاج به ارث رسیده بود. QTL شناسایی شده برای وزن خشک ریشه در شرایط نرمال به نام QRDW7B.n با بیشترین LOD نسبت به QTL‌های سایر صفات مورد مطالعه قوی‌ترین QTL شناسایی شد. رن و همکاران (۳۸) تعداد دو QTL بر روی کروموزوم‌های 1B و 4B در شرایط نرمال و یک QTL بر روی کروموزوم 4A در شرایط تنش شوری برای صفت وزن خشک ریشه مکان‌یابی کردند که به ترتیب ۰/۹، ۱۱/۶ و ۱۹ درصد از تغییرات این صفت را تبیین نمودند. در مطالعه‌ای دیگر QTL‌هایی برای وزن خشک ریشه بر روی کروموزوم‌های 6A، 5B، 1B، 2B و 5D شناسایی شد (۵). در این بررسی برای صفت وزن خشک اندام هوایی تعداد یک QTL در شرایط نرمال بر روی کروموزوم شماره 6A و دو QTL در شرایط تنش شوری بر روی کروموزوم 2A و 7D مکان‌یابی شد. QTL مذکور تحت شرایط نرمال در بین نشانگرهای Gwm169 و Gwm570 و در موقعیت ۲۳/۳۰ سانتی‌مورگان قرار داشت. مقدار اثر افزایشی این QTL برابر ۰/۰۱۵ و LOD آن برابر ۳/۰۹ بود. مجموع سهم واریانس فنوتیپی توجیه‌شده به وسیله QTL مربوط به وزن خشک اندام هوایی ۸ درصد بود. دو QTL شناسایی شده برای صفت وزن خشک اندام هوایی در شرایط تنش شوری با نام‌های QSDW2A.s و QSDW7D.s هر دو دارای اثر افزایشی برابر ۰/۰۰۷- بودند که به ترتیب در موقعیت‌های ۲/۳۰ و ۰/۰۰ و در فاصله نشانگری Gwm60-Gwm296 و Wmc317-Wmc361 قرار داشتند و مقدار LOD آن‌ها برابر ۲/۵۵ و ۲/۶۹ بود. جهان و همکاران (۲۶)

جدول ۴- جایگاه ژنومی صفات مورد ارزیابی و نشانگر مولکولی پیوسته با آن‌ها در جمعیت RIL گندم نان حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 در شرایط نرمال

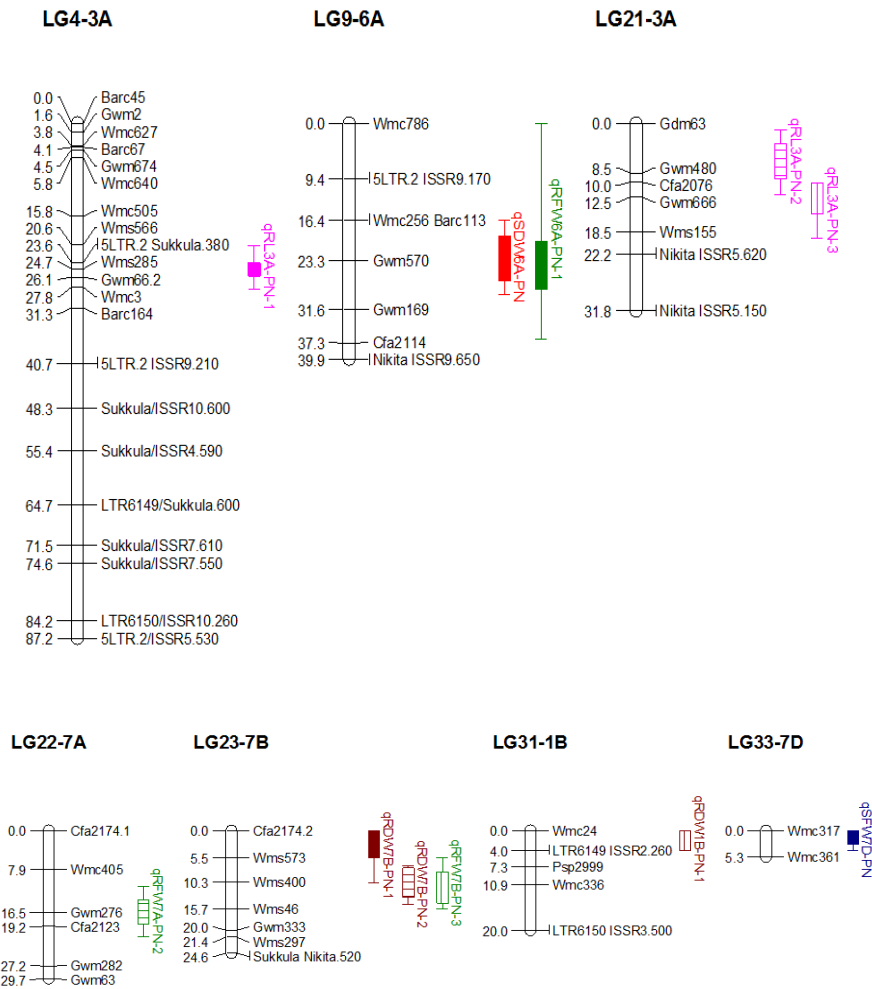
Table 4. Genomic position of phenological traits and their associated markers in bread wheat RIL population derived from Yecora Rojo cultivar and No.49 genotype under normal condition

صفت	کروموزوم Chromosome	نام QTL QTL Name	نشانگر راست Right Marker	نشانگر چپ Left Marker	موقعیت (cM) Position	LOD	اثرات افزایشی Additive Effects	R ² (%)
وزن خشک ریشه Root Dry Weight	7B	QRDW7B.n	Wms46	Wms400	10.30	3.22	-0.034	8.23
وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight	6A	QSDW6A.n	Gwm169	Gwm570	23.30	3.09	0.015	8.20
وزن تر ریشه Root Fresh Weight	6A	QRFW6A.n	Gwm169	Gwm570	23.30	2.37	0.128	6.22
	7A	QRFW7A.n	Cfa2123	Gwm276	17.50	2.04	-0.127	5.89
	7B	QRFW7B.n	Wms46	Wms400	10.30	2.97	-0.141	7.44
وزن تر اندام هوایی Shoot Fresh Weight	3A	QSF7A.n	Barc12	Nikita/ISSR5.620	29.30	2.29	-0.119	7.77
	7B	QSF7B.n	Wms46	Wms400	11.30	2.36	-0.107	6.67
طول ریشه Root Length	3A	QRL3A(1).n	Wmc3	Gwm66.2	24.70	3.16	-2.973	7.90
	3A	QRL3A(2).n	Gwm480	Gdm63	7.00	2.75	-2.826	8.98
	3A	QRL3A(3).n	Gwm666	Cfa2076	12.10	2.02	-2.189	5.46

جدول ۵- جایگاه ژنومی صفات مورد ارزیابی و نشانگر مولکولی پیوسته با آن در جمعیت RIL گندم نان حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 در شرایط تنش شوری

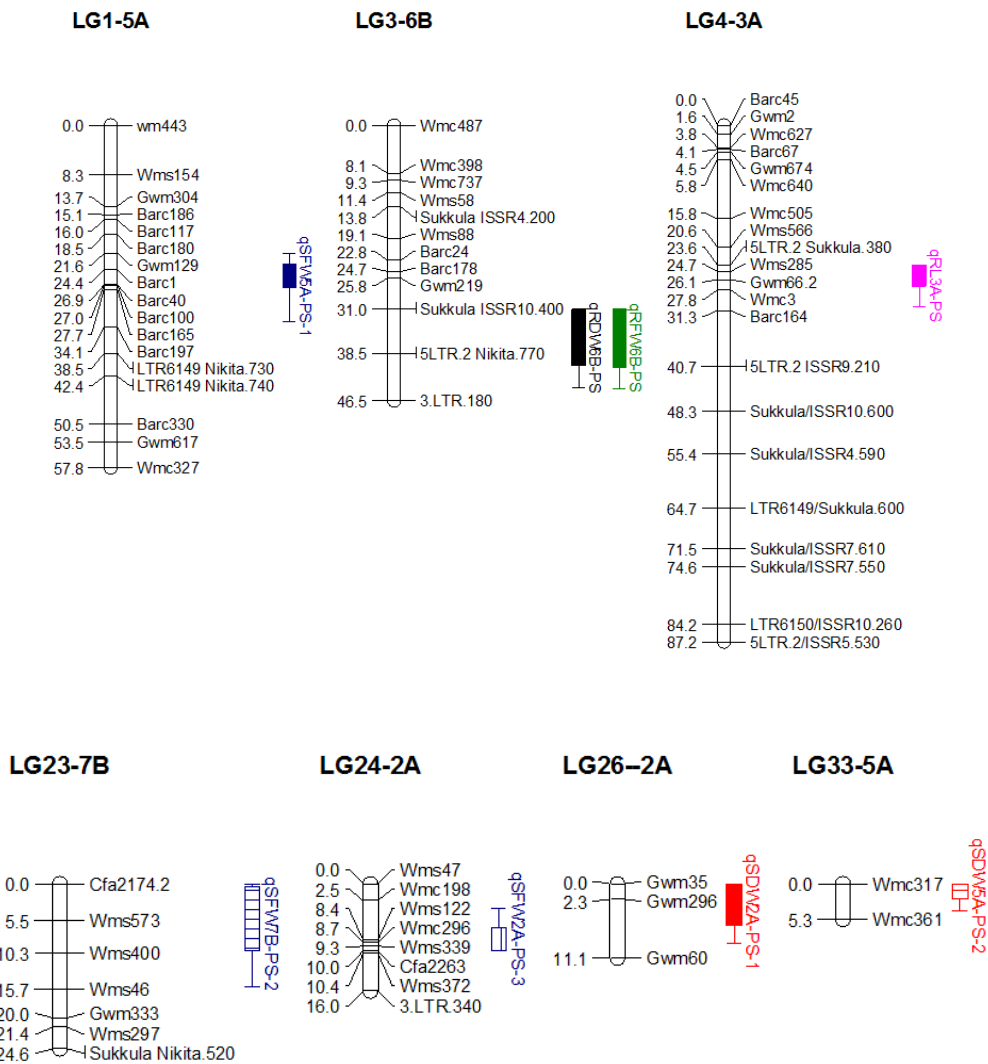
Table 5. Genomic position of phenological traits and their associated markers in bread wheat RIL population derived from Yecora Rojo cultivar and No.49 genotype under salt stress condition

R ² (%)	اثرات افزایشی Additive Effects	LOD	موقعیت (cM) Position	نشانگر چپ Left Marker	نشانگر راست Right Marker	نام QTL QTL Name	کروموزوم Chromosome	صفت
7.43	-0.013	2.05	35.00	Sukkula/ISSR10.400	5LTR.2/Nikita.770	QRDW6B.s	6B	وزن خشک ریشه Root Dry Weight
6.49	-0.007	2.55	2.30	Gwm296	Gwm60	QSDW2A.s	2A	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight
7.00	-0.007	2.69	0.00	Wmc317	Wmc361	QSDW7D.s	7D	وزن تر اندام هوایی Shoot Fresh Weight
6.59	-0.046	2.43	25.40	Barc117	Barc100	QSFW5A.s	5A	طول ریشه Root Length
5.51	-0.041	2.05	5.00	Cfa2174.2	Wms573	QSFW7B.s	7B	
5.51	0.042	2.23	8.70	Wms122	Wms339	QSFW2A.s	2A	
6.41	-2.733	2.34	25.70	Wms285	Gwm66.2	QRL3A.s	3A	



شکل ۱- نقشه پیوستگی نشانگرهای مولکولی مطالعه شده در جمعیت RIL گندم نان حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 در شرایط نرمال

Fig. 1. Linkage map of studied markers in bread wheat RIL population derived from crossing of Yecora Rojo cultivar and No.49 genotype under normal condition



شکل ۲- نقشه پیوستگی نشانگرهای مولکولی مطالعه شده در جمعیت RIL گندم نان حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 در شرایط تنش شوری

Fig. 2. Linkage map of studied markers in bread wheat RIL population derived from crossing of Yecora Rojo cultivar and No.49 genotype under salinity stress condition

مقدار LOD آن برابر ۳/۱۶، ۲/۷۵ و ۲/۰۲ برآورد شد. QTLهای فوق ۸ درصد از کل واریانس طول ریشه را توجیه می‌کردند. این در حالی است که در شرایط تنش شوری برای طول ریشه یک QTL روی کروموزوم 3A شناسایی شد که در بین نشانگرهای Gwm66.2 و Wms285 و در موقعیت ۲۵/۷۰ سانتی‌مورگان قرار داشت. این QTL با نام QRL3A.s دارای اثر افزایشی ۲/۷۳۳- بود و مقدار LOD آن برابر ۲/۳۴ برآورد شد. QTL منفرد فوق ۶ درصد از کل واریانس طول ریشه را توجیه کرد. بتول و همکاران (۵)، در مورد صفت طول ریشه گزارش کردند که QTLهای مرتبط با این صفت در شرایط نرمال بر روی کروموزومهای 1B، 2A، 2D، 5A و 6D در شرایط تنش شوری بر روی کروموزومهای 2D، 3B، 5B، 6B و 3D قرار داشتند.

جهان و همکاران (۲۶) با مطالعه لاین‌های اینبرد گندم نان در سه شرایط نرمال، ۵۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl، برای صفت وزن تر ریشه تعداد سه QTL به ترتیب بر روی کروموزومهای ۱، ۶ و ۷ در شرایط تنش شوری ۵۰ میلی‌مولار NaCl و سه QTL به ترتیب بر روی کروموزومهای ۶، ۷ و ۴ در شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl شناسایی کردند. برای طول ریشه در شرایط نرمال، تعداد سه QTL روی کروموزومهای 3A، شناسایی شد که در بین نشانگرهای Wmc3-Gwm66.2، Gwm480- Gdm63 و Gwm666-Cfa207 و در موقعیت‌های ۲۴/۷۰، ۷/۰۰ و ۱۲/۱۰ سانتی‌مورگان قرار داشتند. این QTLها با نام‌های QRL3A(1).n، QRL3A(2).n و QRL3A(3).n دارای اثرات افزایشی ۲/۹۷۳-، ۲/۸۲۶- و ۲/۱۸۹- بودند و

نتیجه‌گیری کلی

آزمایش نشان داد که QSDW6A.n (برای وزن خشک اندام هوایی) با QRFW6A.n (برای وزن تر ریشه) و هم‌چنین QRFW7B.n (برای وزن تر ریشه) با QSF7B.n (برای وزن تر اندام هوایی) در شرایط نرمال در نقاط مشابه و بین نشانگرهای Gwm570-Gwm169 و Wms40-Wms46 قرار گرفته بودند که نشان‌دهنده همبستگی بین صفات فوق بود. در این مطالعه اکثر QTLها برای صفات مورد مطالعه در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری در ژنوم A شناسایی شدند. به‌گونه‌ای که حدود پنجاه درصد QTLها روی ژنوم A قرار داشتند. در این ژنوم نیز اکثر QTLها روی کروموزوم 3A واقع شده بودند. بنابراین، به‌نظر می‌رسد که این کروموزوم نقش تعیین‌کننده در کنترل صفات وزن تر اندام‌هوایی و طول ریشه باشد. به‌علاوه، نتایج نشان داد که جمعیت حاصل از تلاقی رقم Yecora Rojo و ژنوتیپ No.49 برای شناسایی QTLهای گندم یک جمعیت در حال تفرق مناسب به‌شمار می‌رود. QTLهای شناسایی شده در این تحقیق باید در توده‌های در حال تفرق یا جمعیت‌های نقشه‌یابی دیگر نیز مورد بررسی قرار گیرند تا اثر زمینه ژنتیکی در بیان QTLها مشخص شود. در این تحقیق تعداد QTLهای شناسایی شده برای خصوصیات مرتبط با گیاهچه بسیار کم بودند که می‌تواند به‌دلیل تعداد بالای QTL با اثرات کم باشد. هم‌چنین، با توجه به احتمال وجود اثر متقابل بین QTL و محیط، پیشنهاد می‌شود تجزیه QTL در چند سال و مکان صورت گیرد تا اثر متقابل QTLها با محیط نیز مشخص شود.

نتایج نشان داد که بیشترین اثر افزایشی مثبت و منفی در شرایط نرمال به‌ترتیب مربوط به QTLهای موجود بر روی کروموزوم‌های 6A و 3A برای صفات وزن تر ریشه و طول ریشه بود که آلل مربوط به این QTLها به‌ترتیب از والد Yecora Rojo و No.49 به ارث رسیده است. این در حالی است که بیشترین اثر افزایشی مثبت و منفی در شرایط تنش شوری به‌ترتیب مربوط به QTLهای موجود بر روی کروموزوم‌های 2A و 3A برای صفات وزن تر اندام‌هوایی و طول ریشه بود. بنابراین، نتایج حاصل از این آزمایش بار دیگر این فرضیه را تقویت کرد که ژن‌ها به‌طور یکسان روی ژنوم توزیع نشده و اکثر ژن‌ها در نواحی خاصی متمرکز هستند. در این آزمایش برای ده QTL شناسایی شده در شرایط نرمال بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی توجیه شده از ۵/۴۶ تا ۸/۹۸ درصد متغیر بود که مربوط به QTLهای طول ریشه بودند. در حالی که، از ۷ مکان شناسایی شده در شرایط تنش شوری بیشترین و کمترین واریانس فنوتیپی توجیه شده از ۵/۵۱ تا ۷/۴۳ درصد متغیر بود و به‌ترتیب مربوط به QTLهای وزن تر اندام‌هوایی و وزن خشک ریشه بودند. هم‌چنین بیشترین و کمترین مقدار آماره LOD در شرایط نرمال به‌ترتیب متعلق به QTLهای مربوط به وزن خشک ریشه و طول ریشه بدست آمد و در شرایط تنش شوری این بیشترین و کمترین مقدار LOD به‌ترتیب مربوط به صفات وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه شد. هم‌چنین، نتایج حاصل از

منابع

1. Afzal, I., S. Rauf, S. Basra and G. Murtaza. 2008. Halopriming improves vigor, metabolism of reserves and ionic contents in wheat seedlings under salt stress. *Plant Soil Environment*, 54(9): 382-388.
2. Akbarimoghaddam, H., M. Galavi, A. Ghanbari and N. Panjehkeh. 2011. Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. *Trakia journal of Sciences*, 9(1): 43-50.
3. Arfan, M., H.R. Athar and M. Ashraf. 2007. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? *Journal of plant physiology*, 164(6): 685-694.
4. Asgari, H.R., W. Cornelis and P. Van Damme. 2012. Salt stress effect on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth and leaf ion concentrations. *International Journal of Plant Production*, 6(2): 195-208.
5. Batool, N., N. Ilyas, A. Shahzad, B.A. Hauser and M. Arshad. 2018. Quantitative trait loci (QTLs) mapping for salt stress tolerance in wheat at germination stage. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 55(1): 47-55.
6. Bonilla, P., J. Dvorak, D. Mackell, K. Deal and G. Gregorio. 2002. RFLP and SSLP mapping of salinity tolerance genes in chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines. *Philippine Agricultural Scientist (Philippines)*.
7. Bryan, G., A. Collins, P. Stephenson, A. Orry, J. Smith and M. Gale. 1997. Isolation and characterisation of microsatellites from hexaploid bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(5): 557-563.
8. Byrt, C.S., J.D. Platten, W. Spielmeyer, R.A. James, E.S. Lagudah, E.S. Dennis, M. Tester and R. Munns. 2007. HKT1; 5-like cation transporters linked to Na⁺ exclusion loci in wheat, Nax2 and Kna1. *Plant Physiology*, 143(4): 1918-1928.
9. Chao, S., P. Sharp, A. Worland, E. Warham, R. Koebner and M. Gale. 1989. RFLP-based genetic maps of wheat homoeologous group 7 chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*. 78(4): 495-504.
10. Chinnusamy, V., A. Jagendorf and J.K. Zhu. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*. 45(2): 437-448.

11. De Leon, T.B., S. Linscombe and P.K. Subudhi. 2016. Molecular dissection of seedling salinity tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) using a high-density GBS-based SNP linkage map. *Rice*, 9(1): 52.
12. Devos, K. and M. Gale. 1993. Extended genetic maps of the homoeologous group 3 chromosomes of wheat, rye and barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 85(6-7): 649-652.
13. Dubcovsky, J., G. Santa Maria, E. Epstein, M.C. Luo and J. Dvořák. 1996. Mapping of the K+/Na+ discrimination locus *Kna1* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 92(3-4): 448-454.
14. Edwards, J., Y. Shavrukov, C. Ramsey, M. Tester, P. Langridge and T. Schnurbusch. 2008. Identification of a QTL on chromosome 7AS for sodium exclusion in bread wheat.
15. Ehdaie, B., S.A. Mohammadi and M. Nouraein. 2016. QTLs for root traits at mid-tillering and for root and shoot traits at maturity in a RIL population of spring bread wheat grown under well-watered conditions. *Euphytica*, 211(1): 17-38.
16. Ellis, R., B. Forster, D. Gordon, L. Handley, R. Keith, P. Lawrence, R. Meyer, W. Powell, D. Robinson and C. Scrimgeour. 2002. Phenotype/genotype associations for yield and salt tolerance in a barley mapping population segregating for two dwarfing genes. *Journal of Experimental Botany*, 53(371): 1163-1176.
17. Fuller, M.P., J.H. Hamza, H.Z. Rihan and M. Al-Issawi. 2012. Germination of primed seed under NaCl stress in wheat. *ISRN Botany*. 2012.
18. Geldermann, H. 1975. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers I. *Methods. Theoretical and Applied Genetics*, 46(7): 319-330.
19. Genc, Y., K. Oldach, A.P. Verbyla, G. Lott, M. Hassan, M. Tester, H. Wallwork and G.K. McDonald. 2010. Sodium exclusion QTL associated with improved seedling growth in bread wheat under salinity stress. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(5): 877-894.
20. Ghaedrahmati, M., M. Mardi, M. Naghavi, E.M. Haravan, B. Nakhoda, A. Azadi and M. Kazemi. 2014. Mapping QTLs associated with salt tolerance related traits in seedling stage of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16: 1413-1428.
21. Ghiyasi, M., A.A. Seyahjani, M. Tajbakhsh, R. Amirnia and H. Salehzadeh. 2008. Effect of osmopriming with polyethylene glycol (8000) on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seeds under salt stress. *Research Journal of Biological Sciences*, 3(10): 1249-1251.
22. Gill, K.S., B.S. Gill, T.R. Endo and T. Taylor. 1996. Identification and high-density mapping of gene-rich regions in chromosome group 1 of wheat. *Genetics*, 144(4): 1883-1891.
23. Hasanuzzaman, M., K. Nahar and M. Fujita. 2013. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages, in *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*. Springer. p. 25-87.
24. Hasanuzzaman, M., K. Nahar, A. Rahman, T.I. Anee, M.U. Alam, T.F. Bhuiyan, H. Oku and M. Fujita. 2017. Approaches to enhance salt stress tolerance in wheat. *Wheat Improvement, Management and Utilization, InTech*, 151-187.
25. Hussain, B., S.J. Lucas, L. Ozturk and H. Budak. 2017. Mapping QTLs conferring salt tolerance and micronutrient concentrations at seedling stage in wheat. *Scientific Reports*, 7(1): 1-14.
26. Jahan, N., Y. Zhang, Y. Lv, M. Song, C. Zhao, H. Hu, Y. Cui, Z. Wang, S. Yang and A. Zhang. 2020. QTL analysis for rice salinity tolerance and fine mapping of a candidate locus *qSL7* for shoot length under salt stress. *Plant Growth Regulation*, 90(2): 307-319.
27. Kearsey, M.J. 1998. The principles of QTL analysis (a minimal mathematics approach). *Journal of Experimental Botany*, 49(327): 1619-1623.
28. Khan, A. and M. Ashraf. 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and experimental botany*, 63(1-3): 224-231.
29. Koyama, M.L., A. Levesley, R.M. Koebner, T.J. Flowers and A.R. Yeo. 2001. Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiology*, 125(1): 406-422.
30. Lande, R. and R. Thompson. 1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics*, 124(3): 743-756.
31. Lee, S.Y., J.H. Ahn, Y.S. Cha, D.W. Yun, M.C. Lee, J.C. Ko, K.S. Lee and M.Y. Eun. 2006. Mapping of quantitative trait loci for salt tolerance at the seedling stage in rice. *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*. 21(2).
32. Lin, H., M. Zhu, M. Yano, J. Gao, Z. Liang, W. Su, X. Hu, Z. Ren and D. Chao. 2004. QTLs for Na+ and K+ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theoretical and Applied Genetics*, 108(2): 253-260.
33. Mano, Y. and K. Takeda. 1997. Mapping quantitative trait loci for salt tolerance at germination and the seedling stage in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Euphytica*, 94(3): 263-272.

34. Munns, R., R.A. James, B. Xu, A. Athman, S.J. Conn, C. Jordans, C.S. Byrt, R.A. Hare, S.D. Tyerman and M. Tester. 2012. Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. *Nature Biotechnology*, 30(4): 360.
35. Ogonnaya, F., S. Huang, E. Steadman, L. Emebiri, M. Dreccer, E. Lagudah and R. Munns, 2008. Mapping quantitative trait loci associated with salinity tolerance in synthetic derived backcrossed bread lines. 11th International Wheat Genetics Symposium. 2008 Brisbane August
36. Quarrie, S.A., 1996. New molecular tools to improve the efficiency of breeding for increased drought resistance. *Plant Growth Regulation*, 20(2): 167-178.
37. Quarrie, S.A., D.A. Laurie, J. Zhu, C. Lebreton, A. Semikhodskii, A. Steed, H. Witsenboer and C. Calestani, QTL analysis to study the association between leaf size and abscisic acid accumulation in droughted rice leaves and comparisons across cereals, in *Oryza: From Molecule to Plant*. 1997. Springer. p. 155-165.
38. Ren, Y., Y. Xu, W. Teng, B. Li and T. Lin. 2018. QTLs for seedling traits under salinity stress in hexaploid wheat. *Ciencia Rural*, 48(3): 1-9.
39. Ren, Z.H., J.P. Gao, L.G. Li, X.L. Cai, W. Huang, D.Y. Chao, M.Z. Zhu, Z.Y. Wang, S. Luan and H.X. Lin. 2005. A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nature Genetics*, 37(10): 1141-1146.
40. Röder, M.S., J. Plaschke, S.U. König, A. Börner, M.E. Sorrells, S.D. Tanksley and M.W. Ganal. 1995. Abundance, variability and chromosomal location of microsatellites in wheat. *Molecular and General Genetics MGG*, 246(3): 327-333.
41. Tautz, D., M. Trick and G.A. Dover. 1986. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature*, 322(6080): 652-656.
42. Witzel, K., A. Weidner, G.K. SURABHI, R.K. Varshney, G. Kunze, G.H. Buck Sorlin, A. Boerner and H.P. MOCK. 2010. Comparative analysis of the grain proteome fraction in barley genotypes with contrasting salinity tolerance during germination. *Plant, Cell & Environment*, 33(2): 211-222.
43. Xie, D., K. Devos, G. Moore and M. Gale. 1993. RFLP-based genetic maps of the homoeologous group 5 chromosomes of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* (Germany).
44. Xu, Y.F., D.G. An, D.C. Liu, A.M. Zhang, H.X. Xu and B. Li. 2012. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL× treatment interactions for salt tolerance at seedling stage of wheat. *Euphytica*, 186(1): 233-245.
45. Xu, Y., S. Li, L. Li, X. Zhang, H. Xu and D. An. 2013. Mapping QTLs for salt tolerance with additive, epistatic and QTL× treatment interaction effects at seedling stage in wheat. *Plant Breeding*, 132(3): 276-283.
46. Xue, D., Y. Huang, X. Zhang, K. Wei, S. Westcott, C. Li, M. Chen, G. Zhang and R. Lance. 2009. Identification of QTLs associated with salinity tolerance at late growth stage in barley. *Euphytica*, 169(2): 187-196.
47. Yousaf, J., S. Mohammad, B. Jehan and A. Mohammad. 2011. Seed priming improves salinity tolerance of wheat varieties. *Pakistan Journal of Botany*, 43(6): 2683-2686.