بررسی واکنش لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان به تنش کلرید سدیم در مرحله گیاهچه‌ای

فریبا مرسلی آقاجری[۱]، رضا درویش زاده*[۲]، حمید حاتمی ملکی[۳]، محسن برین[۴]، علی اصغر حاتم نیا[۵]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۶/۱۹)

چکیده

به‌منظور بررسی واکنش لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در شرایط کنترل شده اجرا گردید. فاکتور اول شامل ۷۷ لاین خویش آمیخته نوترکیب (نسل F_9) به همراه والدین و فاکتور دوم تنش شوری NaCl با سطوح شوری صفر و ۶ (دسی‌زیمنس‌برمتر) و صفات مورد مطالعه شامل طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد تمامی صفات مورد مطالعه تحت تأثیر ژنوتیپ، شوری و اثر متقابل ژنوتیپ و شوری قرار گرفتند. از مجموع ۷۷ لاین، ۴۳٪ (۳۳ لاین) در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس‌برمتر قادر به جوانه زنی نبودند و ۵۷٪ (۴۴ لاین) قدرت زنده‌مانی خود را حفظ کردند. میانگین تمام صفات مورد مطالعه در سطح شوری ۶ دسی‌زیمنس برمتر در مقایسه با شرایط عادی کاهش نشان داد. خوشه‌بندی لاین‌های مورد مطالعه با در نظر گرفتن جمیع صفات در هر یک از دو شرایط تنش شوری و عادی با محاسبه فواصل مربع اقلیدسی (Squard Euclidean) و روش Ward انجام شد. لاین‌ها در ۳ خوشه گروه‌بندی شدند. در شرایط بدون تنش در خوشه اول، دوم و سوم به ترتیب ۱۷، ۱۸ و ۴۲ لاین و در شرایط تنش شوری به ترتیب ۲۶، ۸ و ۹ لاین در خوشه‌های مربوطه قرار گرفتند. بیشترین فاصله بین خوشه‌های ۱ با ۲ مشاهده شد. نتایج تجزیه خوشه‌ای در تطابق با نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه تابع تشخیص بود. لاین C86 برای اکثریت صفات مورد بررسی دارای بیشترین میانگین بود و به عنوان متحمل‌ترین لاین به تنش شوری معرفی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، تجزیه خوشه‌ای، تنش شوری، رشد گیاهچه

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 (مکاتبه کننده)
۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه
۴- استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
۵- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه ایلام
* پست الکترونیک: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

مقدمه

براساس آمار موجود، تنش شوری پس از خشکی از جمله مهم‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان می‌باشد (Sadat Noori *et al*., 2011) که رشد گیاهان را به شدت کاهش می‌دهد (Manchanda & Garg, 2008; Meloni *et al*., 2008) افزایش شوری در زمین‌های قابل کشت به عنوان یک عامل تهدید کننده جهانی محسوب می‌گردد. تخمین زده می‌شود که در ۲۵ سال آینده و در اواسط قرن ۲۱، ۵۰ درصد زمین‌های زراعی به‌خاطر مشکل تجمع نمک قابل کشت نباشند (Wang *et al*., 2003). در قاره آسیا و بعد از کشورهای شوروی سابق، چین، هندوستان و پاکستان بیش‌ترین سطح خاک‌های شور متعلق به ایران است (Shahsev & Hassani, 2000). در ایران به‌جز قسمت‌های محدودی از کشور، بقیه مناطق جزء نواحی خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شوند و با توجه به پایین بودن بارندگی کشور و وضعیت آب و هوایی خاص، زمینه مساعدی جهت تشکیل و گسترش خاک‌های شور فراهم می‌باشد (Mohammad Doust Chamanabad *et al*., 2010). نزدیک به ۲۵ درصد مساحت زمین‌های کشور متأثر از شوری می‌باشد (Choukr, 1996). در سال‌های اخیر روند رو به افزایش خشکی دریاچه ارومیه و افزایش نمک و گسترش آن در سطح زمین‌های کشاورزی بر شدت بحران شوری افزوده است.

اگرچه تاکنون مطالعات بسیار زیادی در سطح جهان در زمینه تنش شوری، سازوکارهای مربوط به آن و نیز معرفی ارقام متحمل به شوری در گیاهان صورت گرفته است، اما با توجه شدت و گسترش مشکل شوری، همواره پژوهش در این زمینه مهم می‌باشد. بنابراین برای مقابله با این مشکل، شناسایی و انتخاب ارقام متحمل به شوری ضروری است (Mass & Hoffman, 1997). گیاهان زراعی تا یک آستانه می‌توانند شوری را تحمل نموده و بعد از آن با افزایش مقدار شوری رشد آن‌ها به‌صورت خطی کاهش می‌یابد (Soltani *et al*., 2001; Khan & Gulzar, 2003). با شناخت آستانه تحمل گیاهان زراعی و بررسی میزان تحمل آن‌ها به شوری می‌توان بهترین رقم را برای مناطق شور انتخاب کرد. تحمل نمک در واقع توانایی گیاهان برای رشد و تکمیل چرخه زندگی در غلظت‌های بالای نمک‌های محلول می‌باشد (Parida *et al*., 2005). ارقام مختلف یک گیاه از نظر میزان تحمل به شوری یکسان نیستند، لذا نژادگران گیاهی همواره به‌دنبال شناسایی ارقام متحمل به شوری در گیاهان زراعی هستند. شناسایی و انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش به دو روش مستقیم (سنجش عملکرد) و غیرمستقیم (براساس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک که با تحمل تنش همبستگی دارند) انجام می‌شود (Singh, 2001). در مراحل مختلف رشد یک گیاه نیز واکنش به شوری متفاوت می‌باشد اما با توجه به این‌که استقرار اولیه گیاه در عملکرد نهایی آن تأثیر زیادی دارد تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای برای گیاه می‌تواند بسیار مضر باشد (Rauf *et al.,* 2007). مرحله جوانه‌زنی گیاه، مرحله حساس و مهمی است که می‌تواند با استقرار مطلوب گیاهچه‌ها در فرآیند تولید نقش مهمی ایفا نماید (Zhang *et al.,* 2005; Kader & Jutzi, 2004). تنش شوری عموماً باعث تأخیر در جوانه‌زنی، کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی، تأخیر در ظهور ریشه‌چه و ساقه‌چه و در نتیجه کاهش رشد گیاهچه‌ها در محیط‌های شور می‌گردد. این اثرات می‌تواند به‌دلیل اختلال در جذب آب (پتانسیل منفی آب در خاک)، به هم خوردن تعادل غذایی، تأثیرات مضر یون‌های سمی (تجمع بیش از حد یون‌های Na^+ و Cl^-) یا ترکیبی از این فاکتورها باشد که در اثر ترکیبات مؤثر در شوری و یا به‌علت غلظت‌های آنان برای گیاهان و بذرهای آن‌ها به‌وجود می‌آید (Ashraf & Harris, 2004).

آفتابگردان زراعی (*Helianthus annuus* L.) گیاهی یک ساله متعلق به جنس هلیانتوس و تیره *Asteraceae* یا *Compositae* می‌باشد. ارقام زراعی آفتابگردان دارای دو تیپ روغنی و آجیلی می‌باشند (Hue *et al*., 2010). در میان گیاهان دانه روغنی، آفتابگردان از نظر تولید محصول و تجارت جهانی به‌عنوان پنجمین منبع مهم تولید روغن خوراکی بعد از سویا، کلزا، پنبه و بادام‌زمینی به‌حساب می‌آید (Seiler & Jan, 2010). هم‌چنین این گیاه به عنوان یک منبع مهم پروتئین در بسیاری از کشورهای جهان محسوب می‌گردد (Leon *et al*., 1995; Hu *et al*., 2010). بر اساس گزارش سازمان جهانی کشاورزی و غذا، سطح زیر کشت آفتابگردان روغنی در ایران در سال ۲۰۱۲، ۶۸۰۰۰ هکتار با میزان عملکرد ۱۳۲۳/۵ کیلوگرم در هکتار و میزان تولید آن ۹۰۰۰۰ تن بود. براساس گزارش جهاد کشاورزی آذربایجان‌غربی (سال ۱۳۹۲) سطح زیر کشت آفتابگردان روغنی در استان چهار هزار

هکتار با میزان تولید ۷۰۰۰ تن می‌باشد. مهم‌ترین ارقام کشت شده آفتابگردان روغنی در استان ارقام رکورد، آرومایروسکی، زاریا، نیمک و هیبرید ایروفلور می‌باشد (http://tabesh.net). استان آذربایجان‌غربی با توجه به موقعیت جغرافیایی و شرایط اقلیمی پتانسیل قابل‌توجهی برای تولید آفتابگردان روغنی و آجیلی دارد. آفتابگردان جزء گیاهان حساس به شوری می‌باشد و تنش شوری باعث کاهش رشد و نمو آفتابگردان شده و میزان محصول تحت تنش شوری به شدت کاهش می‌یابد (Khatoon *et al*., 2000) عملکرد آفتابگردان در شوری حدود ۵ دسی‌زیمنس بر متر آسیب زیادی نمی‌بیند ولی مقادیر بالای شوری موجب کاهش ۵۰ درصدی عملکرد می‌شود (Kajhpour 2006).

تخمین تنوع ژنتیکی تحت شرایط تنش یک عامل اساسی در پیش‌برد برنامه‌های اصلاح گیاهی است. روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی وجود دارد و از جمله مهم‌ترین آن‌ها روش‌های آماری چند متغیره می‌باشند که به‌طور هم‌زمان از اطلاعات چندین صفت در کلیه افراد استفاده می‌نمایند (Mohammadi *et al*., 2003). از بین روش‌های آماری چند متغیره روش‌های تجزیه‌ی خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در بیان و تشریح تنوع ژنتیکی کاربرد زیادی دارند. تجزیه‌های چند متغیره غالباً برای تجزیه تنوع ژنتیکی در بسیاری از گیاهان از جمله گندم (Hailu *et al*., 2006)، بادام‌زمینی (Upadhyaya *et al*., 2009)، آفتابگردان آجیلی (Kholghi *et al*., 2011) و توتون (Hatami Maleki *et al*., 2012) انجام شده است. در این تحقیق، واکنش گیاهچه‌های ۷۷ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان به شوری تحت شرایط کنترل شده بررسی گردید. نتایج این تحقیق می‌تواند در انتخاب والدین مناسب برای تولید هیبریدهای متحمل به اصلاح‌گران نبات کمک نماید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه اجرا گردید. مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل ۷۷ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب (نسل F_9) حاصل از تلاقی ♂ RHA266 × ♀ PAC2 می‌باشد که با استفاده از روش بالک تک بذری توسط انیستیتو ملی تحقیقات آگرونومی (INRA) فرانسه تهیه شده است. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط کنترل شده اجرا گردید. فاکتور اول ۷۷ لاین خویش‌آمیخته نوترکیب آفتابگردان به‌همراه والدین و فاکتور دوم تنش شوری ناشی از کلریدسدیم (NaCl) در دو سطح صفر و ۶ دسی‌زیمنس بر متر بود. در بررسی واکنش ژنوتیپ‌های گیاهان به تنش‌های محیطی در شرایط کنترل شده معمولاً شدت تنش را متوسط در نظر می‌گیرند تا ژنوتیپ‌های با پتانسیل خوب در مراحل اولیه گزینش حذف نشوند. هر تکرار شامل ۱ پتری‌دیش با قطر ۹۵ میلی‌متر و حاوی ۲۰ بذر بود. بذرها با هیپوکلرید سدیم ٪۵ ضد عفونی و سه بار با آب مقطر استریل شست‌وشو داده شدند و سپس در پتری‌دیش‌های حاوی سه لایه کاغذ واتمن و ۸ میلی‌لیتر آب مقطر با شوری صفر و ۶ 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 جوانه زده به‌حساب می‌آمدند که ریشه‌چه حدود دو میلی‌متر یا بیشتر طول داشت (Khan *et* al., 2004). ۱۳ روز پس از انتقال، صفات مربوط به رشد و نمو دانه رست‌ها شامل طول ساقه‌چه ((Shoot Length (Shoot L))، طول ریشه‌چه ((Root Length (Root L))، وزن تر ساقه‌چه ((Shoot Fresh Weight (SFW))، وزن تر ریشه‌چه ((Root Dry Weight (RDW))، وزن خشک ساقه‌چه ((Shoot Dry Weight (SDW))، وزن خشک ریشه‌چه ((Root Dry Weight (RDW)) اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی و با استفاده از نرم افزار SAS و تجزیه خوشه‌ای (Cluster analysis) در هر دو سطح شوری پس از استاندارد کردن داده‌ها با محاسبه‌ی فواصل مربع اقلیدسی (Squared Euclidean) و روش Ward با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 انجام گرفت. ترکیب مربع فاصله اقلیدسی Ward مشکل زنجیره‌ای شدن (Chaining problem) در تجزیه‌ی خوشه‌ای را برطرف می‌کند. مقایسه میانگین صفات در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون توکی در نرم افزار SPSS 22 انجام گرفت. جهت تأیید کلاستربندی، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) و تجزیه تابع تشخیص

(Discriminant function analysis) در نرم افزار SPSS 22 انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه‌ی واریانس (داده ها ارائه نشده است) نشان داد که تمامی صفات گیاهچه‌ای مورد مطالعه شامل طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تأثیر ژنوتیپ، شوری و اثر متقابل آن دو می‌باشند که نشان‌گر وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. وجود تنوع ژنتیکی در واکنش ژنوتیپ‌های مختلف آفتابگردان به تنش شوری توسط حسین و همکاران (Hussain, *et al*., 2011) نیز گزارش شده است. تنوع مبنای همه گزینش‌هاست. با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در یک جامعه، حدود انتخاب چه طبیعی و مصنوعی وسیع‌تر می‌شود. با توجه به رابطه‌ی مثبت در بین کمیت تنوع ژنتیکی و مقدار تغییرات تکاملی در آن رابطه مشابهی نیز در بین کارایی بهبود ژنتیکی یک جامعه و تنوع ژنتیکی برای صفت مورد مطالعه موجود است (Gepts & Papa, 2003). از مجموع ۷۷ لاین مورد مطالعه، نزدیک به ۳۳ لاین با اعمال تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) از بین رفتند و ۴۴ لاین توانستند بقای خود را در سطح شوری ۶ (دسی‌زیمنس بر متر) حفظ کنند (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات مربوط به رشد و نمو گیاهچه‌ها در لاین‌های خالص نوترکیب آفتابگردان در شرایط نرمال و تنش شوری

Tabe 1- Mean comparison of traits related to seedling growth and development in sunflower recombinant inbred lines in normal and salt stress conditions

Line	Root L		Shoot L		RFW		SFW		RDW		SDW	
	0	6 dS/m	0	6 dS/m	0	6 dS/m	0	6dS/m	0	6 dS/m	0	6 dS/m
C100	2.74	-	4.93	-	0.03	-	0.26	-	0.004	-	0.006	-
C101	4.24	-	6.35	-	0.16	-	0.21	-	0.009	-	0.01	-
C104	6.32	-	5.15	-	0.06	-	0.13	-	0.002	-	0.004	-
C105	3.49	3.24	5.45	3.13	0.05	0.05	0.20	0.07	0.003	0.003	0.007	0.005
C106	12.63	2.10	7.50	1.37	0.21	0.01	0.26	0.03	0.008	0.006	0.01	0.007
C107a	8.90	5.31	9.18	5.65	0.15	0.13	0.11	0.13	0.004	0.008	0.004	0.010
C108	6.82	1.83	6	1.26	0.16	0.007	0.16	0.02	0.003	0.002	0.007	0.006
C111	12.86	2.71	8.51	1.37	0.08	0.03	0.23	0.03	0.006	0.004	0.008	0.005
C112	4.19	4.93	6.22	2.36	0.05	0.03	0.16	0.04	0.002	0.003	0.007	0.005
C113	6.17	-	6.42	-	0.14	-	0.13	-	0.003	-	0.005	-
C115	9.91	2.21	5.15	1.35	0.14	0.02	0.18	0.03	0.007	0.003	0.02	0.005
C120	4.62	-	4.27	-	0.07	-	0.20	-	0.008	-	0.01	-
C124	8.85	-	7.04	-	0.09	-	0.07	-	0.005	-	0.004	-
C125a	4.12	-	5.60	-	0.06	-	0.25	-	0.005	-	0.01	-
C125b	5.88	2.71	8.48	1.70	0.09	0.02	0.18	0.02	0.004	0.003	0.007	0.003
C126	2.96	2.95	4.25	1.9	0.03	0.03	0.16	0.05	0.005	0.004	0.009	0.005
C127a	4.34	-	6.81	-	0.11	-	0.15	-	0.007	-	0.007	-
C128	4.76	-	6.52	-	0.12	-	0.10	-	0.001	-	0.005	-
C129	6.83	-	7.79	6.03	0.22	0.22	0.18	0.14	0.012	0.008	0.01	0.009
C130b	6.63	-	9.09	-	0.13	-	0.17	-	0.003	-	0.003	-
C134a	4.68	-	5.91	-	0.07	-	0.25	-	0.005	-	0.01	-
C138	3.42	2.8	6.32	3.22	0.04	0.06	0.17	0.13	0.007	0.006	0.005	0.01
C141b	5.82	3.34	5.85	1.38	0.18	0.02	0.3	0.02	0.003	0.004	0.01	0.004
C142	5.60	-	9.08	-	0.18	-	0.19	-	0.008	-	0.010	-
C147	4.65	-	5.46	-	0.05	-	0.17	-	0.003	-	0.007	-
C148	5.33	-	5.88	-	0.08	-	0.18	-	0.005	-	0.008	-
C150	5.67	-	5.25	-	0.11	-	0.18	-	0.007	-	0.01	-
C153	7.88	1.45	6.18	1.24	0.11	0.1	0.34	0.02	0.004	0.003	0.012	0.004
C153b	5.43	-	7.48	-	0.06	-	0.17	-	0.007	-	0.009	-
C40	5	8.54	4.50	3.45	0.12	0.01	0.14	0.08	0.001	0.008	0.006	0.007
C41	5.73	-	5.42	-	0.09	-	0.14	-	0.006	-	0.007	-
C54	8.21	-	6.42	-	0.14	-	0.2	-	0.039	-	0.004	-
C55	6.96	5.45	9.79	7.67	0.17	0.05	0.14	0.10	0.003	0.006	0.009	0.006
C59	7.18	6.3	6.17	2.29	0.08	0.05	0.07	-	0.006	-	0.008	-

ادامه جدول ۱- مقایسه میانگین صفات مربوط به رشد و نمو گیاهچه‌ها در لاین‌های خالص نوترکیب آفتابگردان در شرایط نرمال و تنش شوری

Continuance of Tabe 1- Mean comparison of traits related to seedling growth and development in sunflower recombinant inbred lines in normal and salt stress conditions

Line	Root L		Shoot L		RFW		SFW		RDW		SDW	
	0	6 dS/m	0	6 dS/m	0	6 dS/m	0	6 S/m	0	6 dS/m	0	6 dS/m
C60b	6.15	-	5.46	-	0.14	-	0.20	-	0.004	-	0.006	-
C61	11.93	4.55	6.12	3.5	0.14	0.08	0.09	0.07	0.003	0.006	0.006	0.006
C62	10.87	-	7.36	-	0.21	-	0.14	-	0.004	-	0.008	-
C70a	5.60	3.56	5.82	1.32	0.08	0.02	0.20	0.02	0.004	0.002	0.006	0.006
C74	8.13	-	5.21	-	0.09	-	0.21	-	0.007	-	0.009	-
C76	8.51	6.78	7.18	5.87	0.12	0.14	0.13	0.12	0.005	0.006	0.007	0.007
C79	6.36	4.05	6.33	1.7	0.08	0.02	0.23	0.03	0.007	0.003	0.009	0.005
C80	6.96	7.08	6.13	5.3	0.15	0.08	0.11	0.09	0.005	0.005	0.004	0.004
C81	5.23	6.23	4.75	3.59	0.06	0.05	0.16	0.05	0.005	0.003	0.007	0.005
C82	7.95	6.7	5.67	4.87	0.13	0.07	0.29	0.09	0.008	0.009	0.009	0.007
C83	8.43	10.65	5.17	4.6	0.09	0.11	0.11	0.11	0.005	0.007	0.007	0.008
C86	7.07	11.46	5.87	8.8	0.10	0.11	0.14	0.16	0.001	0.007	0.007	0.009
C88	6.16	1.36	6.78	0.88	0.09	0.01	0.09	0.01	0.008	0.002	0.01	0.003
C92	3.30	2.11	4	2	0.06	0.07	0.12	0.05	0.004	0.002	0.004	0.005
C93	10.4	-	8.48	-	0.08	-	0.20	-	0.003	-	0.009	-
C94	3.34	-	5.27	-	0.05	-	0.12	-	0.004	-	0.006	-
C95	8	2.65	6.83	1.42	0.09	0.02	0.18	0.03	0.004	0.003	0.01	0.005
C98a	7.51	9.64	9.1	6.29	0.21	0.08	0.29	0.13	0.009	0.007	0.013	0.010
C98b	6.52	2.3	8.81	2.008	0.06	0.01	0.27	0.04	0.006	0.002	0.014	0.005
LR1	12.2	-	5.30	-	0.26	-	0.16	-	0.003	-	0.008	-
LR19	8.65	-	7.78	-	0.10	-	0.21	-	0.005	-	0.011	-
LR25	8.14	1.08	7.85	0.79	0.13	0.012	0.27	0.02	0.004	0.002	0.012	-
LR25a	2.48	-	4.71	-	0.03	-	0.18	-	0.006	-	0.007	-
LR29	6.95	2.73	7.73	1.1	0.12	0.019	0.16	0.019	0.005	0.004	0.010	0.005
LR30	11.4	-	7.25	-	0.1	-	0.16	-	0.004	-	0.007	-
LR32	11.4	-	7.79	-	0.15	-	0.13	-	0.003	-	0.005	-
LR34	3.33	1.83	5.17	1.61	0.38	0.018	0.11	0.03	0.003	0.003	0.006	0.004
LR39	7.78	-	6.80		0.14	-	0.17	-	0.005	-	0.008	-
LR4	7.07	3.77	5.63	2.03	0.12	0.05	0.10	0.06	0.003	0.004	0.005	0.008
LR41a	5.37	-	5.08	-	0.09	-	0.11	-	0.006	-	0.006	-
LR44	10.7	-	6.43	-	0.07	-	0.22	-	0.003	-	0.013	-
LR45	9.17	-	7.70	-	0.12	0.01	0.14	0.05	0.009	0.003	0.006	0.008
LR46	6.39	1.91	5.43	1.31	0.09	0.01	0.14	0.02	0.005	0.003	0.007	0.005
LR5	5.53	1.91	8.48	1.34	0.14	0.01	0.23	0.02	0.005	0.003	0.008	0.004
LR51	5.20	3.94	7.78	5.58	0.06	0.10	0.30	0.10	0.006	0.006	0.014	0.005
LR53	4.84	4.44	5.64	5.008	0.10	0.08	0.15	0.09	0.003	0.003	0.010	0.005
LR55	9.31	7.8	6.55	6.05	0.11	0.07	0.14	0.10	0.006	0.005	0.005	0.008
LR57	11.2	7.09	8.34	1.92	0.06	0.04	0.11	0.04	0.005	0.006	0.006	0.006
LR62	7.56	-	6.13	-	0.07	-	0.08	-	0.002	-	0.005	-
LR63	8.40	-	6.91	-	0.12	-	0.14	-	0.005	-	0.006	-
LR64	6.82	2.43	6.78	0.74	0.11	0.01	0.24	0.04	0.010	0.003	0.015	0.008
LR67	8.25	3.35	5.99	2.06	0.13	0.02	0.11	0.03	0.004	0.003	0.008	0.009
LR7	7.50	8.37	8.13	6.39	0.06	0.09	0.17	0.15	0.002	0.004	0.007	0.009
PAC2	6.39	0	5.6	0	0.04	0	0.13	0	0.004	0	0.006	0
RHA266	5.64	0	3.59	0	0.14	0	0.13	0	0.009	0	0.007	0

Root L: طول ریشه‌چه، Shoot L: طول ساقه‌چه، RFW: وزن تر ریشه‌چه، SFW: وزن تر ساقه‌چه، RDW: وزن خشک ریشه‌چه، SDW: وزن خشک ساقه‌چه.

بررسی میانگین لاین‌ها (جدول ۲) نشان می‌دهد که در مقایسه با شرایط نرمال، در تنش شوری میانگین کلیه صفات مورد مطالعه کاهش یافته است به‌طوری‌که برای صفت طول ریشه‌چه میانگین لاین‌ها از ۶/۹۰ به ۴/۴۷، برای طول ساقه‌چه از ۶/۵۳ به ۳/۱۰ کاهش یافته است که این نتایج هم‌سو با مطالعات (Nasir Khan *et al*., 2007) می‌باشد. در تحقیقی، نور و همکاران (Noori *et al*., 2001) در بررسی اثر تنش شوری بر طول ریشه‌چه یازده رقم

پنبه نشان دادند که طول ریشه‌چه حساس‌ترین قسمت گیاه نسبت به تنش شوری بوده و تحت شرایط تنش شوری عملکرد هورمون سیتوکینین در ریشه‌چه متوقف شده و طول ریشه‌چه کاهش می‌یابد بنابراین طول ریشه-چه معیار مناسبی برای اندازه‌گیری تحمل به تنش شوری در گیاهان است. برخی از محققان کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تأثیر شوری را ناشی از تأخیر جوانه‌زنی بذور و اثرات سمیت ناشی از تجمع یون‌های کلرید و سدیم و اثرات اسمزی ذکر می‌کنند (Jamil *et al*., 2006). افزایش شوری، کاهش رشد ریشه را نسبت به اندام هوایی کمتر تحریک نموده و این مسأله ممکن است بیان‌گر توانایی بیشتر ریشه‌ها برای تنظیم اسمزی و محافظت مناسب‌تر در برابر تنش اکسیداتیوی تحت شرایط شوری می‌باشد (Carlos *et al*., 2008).

میانگین لاین‌ها برای صفات وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه به‌ترتیب از ۰/۱۱۵ به ۰۵۵/ و ۱۷۹/ به ۰/۰۶۶ و برای صفات وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه به‌ترتیب از ۰/۰۰۵ به ۰۰۴/ و ۰۰۸/ به ۰۰۶/ کاهش یافته است. کاهش در وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه با مطالعات (Stephan *et al*., 2002; Akram *et al*., 2007; Bunyamin *et al*., 2008; Bybordi & Tabatabaei, 2009; Tuncturk *et al*., 2011; Karimi *et al*., 2011) مطابقت دارد و نیز بررسی‌ها در مورد گیاه برنج نشان داده است که معمولاً تنش شوری منجر به کاهش وزن خشک و تر ریشه و اندام هوایی می-گردد (Bunyamin *et al*., 2008). چائوهان و همکاران (Chauhan *et al*., 2012) نیز با بررسی تحمل به شوری ۱۳ رقم سورگوم علوفه‌ای گزارش کردند که با افزایش غلظت شوری رشد گیاهچه‌ها در همه ارقام کاهش می‌یابد. طی تحقیقی که بر روی تأثیر تنش شوری بر گیاه برنج صورت گرفته است، مشخص شد که شوری ناشی از نمک-های کلرید، تقسیم سلولی را محدود می‌نماید و در نتیجه صفات مربوط به رشد را شدیداً کاهش می‌دهد (Ashrafijou *et al*., 2010). با توجه به جدول ۲، لاین C86 برای اکثریت صفات مورد بررسی دارای بیشترین میانگین می‌باشد و به‌عنوان متحمل‌ترین لاین به تنش شوری در نظر گرفته می‌شود. در مرتبه بعدی لاین‌های C129، C82، C98a و C138 را می‌توان به‌عنوان لاین‌های متحمل به شوری در نظر گرفت.

جدول ۲- رتبه‌بندی لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان بر اساس صفات مربوط به رشد و نمو گیاهچه‌ها در شرایط نرمال و تنش شوری

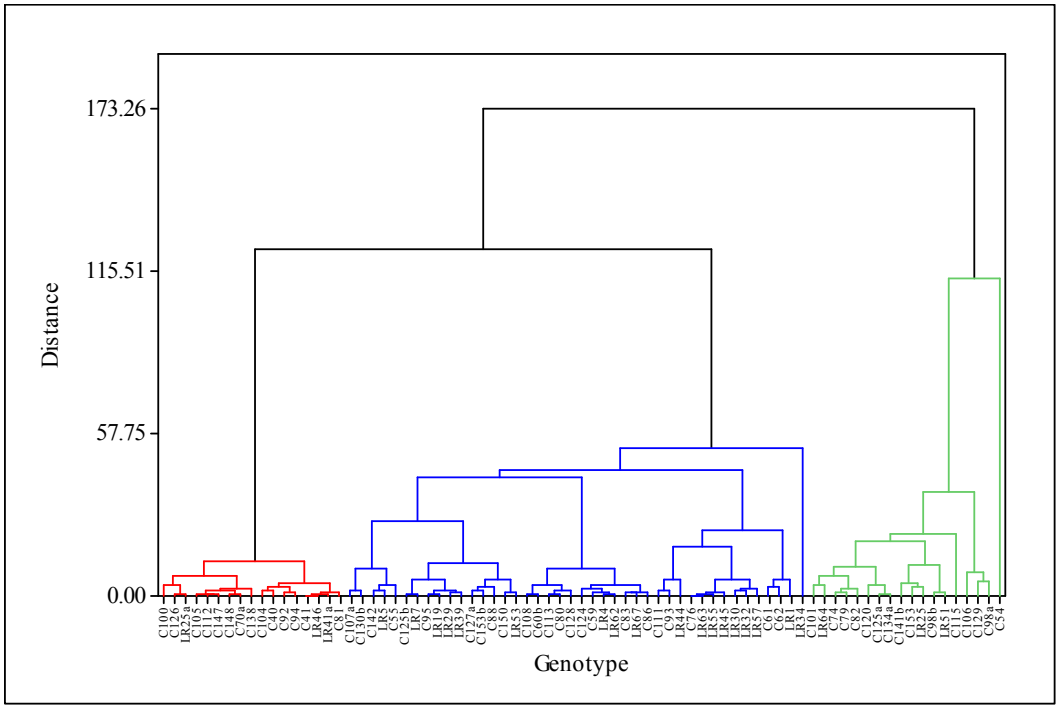
Table 2- Ranking of sunflower recombinant inbred lines based on seedling growth and developmental traits in normal and salt stress conditions

	Root L	Shoot L	RFW	SFW	RDW	SDW
			Non salt stress condition (شرایط بدون تنش شوری)			
Min	2.48	4	0.03	0.07	0.001	0.003
Min Example	LR25a	C92	LR25a	C124	C108	C13b
Max	12.86	9.79	0.38	0.34	0.03	0.02
Max Example	C111	C55	LR34	C125	C54	C111
Std±Mean	2.48±6.90	1.34±6.53	0.056±0.115	0.058±0.179	0.004±0.005	0.001±0.006
			Salt stress condition (شرایط تنش شوری)			
Min	1.08	0.74	0.007	0.01	0.002	0.003
Min Example	LR25	LR64	C108	C88	C108,C92	C88, C125a
Max	11.46	8.8	0.22	0.16	0.009	0.01
Max Example	C86	C86	C129	C86	C82	C98a, C138
Std±Mean	2.66±4.47	2.13±3.10	0.045±0.05	0.04±0.06	0.001±0.004	0.003±0.008

Root L: طول ریشه‌چه، Shoot L: طول ساقه‌چه، RFW: وزن تر ریشه‌چه، SFW: وزن تر ساقه‌چه، RDW: وزن خشک ریشه‌چه، SDW: وزن خشک ساقه‌چه، Min: لاین حساس، Max: لاین متحمل، Mean: میانگین لاین‌ها، Std: انحراف استاندارد

در شرایط نرمال (شوری صفر) میانگین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه لاین C92 کمتر از والدین و در مقابل برای این صفات میانگین لاین‌های C110، C106، C107a، C124 و C129 بیشتر از والدین بودند. از نظر صفات وزن تر ریشه-چه لاین‌های C100، C89 و LR25a دارای میانگین کمتر از والدین بودند. برای صفات وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه،

لاین‌های C106، C108 و C129 دارای میانگین بیشتر از والدین بودند. از نظر صفت وزن خشک ساقه‌چه، لاین‌های C100، C70a و C124 دارای میانگین کمتر از والدین بودند. برای صفات وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه لاین‌های C104 و C130b دارای میانگین کمتر از والدین و لاین‌های C111، C120، C129 و C142 دارای میانگین بیشتر از والدین بودند. با اعمال تنش شوری هیچ گونه جوانه‌زنی و رشد در ارقام والدی (PAC2 و RHA266) مشاهده نشد و میانگین تمامی صفات مورد مطالعه در RILها بیشتر از میانگین والدین بود. مشاهده لاین‌هایی با میانگین کمتر و بیشتر از والدین برای صفات مورد مطالعه در شرایط نرمال و تنش شوری اشاره به پدیده تفکیک متجاوز برای مقاومت به شوری در جمعیت مورد مطالعه دارد. وقوع پدیده تفکیک متجاوز در نتیجه به اشتراک گذاشتن ژن‌های متفاوت تحمل به شوری از طریق والدین و هم‌چنین ماهیت پلی‌ژنی بودن صفت تحمل به شوری می‌باشد (Dashti *et al*., 2010) که می‌توان لاین‌های امید بخش از نظر صفات مورد مطالعه را شناسایی و از آن‌ها در جهت هرمی نمودن ژن‌های مربوطه در یک زمینه ژنتیکی استفاده کرد. وجود پدیده‌ی تفکیک متجاوز برای مقاومت به عامل کپک پودری در توتون شرقی (Darvishzadeh *et al*., 2010)، مقاومت به عامل ساقه سیاه فوما در آفتابگردان (Rachid *et al*., 2002; Bert *et al*., 2004; Darvishzadeh *et al*., 2007) و نیز مقاومت نسبی به قارچ اسکلروتینا در همان گیاه (Micici *et al*., 2005; Davar *et al*., 2010) گزارش شده است.

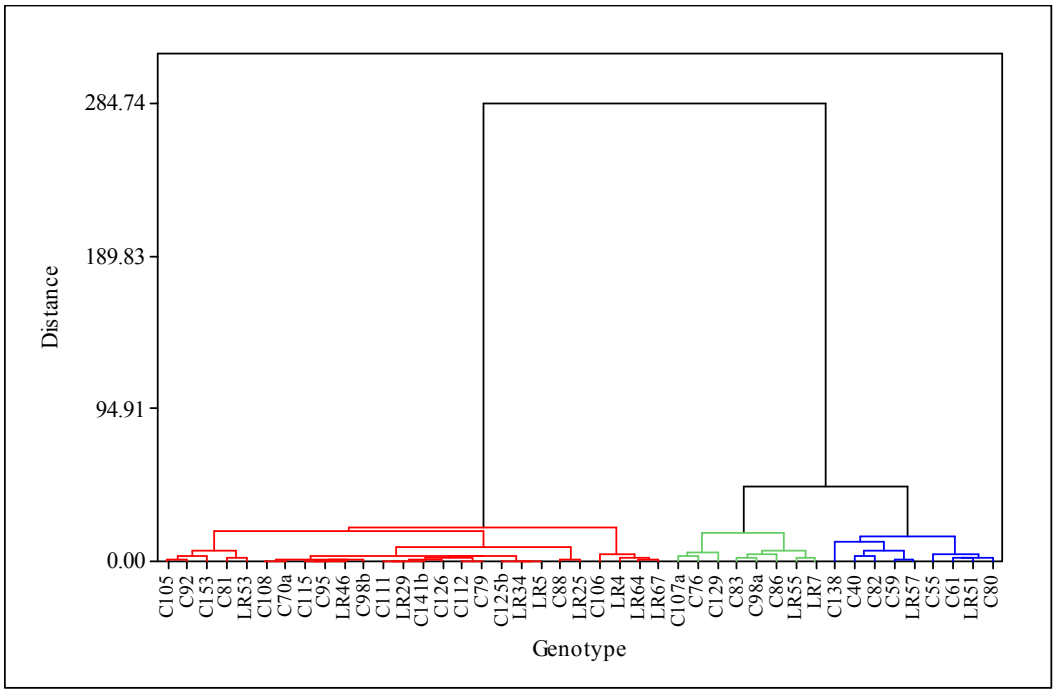


شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب براساس صفات گیاهچه‌ای در شرایط بدون تنش شوری

Figure 1- Dendrogram resulting from cluster analysis of recombinant inbred lines on seedling traits in non salt stress conditions

گروه‌بندی لاین‌ها با در نظر گرفتن تمامی صفات مورد مطالعه به صورت یک‌جا با استفاده از فواصل مربع اقلیدسی (Squared Euclidean) و روش Ward در نرم افزار Minitab 16 در شرایط غیر تنش (شکل ۱) و تنش شوری (شکل ۲) انجام گرفت. همان‌طور که در جدول ۳ دیده می‌شود تمامی لاین‌ها در ۳ خوشه گروه‌بندی شدند. در شرایط بدون تنش در خوشه اول، دوم و سوم به‌ترتیب ۱۷، ۱۸ و ۴۲ لاین و در شرایط تنش شوری به‌ترتیب ۲۶، ۸ و ۹ لاین در خوشه‌های مربوطه قرار گرفتند. بیشترین فاصله در شرایط بدون تنش بین خوشه ۱ با ۲ به میزان ۳/۰۷ و در شرایط تنش به میزان۴/۸۴ به‌دست آمد که در واقع ناشی از وجود تنوع ژنتیکی بین ۲ مجموعه لاین‌های

موجود در این دو خوشه می‌باشد. تنوع ژنتیکی، به‌نژادگران گیاهی را قادر می‌سازد تا به واسطه انتخاب و اصلاح، گیاهانی جدید و با عملکرد بیشتر را تولید کنند که به تغییرات محیطی مانند شوری و ... سازگار باشند (Faraghei *et al.*, 2007). این اطلاعات برای تعیین والدین مناسب در برنامه‌های دورگ‌گیری مفید می‌باشد. با توجه به فاصله زیاد بین ۲ خوشه ۱ و ۲ احتمالاً بیشترین موفقیت در تلاقی بین لاین‌های این دو گروه به‌دست خواهد آمد. با توجه به مقایسه میانگین خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از آزمون توکی (جدول ۴) در شرایط تنش شوری و غیر شوری بیشترین مقدار میانگین-ها برای اکثریت صفات با تفاوت معنی‌دار به‌ترتیب در خوشه ۲، ۳ و کمترین مقدار میانگین‌ها در هر دو شرایط تنش شوری و غیر شوری در خوشه ۱ قابل مشاهده است.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های خویش‌آمیخته نوترکیب براساس صفات گیاهچه‌ای در شرایط تنش شوری

Figure 2- Dendrogram resulting from cluster analysis of recombinant inbred lines on seedling traits in salt stress conditions

جدول ۳- فواصل محاسبه شده بین کلاسترها به روش مربع اقلیدسی و Ward

Table 3- Distance calculated between clusters with Square Euclidean and Ward method

	تعداد لاین در کلاستر Number of line in cluster	کلاستر ۱ Cluster 1	کلاستر ۲ Cluster 2	کلاستر ۳ Cluster 3
Non salt stress conditions (شرایط بدون تنش شوری)				
کلاستر ۱ Cluster 1	17	0		
کلاستر ۲ Cluster 2	18	3.07	0	
کلاستر ۳ Cluster 3	42	2.25	2.54	0
Salt stress conditions (شرایط تنش شوری)				
کلاستر ۱ Cluster 1	26	0		
کلاستر ۲ Cluster 2	8	4.84	0	
کلاستر ۳ Cluster 3	9	2.81	2.35	0

جدول ۴- مقایسه‌ی میانگین کلاسترها با استفاده از آزمون توکی

Table 4- Mean comparison between clusters using Tukey test

صفات (Properties)	میانگین (Average)		
	کلاستر ۱ Cluster 1	کلاستر ۲ Cluster 2	کلاستر ۳ Cluster 3
شرایط بدون تنش شوری (Non salt stress conditions)			
طول ریشه‌چه (Root length)	4.44[b]	6.97[a]	7.90[a]
طول ساقه‌چه (Shoot length)	5.21[b]	6.58[a]	7.02[a]
وزن تر ریشه‌چه (Root fresh weight)	0.07[b]	0.13[a]	0.13[a]
وزن تر ساقه‌چه (Shoot fresh weight)	0.17[b]	0.25[a]	0.15[b]
وزن خشک ریشه‌چه (Root dry weight)	0.004[b]	0.009[a]	0.004[b]
وزن خشک ساقه‌چه (Shoot dry weight)	0.006[b]	0.01[a]	0.007[b]
شرایط تنش شوری (Salt stress condition)			
طول ریشه‌چه (Root length)	3.35[b]	7.06[a]	5.42[ab]
طول ساقه‌چه (Shoot length)	2.11[b]	5.22[a]	4.11[a]
وزن تر ریشه‌چه (Root fresh weight)	0.04[b]	0.11[a]	0.06[b]
وزن تر ساقه‌چه (Shoot fresh weight)	0.05[b]	0.11[a]	0.09[b]
وزن خشک ریشه‌چه (Root dry weight)	0.003[b]	0.006[a]	0.006[a]
وزن خشک ساقه‌چه (Shoot dry weight)	0.005[b]	0.008[a]	0.006[ab]

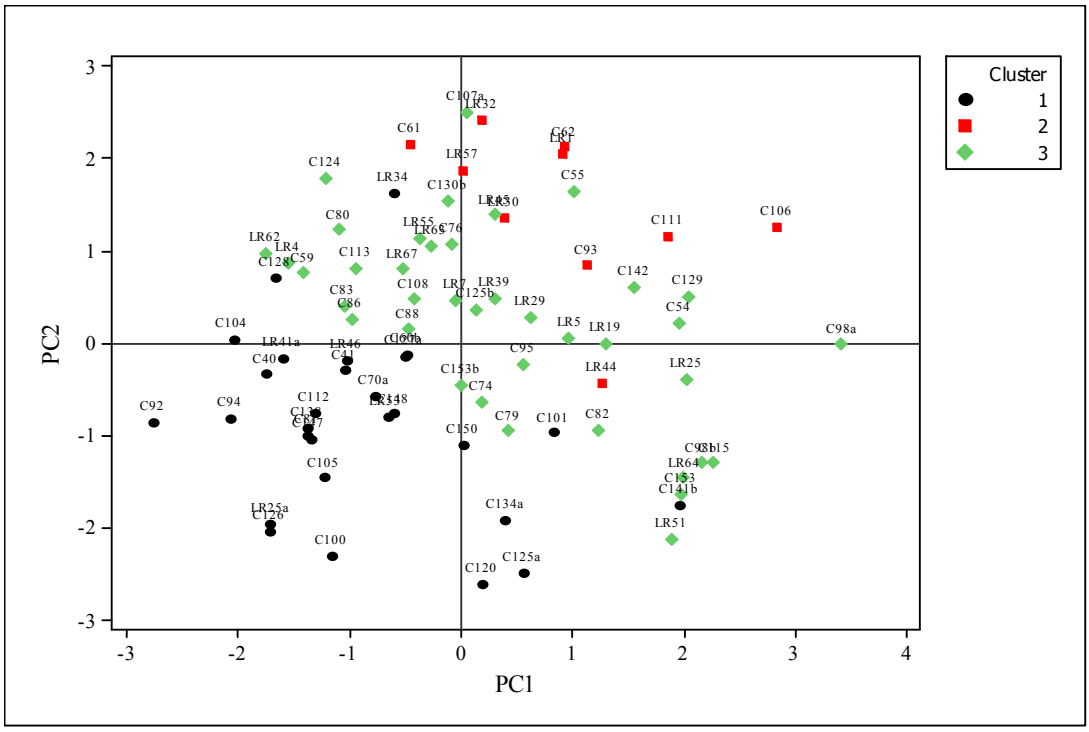
حروف مشترک در هر ردیف بیانگر عدم اختلاف بین کلاسترها می‌باشد.

گروه‌بندی لاین‌های مورد مطالعه براساس دو مؤلفه اول حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از بای‌پلات دو بعدی نیز انجام گرفته است (شکل ۳ و ۴). نتایج نشان می‌دهد لاین‌های مورد مطالعه در نواحی متمایز بر اساس مقادیر این دو مؤلفه گروه‌بندی شدند. تطابق گروه‌بندی براساس پلات دو بعدی، با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای در این مطالعه در توافق با گزارش‌هایی از سایر گیاهان از قبیل توتون‌های شرقی (Hatami Maleki *et al.*, 2012) و فستوکا (Afkar *et al.*, 2009) می‌باشد. برای بررسی صحت گروه‌بندی‌های انجام شده، از تجزیه تابع تشخیص استفاده شد که نتایج حاصل در جدول ۵ نمایش داده شده است. نتایج به‌دست آمده حاکی از آن است‌که اکثر ژنوتیپ‌های مورد بررسی به طور صحیح گروه‌بندی شده‌اند و میزان موفقیت در شرایط غیر تنش برای خوشه‌های ۱ و ۲، ۱۰۰٪ و برای خوشه ۳، ۹۰٪ می‌باشد و در شرایط تنش شوری میزان موفقیت در خوشه‌بندی برای خوشه‌های ۱ و ۲ بیشتر از ۸۵ درصد و برای خوشه ۳ بیشتر از ۷۷٪ به‌دست آمد. جاینز و همکاران (Jaynes *et al.*, 2003) در تحقیقی که با استفاده از داده‌های مزرعه‌ای در ذرت انجام دادند، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در ۵ گروه دسته‌بندی کردند و با تجزیه تابع تشخیص نشان دادند که ۸۰٪ از گروه‌بندی انجام گرفته صحیح بوده است. موردا و همکاران (Moreda *et al.*, 2003) با انجام تجزیه کلاستر به روش حداقل واریانس وارد و معیار فاصله اقلیدسی، ۸۵ نمونه چای را در دو گروه آسیایی و آفریقایی گروه‌بندی نمودند و سپس با تجزیه تابع تشخیص نشان دادند که ۹۴/۴٪ از این گروه‌بندی صحیح انجام شده است. صفری و همکاران (Safari *et al.*, 2008) بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد و معیار فاصله اقلیدسی ارقام بادام زمینی را در ۳ گروه مجزا قرار دادند و برای بررسی صحت گروه‌بندی از تابع تشخیص استفاده نمودند و بیان داشتند که تمامی ارقام به‌طور صحیحی گروه‌بندی شدند و میزان موفقیت تابع تشخیص ۱۰۰٪ بوده است. تجزیه تابع تشخیص برای آزمون صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط محققین دیگر نیز استفاده شده است (Rabii *et al.*, 2009; Saburi *et al.*, 2008)

جدول ۵- بررسی صحت کلاستربندی با استفاده از تجزیه تابع تشخیص در شرایط نرمال و تنش شوری

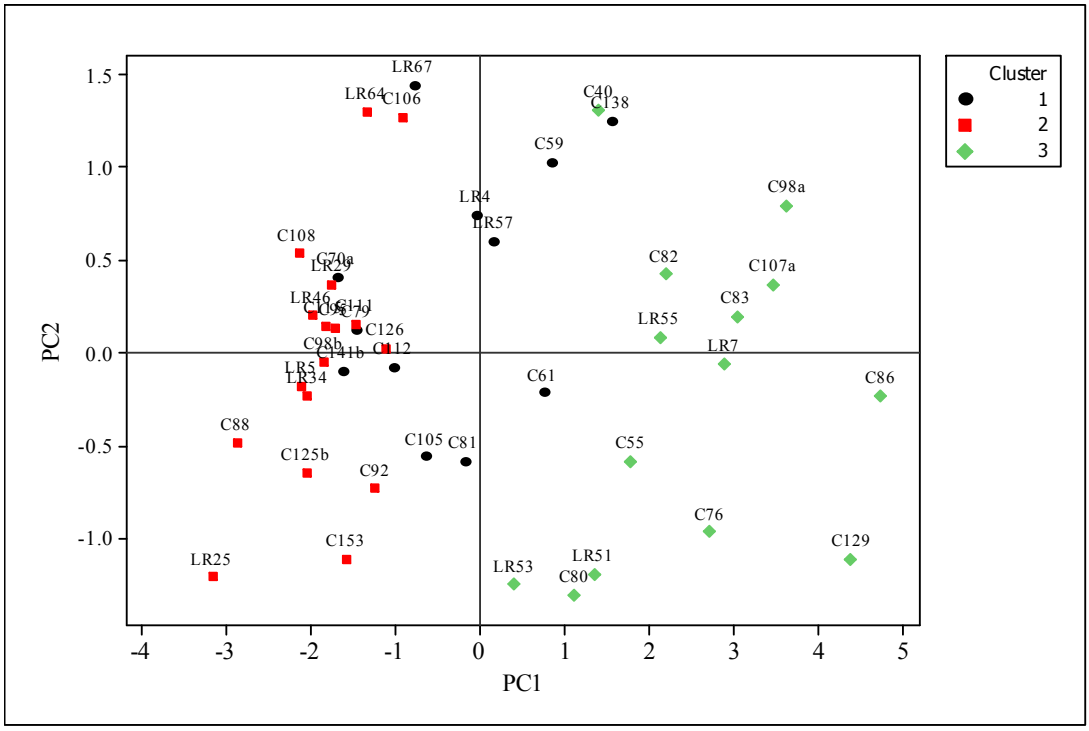
Table 5- Determination of clustering accuracy using discriminant function analysis in normal and salt stress conditions

گروه‌بندی (Grouping)		اعضای گروه 1	2	3	جمع کل (Total)
Non salt stress conditions (شرایط بدون تنش شوری)					
اصلی Basic	مجموع (Total)	1	17	0	0	17
		2	0	18	0	18
		3	2	2	38	42
	درصد (٪)	1	100	0	0	100
		2	0	100	0	100
		3	4.8	4.8	90.5	100
Salt stress conditions (شرایط تنش شوری)					
اصلی Basic	مجموع (Total)	1	23	2	1	26
		2	1	7	0	8
		3	2	0	7	9
	درصد (٪)	1	88.5	7.7	3.8	100
		2	12.5	87.5	0	100
		3	22.2	0	77.8	100



شکل ۳- نمودار پراکنش لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان براساس دو مؤلفه اول و دوم تجزیه به مولفه های اصلی روی صفات گیاهچه‌ای در شرایط بدون تنش شوری

Figure 3- The scatter plot of sunflower recombinant inbred lines based on the first and second components of principal component analysis on seedling traits in non salt stress conditions



شکل ۴- نمودار پراکنش لاین‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان براساس مؤلفه اول و دوم تجزیه به مولفه های اصلی روی صفات گیاهچه‌ای در شرایط تنش شوری

Figure 4- The scatter plot of sunflower recombinant inbred lines based on the first and second components of principal component analysis on seedling traits in salt stress conditions

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه حاکی از وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. از مجموع ۷۷ لاین خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان، با اعمال تنش شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر، ۴۳٪ لاین‌ها قادر به جوانه‌زنی نشدند و ۵۷٪ لاین‌ها (۴۴ لاین) توانستند قدرت زنده‌مانی خود را حفظ کنند. بنابراین می‌توان از لاین‌های متحمل، به‌عنوان والد در برنامه‌های دورگ‌گیری برای تولید ارقام هیبرید استفاده نمود. همچنین با بهره‌مندی از تکنولوژی نشان‌گرهای مولکولی می‌توان مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات مرتبط با شوری و نیز ژن‌های مرتبط با شاخص‌های تحمل به شوری را مشخص نمود. شناسایی نشان‌گرهای مولکولی به‌ویژه شناسایی QTLهای هم‌مکان (که بهبود هم‌زمان صفات مختلف را امکان‌پذیر می‌سازد) به اصلاح‌گران نبات این امکان را می‌دهد که گزینش گیاهان را در شرایط نرمال انجام داده و عملکرد را در هر دو محیط (تنش و غیر تنش) بهبود ببخشند.

References

Afkar S, Karimzadeh G and Jafari AA. 2009. Morphological variation in seed yield and its components in a number of genotypes fescue (*Festuca arundinacea* L.) using multivariate statistical techniques. Iranian Journal of Crop Science, 40: 151- 160 (in Persian).

Akram MS, Athar HUR and Ashraf M. 2007. Improving growth and yield of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by foliar application of potassium hydroxide (KOH) under salt stress. Pakistan Journal of Botany, 39: 769- 776.

Ashraf M and Harris PJC. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science Journal, 166: 3– 16.

Ashrafijou M, Sadat Noori SA, Izadi Darbandi A and Saghafi S. 2010. Effect of salinity and radiation on proline accumulation in seeds of canola (*Brassica napus* L.). Plant, Soil and Environment, 56: 312- 317.

Bert PF, Dechamp-Guillaume G, Serre F, Jouan I, De Labrouhe DT, Nicolas P and Vear F. 2004. Comparative genetic analysis of quantitative traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.) 3. Characterisation of QTL involved in resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Phoma macdonaldii*. Theoretical and Applied Genetics, 109: 865– 874.

Bunyamin Y, Yaser F, Oz Pay T, Turkozu D, Terziodlu O and Tamkoc A. 2008. Variations in response to salt stress among field pea genotypes (*Pisum sativum* Sp. Arvense L.). Journal Animal and Veterinary Advances, 7: 907- 910.

Bybordi A and Tabatabaei J. 2009. Effect of salinity stress on germination and seedling properties in canola cultivars (*Brassica napus* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37: 71- 76.

Carlos EBDA, Prisco JT, Nogueria ARC, Bezerra MA, Lacerda CFD and Filho EG. 2008. Physiological and biological changes occurring in dwarf-cashew seedling subjectedto salt stress. Brazilian Journal of Plant Physiology, 20: 105- 118.

Chauhan RR, Chaudhary R, Singh A and Singh PK. 2012. Salt tolerance of Sorghum bicolor cultivars during germination and seedling growth. Research Journal Recent Science, 1: 1- 10.

Choukr AR. 1996. The potential halophytes in the development and rehabiliation of arid and semiarid zones. In: Malcolm CV and Atef Hamdy (eds). Halophytes and Biosaline Agriculture, pp:3-13.

Darvishzadeh R, Alavi R and Sarrafi A. 2010. Resistance to powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum* DC.) in oriental and semi-oriental tobacco germplasms under field condition. Crop Improvement Journal, 24: 122- 130.

Darvishzadeh R, Poormohammad Kiani S, Dechamp- Guillaume G, Gentzbittel L and Sarrafi A. 2007. Quantitative trait loci associated with isolate specific and isolate nonspecific partial resistance to *Phoma macdonaldii* in sunflower. Plant Pathology, 56: 855– 861.

Dashti H, Naghavi MR and Tajabadipour A. 2010. Genetic analysis of salinity tolerance in a bread wheat cross. Journal of Agricultural Science and Technological, 12: 347- 356 (in Persian).

Davar R, Darvishzadeh R, Majd A, Gousta Y and Sarrafi A. 2010. QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. Phytopathologia Mediterranea, 49: 330–341.

Faraghei Sh, Farshadfar M and Farshadfar E. 2007. Study of chemical composition and nutrition value of perennial Lucerne (*Medicago sativa* L.) and genetic diversity based on SDS- PAGE marker. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 15: 196- 210.

Gepts P. and Papa R. 2003. Possible effects of (trans) gene flow from crops on the genetic diversity from landraces and wild relatives. Environment Biosafety Research, 2: 89-103.

Hailu F, Merker A, Singh H, Belay G, Johansson E. 2006. Multivariate analysis of diversity of tetraploid wheat germplasm from Ethiopia. Genet. Resour. Crop Evolution, 54: 83- 97.

Hatami-Maleki H, Karimzadeh G, Darvishzadeh R and Alavi R. 2012. Genetic variation of oriental tobaccos using multivariate analysis. Iran Field Crop Research, 10: 100-106 (in Persian).

Hu J, Seiler G and Kole C. 2010. Genetics, genomics and breeding of sunflower. Routledge, USA, 342 p.

Hussain SA, Akhtar J, Anwar-ul-haq M and Ahmad R. 2011. Growth, yield and ionic concentration of two sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes exposed to brackish water irrigation. Soil and Environment, 30: 58-65.

Jamil M, Lee DB, Jung KY, Ashraf M, Lee SC and Rha ES. 2006. Effec of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. Journal of Central European Agriculture, 7: 273-282.

Jaynes DB, Kaspar TC, Colvin TS and James DE. 2003. Cluster analysis of spatiotemporal corn yield patterns in an Iowa field. Agronomy Journal, 95: 574-586.

Kader MA and Jutzi SC. 2004. Effects of thermal and salt treatments during imbibition on germination and seedling growth of sorghum at 42/19˚C. Journal of Agronomy and Crop Science, 190: 35-38.

Kajhpour M. 2006. Industrial plants, second edition. Isfahan University Jihad Unit, 250p (in Persian).

Karimi N, Soheilikhah Z, Ghasmpour HR and Zebarjadi AR. 2011. Effect of salinity stress on germination and early seedling growth of different safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. Journal of Ecobiotechnology, 3: 7-13.

Khan MM, Iqbal MJ, Abbas M, Raza H, Waseem R and Ali A. 2004. Loss of vigour and viability in aged onion (*Alliumcepa* L.) seeds. International Journal of Agriculure and Biology, 6: 708–711.

Khan MA and Gulzar S. 2003. Germination responses of *Sporobolus ioclados*: A saline desert grass. Journal of Arid Environment, 55: 453–464.

Khatoon A, Qureshi MS and Hussain MK. 2000. Effect of salinity on some yield parameters of sunflower (*Helianthus annuus* L.). International Journal Agriculture Biology, 4: 382–384.

Kholghi M, Bernousi I, Darvishzadeh R, Pirzad A, Hatami H. 2011. Collection, evaluation and classification of Iranian confectionary sunflower (*Helianthus annuus* L.) populations using multivariate statistical techniques. African Journal of Biotechnology, 10: 5444-5451.

Leon AJ, Rufener GK, Berry ST and Mowers RP. 1995. Use of RFLP markers for genetic linkage analysis of oil percentage in sunflower seed. Crop Science, 35:558-564.

Manchanda G and Garg N. 2008. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. Acta Physiologiae Plantarum, 30: 595-618.

Mass EV and Hoffman GJ. 1997. Crop salt tolerance current assessment. Journal of Irrigation and Drainage Division, 103: 115-134.

Meloni DA, Gulotta MR and Martinez CA. 2008. Salinity tolerance in *Schinopsis quebracho colorado*: Seed germination, growth, ion relations and metabolic responses. Journal of Arid Environment, 72: 1785-1792.

Micic Z, Hahn V, Bauer E, Schon CC and Melchinger AE. 2005. QTL mapping of resistance to Sclerotinia mid-stalk rot in RIL of sunflower population NDBLOSsel×CM625. Theoretical Applied. Genetics, 110: 1490–1498.

Mohammadi SA and Prasanna BM. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43: 1235-1248.

Mohammad Doust Chamanabad H, Nouri Ghanbalati GH, Asghari A and Nouri Ghanbalati AL. 2010. Wheat from production to consumption. Mohaghegh Ardabili University Press, 352p. (in Persian).

Moreda AP, Fisher A and Hill SJ. 2003. The classification of tea according toregion of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. Journal of Food Composition and Analysis, 16: 195-211.

Nasir Khan M, Siddiqui MH, Mohammad F, Mansoor M, Khan A and Naeem M. 2007. Salinity induced changes in growth, enzyme activities, photosynthesis, prolin accumulation and yield in linseed genotypes. World Journal of Agriculture Science, 5: 685-695.

Noor E, Azhar FM and Khan AL. 2001. Differences in responses of *Gossypium hirsutum* L. varieties to NaCl salinity at seedling stage. International Journal of Agriculture and Biology, 3: 345- 347.

Noori SA and Sokhansanj A. 2008. Wheat plants containing an osmotin gene show enhanced ability to produce roots at high NaCl concentration. Russia Journal of Plant Physiology, 55: 256-258.

Noori SA, Ferdosizadeh L, Izadi-Darbandi A, Mortazavian SMM and Saghafi S. 2011. Effects of salinity and laser radiation on proline accumulation in seeds of spring wheat. Journal of Plant Physiology Breeding, 1: 11-20.

Parida AK and Das AB. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicolology and Environmental Safety, 60: 324-349.

Rabii B and Rahimi M. 2009. Evaluation methods of canola genotypes grouped using the Fisher linear detection function. Journal of Agricultural Sciences Natural Resources, 47: 529-15.

Rauf M, Munir M, Hassan MU, Ahmad M and Afzal M. 2007. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. Africa Journal of Biotechnology, 6: 971-975.

Rachid Al-Chaarani G, Roustaee A, Gentzbittel L, Mokrani L, Barrault G, Dechamp-Guillaume G and Sarrafi A. 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). Theoretical and Applied Genetics, 104: 490–496.

Saburi H, Nahvi M, Torabi A and Kanoni M. 2008. Classification of rice varieties at different levels from the osmotic potential of sorbitol based on cluster analysis and fisher linear functions. Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding, 28-30 August, Karadj, Iran, Crop Science and Society, 7: 327-340 (in Persian).

Sadat Noori SA, Ferdosizadeh L, Izadi-Darbandi A, Mortazavian SMM and Saghafi S. 2011. Effects of salinity and laser radiation on proline accumulation in seeds of spring wheat. Journal of Plant Physiology and Breeding, 1: 11-20.

Safari P, Honarnejad Rand Esfahani M. 2008. Assessment of genetic variation in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) cultivars using canonical discriminant analysis. Iranian Journal of Agriculture Research, 6: 327-334 (in Persian).

Schabes FI and Sigstad EE. 2005. Calorimetric studies of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seed germination under saline stress conditions. Thermochimca Acta, 428: 71–75.

Shahsevand Hassani H. 2000. The process of production new allopeloeid Tritipyrum. 6th Iranian Crop Science Congress Babolsar, pp: 22-24. (in Persian).

Singh BD. 2001. Plant breeding: principles and methods Kalyani publisher. 898 p.

Soltani A, Galeshi S, Zenali E and Latifi N. 2001. Germinatin seed reserve utilization and growth of chickpea as affected by salinity and seed size. Seed Science and Technology, 30: 51-60.

Seiler G and Jan CC. 2010. Basic information. In: Hu J, Seiler G. and Kole C (eds). Genetics genomics and breeding of sunflower, pp: 1-50.

Stuber CW. 1994. Heterosis in plant breeding. Plant Breeding Review, 12: 227-251.

Tuncturk M, Tuncturk R, Yildirim B and Ciftci V. 2011. Changes of micronutrients, dry weight and plant development in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under salt stress. African Journal of Biotechnology, 10: 3726-3730.

Upadhyaya HD, Reddy LJ, Dwivedi SL, Gowda CLL, Singh S. 2009. Phenotypic diversity in cold-tolerant peanut (*Arachis hypogaea* L.) germplasm. Euphytica, 165: 279-291.

Wang W, Vinocur B and Altman A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Plantarum, 218: 1–14.

Zhang ZH, Qu XS, Wan SH, Chen LH and Zhu YG. 2005. Comparison of QTL controlling seedling vigour under different temperature conditions using recombinant inbred lines in rice (*Oryza sativa* L.). Annals of Botany, 95: 423-429.

Investigation on the reaction of sunflower recombinant inbred lines to NaCl stress at seedling stage

Fariba Morsali Aghajari[1], Reza Darvishzadeh[2*], Hamid Hatami Maleki[3], Mohsen Barin[4], Ali Asghar Hatamnia[5]

(Received: February 2014 Accepted: September 2014)

ABSTRACT

In order to investigate the reaction of sunflower recombinant inbred lines to salt stress in seedling stage, a factorial experiment based on randomized complete block design was implemented in controlled condition. The first factor consisted of 77 recombinant inbred lines (generation F_9) and the second factor was salinity stress with NaCl (salinity levels 0 and 6 dS m^{-1}) and traits including shoot length, root length, shoot fresh weight, root fresh weight, shoot dry weight and root dry weight were measured. Results of analysis of variance revealed that all studied traits influenced by genotype, salinity and genotype×salinity interaction. 33 lines out of 77 lines (43%) in salinity level of 6 dS m^{-1} could not germinate and 44 lines out of 77 lines (57%) could maintain their viability. Mean values of all of studied traits were decreased in salinity level of 6 dS m^{-1} compared to normal conditions. Clustering of genotypes was performed using the studied traits in each condition by squared Euclidean distance criteria and Ward algorithm. Studied lines were grouped in three classes. In normal conditions, 17, 18 and 42 lines were located in cluster one, two and three, respectively, while, in salinity conditions, 26, 8, and 9 lines were classified in above mentioned groups. Maximum distance was observed between cluster 1 and cluster 2. Results of cluster analysis were in coincidence with those obtained by principle component analysis and discriminant function analysis. Line C86 was possessed maximum values of studied traits and hence, present as salinity tolerant line.

Keywords: Cluster analysis, Salt stress, Seedling growth, Sunflower

1-MSc Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
2- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
3- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
4- Assistant Professor, Department of Soil Scinece, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
5- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran.
* (Corresponding Author) r.darvishzadeh@urmia.ac.ir