



تأثیر تنش شوری بر صفات ریخت‌شناسی و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی حاصل از تلاقی PAC2 × RHA266

فریبا مرسلی آقاجری^۱، رضا درویش زاده^{۲*}، غلامحسین غلامی^۳

۱. کارشناسی ارشد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه

۲. استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه

۳. استادیار، گروه ریاضی دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۸

چکیده

به منظور بررسی تغییرات ریخت‌شناسی ۹۸ رگه خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان دانه روغنی حاصل از تلاقی PAC2 × RHA266، در شرایط نرمال و تنش شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه انجام شد. در هر یک از شرایط بعد از مرحله گلدهی صفات عملکرد دانه، وزن ۱۰۰ دانه، تعداد برگ، طول برگ، عرض برگ، طول دم‌برگ، قطر ساقه، وزن خشک طبق و روز تا گلدهی اندازه‌گیری شدند. بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل شوری × رگه برای صفات ارتفاع بوته و طول دم‌برگ معنی‌دار بود. مقایسه میانگین رگه‌ها در هر دو شرایط نشان داد که میانگین رگه‌ها در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط نرمال، در همه صفات به جز طول دم‌برگ کاهش یافته است. بیشترین مقدار درصد کاهش در عملکرد دانه (۱۲/۲۳) و وزن صد دانه (۱۰/۶۰) مشاهده شد. نتایج رگرسیون گام‌به‌گام نشان داد که صفات قطر طبق و وزن ۱۰۰ دانه در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری وارد مدل شدند؛ بنابراین انتخاب برای این صفات در هر دو شرایط به بهبود عملکرد دانه کمک خواهد کرد. بر اساس نتایج قسمت اول پژوهش، دوره‌گه متحمل و حساس به شوری (به ترتیب رگه‌های C86 و C64) انتخاب و الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها در سطوح مختلف تنش شوری صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر بررسی گردید. بر اساس نتایج حاصله، الگوی الکتروفورزی متفاوتی برای رگه‌های C86 و C64 در سطوح مختلف تنش شوری مشاهده شد که حاکی از واکنش متفاوت رگه‌ها به تنش شوری است. احتمالاً باندهای پروتئینی با وزن مولکولی ۵۵ و ۸۳/۴۵ کیلو دالتون، پروتئین‌های مرتبط با تحمل به تنش شوری هستند که در رگه متحمل تغییرات بیان نشان می‌دهند. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند در برنامه‌های به نژادی آفتابگردان جهت تولید ارقام متحمل به شوری مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان روغنی، الکتروفورزی پروتئین‌ها، تنش شوری، رگرسیون گام‌به‌گام، وراثت پذیری

مقدمه

به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک و از عوامل انسانی می‌توان به استفاده از کودهای شیمیایی و آبیاری با آب‌های شور و باکیفیت پایین اشاره کرد (Hakim et al., 2014; Manchanda and Garg, 2008). مساحت زمین‌های شور در سال ۱۹۸۰، حدود ۳۲۳ میلیون هکتار بود اما تخمین زده می‌شود که تا سال ۲۰۲۵، به ۴۰۰ میلیون هکتار برسد

شوری مخرب‌ترین تنش زیست‌محیطی است که باعث کاهش بهره‌وری و رشد گیاه می‌گردد (Ghassemi-Golezani and Hosseinzadeh-Mahootchi, 2015). عوامل مختلف طبیعی و انسانی در افزایش تنش شوری دخالت دارند که از عوامل طبیعی می‌توان به گرم شدن جهانی زمین، بارندگی کم، سطح تبخیر بالا، هوازگی سنگ‌ها، زهکشی ضعیف خاک

(Mohammadi and Prasanna, 2003). در چندین مطالعه، از روش‌های آماری چند متغیره برای گروه‌بندی لاین-ها و توده‌های مختلف آفتابگردان استفاده شده است (Kholghi et al., 2011; Ahmadvpour et al., 2017).

وقتی گیاهان در معرض تنش شوری یا خشکی قرار می‌گیرند، در سطح کل گیاه، سطح سلولی و یا مولکولی تغییراتی در پاسخ به تنش روی می‌دهد. الگوی تولید بسیاری از پروتئین‌ها در پاسخ به کاهش آب گیاه تغییر می‌نماید که از جمله این پروتئین‌ها، پروتئین‌های درگیر در مسیرهای سیگنال دهی تنش، پروتئین‌های مخصوص سم‌زدایی تنش اکسیداتیو و پروتئین‌های با اعمال غیرمستقیم در رابطه با کاهش اثرات تنش هستند. به‌طور کلی پاسخ‌های گیاه برای برقراری همئوستازی، سم‌زدایی مواد مضر و بازگشت به رشد است (Hajheidari et al., 2005). اگرچه مقدار پروتئین‌ها، به‌ویژه پروتئین‌های با مقادیر کم همیشه با میزان mRNA مرتبط است، ولی به‌هرحال، بسیاری از پروتئین‌ها دستخوش تغییرات پس از ترجمه، مثل حذف سیگنال پپتیدها، فسفوریلاسیون و گلیکوزیلاسیون می‌شوند که این تغییرات نهایتاً برای فعالیت پروتئین‌ها و تعیین محل درون سلولی آن‌ها مهم است. بنابراین، مطالعه پاسخ‌های گیاهان نسبت به تنش شوری در سطح پروتئین نیز ضروری به نظر می‌رسد (Shunping et al., 2005). وجود تنوع پروتئینی بخش اساسی از پاسخ گیاه به تنش محیطی و نیز سازگاری با شرایط محیطی است (Bakalova et al., 2008; Koc et al., 2010). یکی از روش‌های مکمل بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گیاهی بررسی الگوی الکتروفورز پروتئین‌ها است. الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید جهت تعیین وزن مولکولی پروتئین‌ها، روشی رایج و مهم در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی است. این روش ضمن ساده بودن به مقدار کمی نمونه برای انجام آزمایش نیاز دارد و دارای قدرت تفکیک مناسب برای شناسایی و تعیین خلوص پروتئین‌هاست. الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE) برای مقایسه پروفایل پروتئینی ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی، روشی معتبر و قابل تکرار بوده و از طرف دیگر سریع و ارزان است (Matsoukas and Morrison, 1991). مدت-هاست به‌کارگیری نشانگرهای پروتئینی با استفاده از SDS-PAGE برای شناسایی گونه‌ها، واریته‌ها و ژنوتیپ‌ها در گیاهان زراعی مورد توجه قرار گرفته است. کاکایی و مصطفایی (Kakaei and Mostafaie, 2010) با SDS-

(Hakim et al., 2014). از طرفی پیش‌بینی شده است تا سال ۲۰۵۰ جمعیت جهان به ۹/۳ میلیارد نفر خواهد رسید (Tilman et al., 2011)؛ بنابراین بایستی تولید مواد غذایی نیز به موازات این افزایش جمعیت افزایش یابد. آفتابگردان (*Helianthus annuus L.*) گیاهی علفی، یک‌ساله از خانواده مرکبان (Asteraceae) و از جمله مهم‌ترین گیاهان دانه روغنی است که روغن آن به علت برخورداری از درصد متوازن اسیدهای چرب مطلوب دارای کیفیت بالایی بوده و زراعت آن در بسیاری از نقاط جهان از جمله کشور ایران از اهمیت ویژه-ای برخوردار بوده و در سطح وسیع کشت می‌شود (Andarkhor et al., 2014; Rastegar, 2005).

افزایش تحمل به شوری در گیاهان زراعی می‌تواند در بهبود عملکرد گونه‌ها در مناطق نیمه شور مؤثر واقع شود (Flowers and Flowers, 2005). از سال ۱۹۸۰ تا به امروز تلاش‌های زیادی برای تولید محصولات متحمل به شوری صورت گرفته است (Rai et al., 2011; Azzedine et al., 2011; Ashraf et al., 2013; Ashraf and Akram, 2009). البته موفقیت‌های حاصل در مقابل سرعت شور شدن اراضی کشاورزی دنیا اندک است که احتمالاً می‌تواند به دلایلی همچون پرهزینه و زمان‌بر بودن روش‌های معمول به نژادی، امکان انتقال ژن‌های نامطلوب همراه با ژن‌های مطلوب و پیچیده بودن ماهیت صفت تحمل به شوری باشد (Kafi et al., 2011). جهت دستیابی به ارقام با عملکرد بالا، کیفیت بهتر و تحمل بیشتر به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، وجود تنوع ژنتیکی ضروری است (Laurentin, 2009). مطالعه و تخمین تنوع ژنتیکی و آگاهی از خویشاوندی ژنتیکی ژنوتیپ‌ها سبب می‌شود انتخاب والدین در یک تلاقی به‌طور دقیق انجام شود و هتروزیس در صفات به‌خوبی نمایان گردد. معمولاً هر چه والدین از لحاظ صفات کمی فاصله بیشتری داشته باشند تنوع و هتروزیس بیشتری در صفات نتاج مشاهده خواهد شد (Falconer and Mackay, 1996). تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها عمدتاً به‌وسیله جهش و نوترکیبی ایجاد می‌شود. روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی وجود دارد. از آنجایی که روش‌های آماری چند متغیره به‌طور هم‌زمان از اطلاعات چندین صفت استفاده می‌کنند، لذا در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بر پایه داده‌های مورفولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی کاربرد وسیعی دارند. در بین روش‌های آماری چند متغیره، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مهم‌ترین روش‌ها محسوب می‌شوند

تهیه شده است. لاین پدری RHA266 از تلاقی بین ژنوتیپ وحشی *H. annuus* و Peredovik توسط وزارت کشاورزی آمریکا و لاین مادری PAC2 در INRA فرانسه از تلاقی بین *H. Petiolaris* و HA61 تولید شده است (Gentzmittel et al., 1995). آزمایش به صورت فاکتوریل (فاکتور اول تنش شوری در دو سطح نرمال و شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر از منبع NaCl و فاکتور دوم ۱۰۰ ژنوتیپ آفتابگردان) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ارومیه انجام گرفت (شکل ۱). برای این منظور از هر ژنوتیپ تعداد ۶ گلدان بزرگ ۱۰ کیلویی (ارتفاع و قطر به ترتیب ۲۵ و ۲۶ سانتی‌متر) کشت و در فضای آزاد چیده شدند. فاصله دو ردیف گلدان از هم ۵۰ سانتی‌متر و فاصله گلدان‌ها از هم در روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. برای هر گلدان از مخلوط پیت ماس + خاک زراعی به نسبت ۱ به ۳ استفاده گردید. جهت دستیابی به شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر، بر اساس مقدار شوری اولیه خاک هر گلدان مقدار ۹/۵ گرم نمک در ۵۰۰ سی‌سی آب حل و پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله ۸ برگی به هر گلدان اضافه گردید.

PAGE الگوی تنوع پروتئین‌های بذر نخود را بررسی کردند و گزارش کردند که این روش می‌تواند به عنوان روشی ساده و اقتصادی جهت شناسایی تنوع ژنتیکی در ژرم پلاسماها مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه تنوع ژنتیکی و ارتباط بین عملکرد دانه و ویژگی‌های ریخت‌شناسی در رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی در هریک از شرایط نرمال و تنش شوری بررسی گردیده است. در ادامه الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها در دوره حساس و متحمل به شوری در سطوح مختلف تنش شوری مطالعه شده است. نتایج این تحقیق می‌تواند در انتخاب والدین مناسب برای تولید هیبرید-های متحمل به شوری مفید باشد.

مواد و روش‌ها

بررسی صفات مورفولوژیک

در این پژوهش اثرات شوری روی ۹۸ رگه خویش آمیخته نو ترکیب (نسل F9) آفتابگردان روغنی حاصل از تلاقی دو لاین RHA266 (♂) و PAC2 (♀) به همراه والدین بررسی شد. جمعیت رگه‌ها با استفاده از روش بالک تک بذری و توسط انستیتو ملی تحقیقات آگرونومی فرانسه (INRA)



شکل ۱. بررسی اثر شوری بر صفات مورفولوژیک جمعیت رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی.

Fig. 1. Study of salinity effect on morphological traits of oilseed sunflower recombinant inbred lines population

می‌شد اما چون تعداد گلدان‌ها زیاد بود این کار عملاً امکان‌پذیر نبود و تنها به کنترل شوری خاک و تصحیح آن در طول آزمایش اکتفا می‌شد. از آنجایی که تبخیر آب از خاک گلدان‌ها باعث انتقال نمک‌ها به سطح خاک می‌شود برای جلوگیری از این کار سعی می‌شد گلدان‌ها همیشه مرطوب نگهداری شوند. به این خاطر در طول فصل رشد هر روز صبح تا ظهر آبیاری از طریق سامانه قطره‌ای انجام می‌گرفت. کود دهی در چندین نوبت در طول دوره رشد رویشی گیاه انجام گرفت. بعد از مرحله گلدهی صفات مختلف از قبیل عملکرد تک بوته (برحسب گرم)، وزن ۱۰۰ دانه (برحسب گرم)، تعداد

برای جلوگیری از وارد شدن شوک شدید یک‌باره به گیاه، اعمال تنش شوری در دو مرحله انجام گرفت. به این ترتیب که ۲۵۰ سی‌سی از محلول نمک، صبح و ۲۵۰ سی‌سی نیز بعد از ظهر همان روز اعمال گردید. کنترل مقدار شوری خاک گلدان‌ها به وسیله دستگاه EC سنج انجام می‌گرفت و در مواقع لازم تصحیح شوری با احتساب ۶ دسی‌زیمنس بر متر انجام می‌شد. آبیاری به صورت قطره‌ای انجام شد. در موقع آبیاری دقت می‌شد تا آب از زهکش گلدان‌ها خارج نشود. مطمئناً در آب آبیاری نمک‌های معدنی وجود داشت که به خاک اضافه می‌شدند بنابراین بهتر بود در آزمایش از آب مقطر استفاده

۰/۶۳ میلی‌لیتر، آب دو بار تقطیر = ۳/۷۴ میلی‌لیتر، آمونیم پرسولفات ۱۰٪ = ۲۵ میکرولیتر، تمد = ۵ میکرولیتر) استفاده گردید. در ۲۰ دقیقه اول الکتروفورز، ولتاژ دستگاه روی ۲۵ ولت تنظیم شد. در این حالت جریان حدود ۲۰ میلی‌آمپر (۴۰ میلی‌آمپر برای دو ژل) و توان حدود ۱۰ وات بود. در این چند دقیقه پروتئین‌ها شروع به حرکت کردند. برای زمان دوم (حدود ۴ ساعت) ولتاژ دستگاه بر روی ۲۰۰ ولت تنظیم شد. بعد از سپری شدن ۴ ساعت، صفحه حاوی از تانک بیرون آورده شد. برای شناسایی باندهای پروتئینی هر نمونه بر روی ژل، از Rm (حرکت نسبی باندهای پروتئینی) استفاده شد. تعداد باندهای نمونه‌ها با یکدیگر مقایسه و برای نشان دادن حضور یا عدم حضور باندی در یک رگه از کدهای «صفر و یک» استفاده گردید (Sarvari et al., 2017).

$$Rm = \frac{\text{فاصله حرکت باند پروتئینی از ابتدای ژل جداکننده}}{\text{فاصله حرکت رنگ از ابتدای ژل پایینی}} \quad [1]$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها بعد از بررسی فرضیات اساسی تجزیه واریانس (Kaps and Lamberson, 2009) بر اساس مدل آماری طرح پایه در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. همبستگی ژنتیکی بین صفات از طریق فرمول زیر محاسبه شد:

$$r = \frac{Covg(x1,x2)}{\sqrt{Var_g(x1) \times Var_g(x2)}} \quad [1]$$

در این فرمول $Covg(x1,x2)$ کوواریانس ژنتیکی دو صفت $x1$ و $x2$ است. $Var_g(x1)$ و $Var_g(x2)$ به ترتیب واریانس ژنتیکی صفت اول و دوم می‌باشد.

$$Covg(x1,x2) = \frac{MPG - MPE}{r} \quad [2]$$

$$Var_g(x1) = \frac{MSG - MSE}{r} \quad [3]$$

در این فرمول‌ها MPG و MSE به ترتیب میانگین حاصل-ضرب‌ها برای ژنوتیپ و اشتباه آزمایشی در جدول تجزیه کوواریانس و r برابر تعداد تکرار است. MSG و MSE به ترتیب میانگین مربعات برای ژنوتیپ و اشتباه آزمایشی در جدول تجزیه واریانس است. برای محاسبه واریانس و کوواریانس‌ها بر اساس امید ریاضی میانگین مربعات از دستور زیر در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ استفاده شد.

برگ (اولین برگ‌ها بعد از برگ‌های پهلای تا آخرین برگ توسعه‌یافته نزدیک طبق)، طول برگ، عرض برگ و طول دم برگ (میانگین اندازه‌گیری‌ها از برگ‌های بالایی، میانی و پایینی، برحسب سانتی‌متر)، قطر ساقه (سانتی‌متر)، ارتفاع بوته (سانتی‌متر)، وزن خشک طبق (گرم ماده خشک) و روز تا گلدهی (تعداد روز) اندازه‌گیری شدند.

بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها

از میان رگه‌های بررسی شده در قسمت اول دو رگه با واکنش متفاوت (متحمل (C86) و حساس (C64)) انتخاب و در اتاقک رشد گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشگاه ارومیه با شرایط ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی، دمای بیشینه ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دمای کمینه ۱۲ درجه سانتی‌گراد کشت شدند. به رگه‌ها در مرحله ۸ برگی سطوح مختلف تنش شوری شامل صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر اعمال گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. برای انجام SDS-PAGE، ۲ گرم از بافت تر نمونه گیاهی (برگ) در هاون ساییده شده و با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج (که شامل تریس ۰/۰۹ مولار، اسید بوریک ۰/۰۸ مولار و ۰/۹۳ گرم در لیتر اتیلن دی‌آمید تتراسات بود و برای جلوگیری از انتشار نمونه‌ها، به آن ۰/۲۵ میلی‌لیتر محلول ساکارز ۴۱ درصد اضافه گردیده است) مخلوط گردید. سپس به مدت ۳۱ دقیقه در ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی حاوی پروتئین با حجم مساوی از محلول لاملی (تریس ۱ مولار (pH=۶/۸)) به میزان ۱/۲۵ میلی‌لیتر، ۰/۴ گرم سدیم دودسیل سولفات، ۰/۸ میلی‌لیتر گلیسرول، ۰/۹ میلی‌لیتر ۲-مرکاپتوتانول، بروموفنل آبی ۵٪ به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر) مخلوط گردید و در داخل حمام آبی به مدت ۲ دقیقه قرار داده شد و بعد با استفاده از سرنگ همیلتون در چاهک‌های مربوط به ژل الکتروفورز بارگذاری انجام گرفت (Sarvari et al., 2017). در الکتروفورز از ژل جداکننده ۱۵ درصد پلی‌اکریل‌آمید (آکریل‌آمید ۳۵/۴٪ + بیس آکریل‌آمید ۰/۶۲٪ = ۴/۲ میلی‌لیتر، سدیم دودسیل سولفات ۱۰٪ = ۰/۱ میلی‌لیتر، تریس کلریدریک اسید (pH=۸/۸) یک مولار = ۳/۶۸ میلی‌لیتر، آب دو بار تقطیر = ۱/۹۸ میلی‌لیتر، آمونیم پرسولفات ۱۰٪ = ۲۳ میکرو لیتر، تمد = ۴ میکرو لیتر) و ژل توده کننده ۵ درصد (آکریل‌آمید ۳۵/۴٪ + بیس آکریل‌آمید ۰/۶۲٪ = ۰/۵۶ میلی‌لیتر، سدیم دودسیل سولفات ۱۰٪ = ۵۰ میکرو لیتر، تریس اسید کلریدریک (pH=۶/۸) یک مولار =

برای پایین بودن دقت آزمایش در نظر گرفته می‌شود. البته عقیده کلی بر این است که در صورت معنی‌دار بودن F مربوط به صفت مورد مطالعه، بالا بودن CV مشکل اساسی در آزمایش ایجاد نمی‌کند. در چنین مواقعی اختلاف بین تیمارها به حدی است که با وجود بالا بودن ضریب تغییرات (بالا بودن واریانس اشتباه آزمایشی) تفاوت‌ها محرز می‌شوند (Valizadeh and Moghaddam, 2002; Darvishzadeh et al., 2010).

دامنه تغییرات برای اکثر صفات بزرگ بود که حاکی از وجود تنوع بالا بین رگه‌های مورد مطالعه است. حداکثر مقدار ضریب تغییرات به ترتیب برای عملکرد دانه (۵۲/۴۰) و وزن خشک طبق (۳۸/۵۲) و حداقل مقدار برای روز تا گلدهی (۵/۰۸) و تعداد برگ (۹/۷۵) مشاهده شد (جدول ۱). نوریزدان و همکاران (Nooryazdan et al., 2010) بیشترین ضریب تغییرات را برای صفات وزن دانه (عملکرد دانه)، طول دم برگ و قطر ساقه در آفتابگردان روغنی مشاهده کردند. برای بررسی تأثیر تنش شوری روی صفات مورد ارزیابی، میانگین رگه‌ها در شرایط نرمال و تنش شوری مقایسه شدند (جدول ۲). معنی‌دار بودن اختلاف میانگین هر یک از صفات در دو شرایط نرمال و تنش شوری با توجه به P-value آماره F عامل تغییر تنش در جدول تجزیه واریانس تعیین گردید. این عامل تغییر دارای ۲ سطح است و معنی بودن F، خود حاکی از اختلاف بین میانگین صفات در دو سطح تنش است و نیازی به استفاده از روش‌های مقایسه میانگین نیست. نتایج بیانگر این است که میانگین رگه‌ها در شرایط تنش شوری نسبت به شرایط نرمال، در تمام صفات به جز طول دم برگ کاهش یافته است، این روند در توافق با مطالعات (Shahbaz et al., 2011; Rui et al., 2009; Hussain et al., 2008; Anwar Ul Haq et al., 2013) در آفتابگردان است. بیشترین درصد کاهش در دو شرایط به ترتیب در عملکرد دانه (۱۳/۲٪) و روز تا گلدهی (۱۰/۶٪) و کمترین مقدار درصد کاهش به ترتیب در ارتفاع بوته (۳/۶٪)، قطر ساقه (۳/۴٪)، تعداد برگ (۳/۴٪) و وزن خشک طبق (۱/۹٪) مشاهده شد (جدول ۲). در رابطه با طول دم برگ با اینکه اختلاف میانگین صفت در دو شرایط منفی دیده شده است، ولی در جدول تجزیه واریانس اختلاف معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد کاهش معنی‌داری با اعمال تنش شوری رخ نداده است (جدول ۲).

```
data a;
input line$ rep x1 x2;
cards;
...
;
proc glm;
class line;
model x1 x2=line/ss3;
manova h=line/printh printe;
run;
```

از رگرسیون گام‌به‌گام برای تعیین صفاتی که بیشترین میزان تنوع عملکرد دانه در بوته را در شرایط نرمال و تنش شوری توجیه می‌کنند استفاده شد. گروه‌بندی رگه‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان در هر یک از شرایط نرمال و تنش شوری پس از استاندارد نمودن داده‌ها با روش حداقل واریانس وارد در نرم‌افزار Minitab 16 و مقایسه میانگین گروه‌ها با در نظر گرفتن گروه‌ها به‌عنوان تیمار و افراد درون گروه به‌عنوان تکرار در نرم‌افزار SPSS به روش SNK انجام گرفت. در روش‌های مقایسه میانگین ارتکاب اشتباه نوع اول روش‌های SNK و توکی نسبت به روش دانکن پایین است. از طرف دیگر روش SNK در مقایسه با توکی یک روش چند دامنه‌ای است و دامنه را هم در فرایند مقایسه در نظر می‌گیرد. به این دلیل در آزمایش اخیر از این روش استفاده شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، اثر رگه برای اکثر صفات معنی‌دار بود که بیانگر وجود تنوع در بین رگه‌های مورد مطالعه برای صفات مورد بررسی است. اثر تنش شوری برای تمامی صفات مورد مطالعه به‌غیر از وزن ۱۰۰ دانه، قطر طبق، طول برگ، عرض برگ و طول دم برگ معنی‌دار بود. اثر متقابل تنش شوری × رگه برای صفات ارتفاع بوته و طول دم برگ معنی‌دار بود که نشان می‌دهد واکنش رگه‌ها در شرایط نرمال و تنش شوری متفاوت است. به عبارت دیگر رگه‌ای که در یک محیط از لحاظ صفتی وضعیت مطلوب‌تری دارد ممکن است در شرایط محیطی دیگر رفتار متفاوتی نشان دهد (جدول ۱). ضریب تغییرات اشتباه آزمایشی (CV) برای صفات مورد مطالعه در جدول تجزیه واریانس از ۵/۰۸ تا ۵۲/۴۰ متغیر بود. ضریب تغییرات معیار نسبی برای نشان دادن دقت آزمایش است. مقادیر بالاتر از ۳۰ به‌عنوان معیاری

جدول ۱. تجزیه واریانس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی تحت شرایط نرمال و تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) (NaCl)

Table 1. Analysis of variance for yield and morphological characteristics in oilseed sunflower recombinant inbred lines under normal and salinity stress (6 dS/m) conditions (NaCl).

S.O.V	Degree of freedom					درجه آزادی					
	GYP ¹	HSW ²	LN ³	PH ⁴	SD ⁵	CD ⁶	LL ⁷	LW ⁸	PL ⁹	CDW ¹⁰	DF ¹¹
تنش شوری	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Salt stress											
رگه	97	96	99	99	99	99	98	98	98	99	98
RIL											
تنش شوری × رگه	91	90	99	99	99	99	98	98	98	99	97
RIL × Salt stress											
خطا	296	292	408	401	413	360	403	403	403	329	973
Error											
	Mean Squares					میانگین مربعات					
	GYP	HSW	LN	PH	SD	CD	LL	LW	PL	CDW	DF
تنش شوری	353.15***	7.53 ^{ns}	91.75**	1396.13***	3.83***	4.29 ^{ns}	17.99 ^{ns}	1.70 ^{ns}	1.41 ^{ns}	192.32*	341.34***
Salt stress											
رگه	178.97***	27.65***	31.56***	547.34***	0.92***	22.51***	20.56*	13.29***	5.42***	95.28***	96.22***
RIL											
تنش شوری × رگه	27.52 ^{ns}	5.12 ^{ns}	3.43 ^{ns}	171.33**	0.28 ^{ns}	4.42 ^{ns}	15.22 ^{ns}	6.67 ^{ns}	1.86**	25.52 ^{ns}	16.92 ^{ns}
RIL × Salt stress											
خطا	35.52	4.53	5.19	119.85	0.26	4.00	15.05	5.89	1.29	30.92	15.09
Error											
ضریب تغییرات (%)	52.40	28.05	9.75	12.10	11.63	20.70	33.87	28.77	16.10	38.52	5.08
CV(%)											

۱: عملکرد دانه، ۲: وزن ۱۰۰ دانه، ۳: تعداد برگ، ۴: ارتفاع بوته، ۵: قطر ساقه، ۶: قطر طبق، ۷: طول برگ، ۸: عرض برگ، ۹: طول دم برگ، ۱۰: وزن خشک طبق، ۱۱: روز تا گلدهی، ۱۲: ضریب تغییرات، ^{ns}: غیر معنی‌دار؛ *، ** و *** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱.

Grain yield per plant (GYP), 100 seeds weight (HSW)², Leaf number (LN)³, Plant height (PH)⁴, Stem diameter (SD)⁵, Capitulum diameter (CD)⁶, Leaf length (LL)⁷, Leaf width (LW)⁸, Petiole length (PL)⁹, Capitulum dried weight (CDW)¹⁰, Date to flowering (DF)¹¹, Coefficient of variation¹². ns, *, ** and ***: non-significant, significant at (P< 0.05), (P< 0.01) and (P<0.001), respectively.

$$^{13}D = \frac{\bar{X}_{Normal} - \bar{X}_{Biotic}}{\bar{X}_{Normal}} \times 100$$

پارامترهای ژنتیکی

(نرمال و تنش شوری) در صفت عملکرد دانه مشاهده شد. کمترین میزان ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنتیکی در صفت روز تا گلدهی مشاهده شد (جدول ۳).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، در همه صفات مورد مطالعه ضریب تغییرات فنوتیپی از ژنتیکی بیشتر است با وجود این، اختلاف دو ضریب بسته به نوع صفت مورد بررسی متفاوت است. مقایسه این ضریب‌ها تأثیر عوامل محیطی را روی صفت مورد نظر نشان می‌دهد. هرچقدر میزان اختلاف بین ضریب

برآورد اجزای واریانس و ضریب تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی برای صفات مورد بررسی در شرایط نرمال و تنش شوری انجام و در جدول ۳ خلاصه شده است. بیشترین میزان ضریب تغییرات فنوتیپی در هر دو شرایط (نرمال و تنش شوری) در صفات عملکرد دانه، طول دم برگ، عرض برگ، وزن ۱۰۰ دانه و وزن خشک طبق مشاهده شد که نشان‌دهنده نقش تعیین‌کننده صفات مذکور در بروز تنوع فنوتیپی بود. بیشترین مقدار ضریب تغییرات ژنتیکی در هر دو شرایط

جدول ۲. مقایسه میانگین ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی در شرایط نرمال و تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) (NaCl)

Table 2. Mean comparison of yield and morphological characteristics in oilseed sunflower recombinant inbred lines under normal and salinity stress (6 dS/m) conditions (NaCl).

Condition	شرایط	GYP ¹	HSW ²	LN ³	PH ⁴	SD ⁵	CD ⁶	LL ⁷	LW ⁸	PL ⁹	CDW ¹⁰	DF ¹¹
Normal	نرمال	12.17	7.61	23.54	91.24	4.41	9.65	11.38	8.49	7.11	76.38	23.5
	تنش شوری	10.56	7.58	22.74	88.1	4.25	9.47	11.13	8.4	7.32	74.9	21.01
Salt stress	درصد کاهش صفت	13.23*	0.39 ^{ns}	3.40*	3.44*	3.63*	1.87 ^{ns}	2.20 ^{ns}	1.06 ^{ns}	-2.95 ^{ns}	1.94*	10.60*
	Percentage of diminution in character											

عملکرد دانه ۱، وزن ۱۰۰ دانه ۲، تعداد برگ ۳، ارتفاع بوته ۴، قطر ساقه ۵، قطر طبق ۶، طول برگ ۷، عرض برگ ۸، طول دم برگ ۹، وزن خشک طبق ۱۰، روز تا گلدهی ۱۱.

Grain yield per plant (GYP), 100 seeds weight (HSW)², Leaf number (LN)³, Plant height (PH)⁴, Stem diameter (SD)⁵, Capitulum diameter (CD)⁶, Leaf length (LL)⁷, Leaf width (LW)⁸, Petiole length (PL)⁹, Date to flowering (DF)¹⁰, Capitulum dried weight (CDW)¹¹

جدول ۳. میانگین، وراثت‌پذیری، ضریب‌های تنوع فنوتیپی و ژنتیکی و ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی در شرایط نرمال و تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) (NaCl).

Table 3. Mean, heritability and phenotypic and genotypic coefficient of variations for yield and morphological characteristics in oilseed sunflower recombinant inbred lines under normal and salinity stress (6 dS/m) conditions

Condition	شرایط	صفت	میانگین	مقدار بحرانی	واریانس			ضریب تغییرات			عمومی	معیار
					واریانس فنوتیپی	ژنوتیپی	محیطی	ژنتیکی	فنوتیپی	محیطی		
		Trait	Mean	Critical value	Vph	Vg	Ve	CVg	CVph	CVe	h ²	SD
Normal	نرمال	GYP ¹	12.17	8.20	61.28	26.22	35.06	42.08	64.32	48.65	0.43	8.26
		HSW ²	7.61	9.01	8.40	4.07	4.33	26.51	38.09	27.34	0.48	3.11
		LN ³	23.54	2.95	9.02	4.49	4.53	9.00	12.76	9.04	0.50	3.72
		PH ⁴	91.24	16.21	208.77	89.36	110.41	10.87	15.84	11.52	0.47	17.15
		SD ⁵	4.41	0.75	0.40	0.10	0.30	7.05	14.28	12.42	0.24	0.67
		CD ⁶	9.65	2.74	7.39	3.32	4.07	18.89	28.18	20.91	0.45	2.89
		LL ⁷	11.38	3.22	15.49	1.47	14.02	10.64	34.58	32.90	0.09	0.38
		LW ⁸	8.49	2.08	15.85	1.05	14.8	12.09	46.90	45.31	0.07	3.89
		PL ⁹	7.11	1.46	12.10	1.72	10.38	18.43	48.92	45.31	0.14	3.31
		DF ¹⁰	76.38	7.46	38.10	18.99	19.77	5.70	8.08	5.72	0.50	10
		CDW ¹¹	14.97	5.97	42.73	12.42	30.31	23.54	43.66	36.78	0.29	6.78
Salt stress	تنش شوری	GYP ¹	10.56	8.03	58.32	21.19	36.41	44.34	72.32	57.14	0.38	7.91
		HSW ²	7.58	2.91	8.63	4.17	4.46	26.94	38.76	27.86	0.48	3.15
		LN ³	22.74	3.24	9.29	3.68	5.61	8.44	13.40	10.42	0.40	3.7
		PH ⁴	88.1	15.04	180.22	65.24	114.98	9.14	15.24	12.17	0.36	16.05
		SD ⁵	4.25	0.62	0.33	0.12	0.21	8.15	13.52	10.78	0.36	0.62
		CD ⁶	9.47	2.43	6.78	3.11	3.67	18.62	27.50	20.23	0.46	2.76
		LL ⁷	11.13	6.65	10.13	2.02	8.11	12.78	28.60	25.59	0.20	2.96
		LW ⁸	8.4	4.12	15.96	1.61	14.35	15.12	47.56	45.10	0.10	3.85
		PL ⁹	7.32	1.60	22.16	2.01	20.15	19.38	64.31	61.32	0.09	4.56
		DF ¹⁰	74.9	7.61	22.45	10.78	11.67	4.38	6.33	4.56	0.48	9.01
		CDW ¹¹	13.66	4.49	38.49	8.00	30.49	20.71	45.42	40.42	0.21	6.41

عملکرد دانه ۱، وزن ۱۰۰ دانه ۲، تعداد برگ ۳، ارتفاع بوته ۴، قطر ساقه ۵، قطر طبق ۶، طول برگ ۷، عرض برگ ۸، طول دم برگ ۹، وزن خشک طبق ۱۰، روز تا گلدهی ۱۱.

Grain yield per plant (GYP), 100 seeds weight (HSW)², Leaf number (LN)³, Plant height (PH)⁴, Stem diameter (SD)⁵, Capitulum diameter (CD)⁶, Leaf length (LL)⁷, Leaf width (LW)⁸, Petiole length (PL)⁹, Date to flowering (DF)¹⁰, Capitulum dried weight (CDW)¹¹

بوته، قطر طبق و وزن خشک طبق در هر دو شرایط (نرمال و تنش شوری) همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد داشتند، این صفات می‌توانند برای اصلاح عملکرد در هر دو شرایط کاندید مطلوبی باشند (جدول ۴ و ۵). احمدپور و همکاران (Ahmadpour et al., 2017) نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد دانه با وزن ۱۰۰ دانه، قطر طبق و وزن خشک طبق در آفتابگردان روغنی در شرایط تنش شوری مشاهده کردند (Ahmadpour et al., 2017). حیدری و همکاران (Heidari et al., 2011) همبستگی بالا بین ارتفاع بوته و نیز پارامترهای رشد از قبیل وزن تر و خشک گیاه تحت شرایط تنش شوری در آفتابگردان مشاهده کردند. در مطالعه طاهیر و همکاران (Tahir et al., 2012) همبستگی بالا بین عملکرد دانه با وزن هزار دانه و قطر طبق در آفتابگردان مشاهده شد. همبستگی معنی‌دار بین صفات می‌تواند به علت وجود رابطه‌ی نزدیک بین ژن‌های کنترل‌کننده این صفات یا به علت اثرات پلیوتروپی ژن‌ها باشد. انتظار می‌رود صفاتی که باهم همبستگی معنی‌دار دارند، QTL‌های کنترل‌کننده آن‌ها روی گروه‌های پیوستگی هم‌مکان باشند.

با تجزیه همبستگی می‌توان سهم اثر مستقیم هر صفت بر عملکرد را استنتاج نمود (Singh et al., 1988). رگرسیون گام‌به‌گام روش آماری مهمی در تجزیه همبستگی و تعیین سهم اثرات مستقیم اجزای تأثیرگذار بر عملکرد است (Tuncurk and Ciftci, 2004). برخی از محققین از تجزیه همبستگی برای بررسی ارتباط بین عملکرد و اجزای عملکرد در آفتابگردان استفاده کرده‌اند (Yasin and Singh, 2010; Kholghi et al., 2011).

نتایج رگرسیون گام‌به‌گام

از رگرسیون گام‌به‌گام به‌منظور تعیین متغیرهای مؤثر بر متغیر تابع در هر یک از شرایط نرمال و تنش شوری استفاده شد. برای این منظور عملکرد دانه به‌عنوان متغیر وابسته و سایر ویژگی‌های ریخت‌شناسی به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند (جدول ۶).

در تجزیه رگرسیون در هر دو شرایط (نرمال و تنش شوری) اعداد مربوط به آزمون واتسون-دوربین بین ۱/۵ تا ۲/۵ است که حاکی از استقلال اشتباهات آزمایشی می‌باشد (Valizadeh and Moghaddam, 2002). در شرایط تنش شوری قطر طبق اولین صفتی است که وارد مدل شد و

تغییرات ژنتیکی و فنوتیپی کمتر باشد، نشان می‌دهد که اثر محیط روی صفت کم است و لذا انتخاب برای چنین صفتی مناسب‌تر است. در این مطالعه کمترین اختلاف بین ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنتیکی در شرایط نرمال در صفات تعداد برگ، ارتفاع بوته و روز تا گلدهی و در شرایط تنش شوری در صفات وزن خشک طبق، ارتفاع بوته، قطر طبق و روز تا گلدهی مشاهده شد.

وراثت‌پذیری صفات در شرایط نرمال بین ۰/۰۷ برای عرض برگ تا ۰/۵۰ برای تعداد برگ و روز تا گلدهی و در شرایط تنش شوری بین ۰/۰۹ برای طول دم برگ تا ۰/۴۸ برای وزن ۱۰۰ دانه و روز تا گلدهی متغیر بود (جدول ۳). بنا بر نظریه استانسفیلد (Stansfield, 1991) چنانچه توارث-پذیری صفتی بیشتر از ۰/۵ باشد، صفت دارای توارث‌پذیری بالا، بین ۰/۲ تا ۰/۵ باشد، صفت دارای توارث‌پذیری متوسط و کمتر از ۰/۲ باشد، صفت توارث‌پذیری پایین دارد. طبق این نظریه در این مطالعه وراثت‌پذیری اکثر صفات در حد متوسط است. تفاوت در وراثت‌پذیری یک صفت در شرایط تنش شوری و نرمال ناشی از واکنش متفاوت آن به شرایط محیطی است (Heidari et al., 2011).

همبستگی صفات در شرایط نرمال و تنش شوری

عملکرد دانه که یک صفت پیچیده چندژنی (Nadarajan and Gunasekaran, 2005) است از اهداف اصلی در اصلاح آفتابگردان است. عملکرد دانه نتیجه مشارکت صفات مختلف است و بررسی‌ها نشان داده است که سهم مشارکت صفات در عملکرد نهایی در شرایط مختلف محیطی متفاوت است. اصلاح‌گران معمولاً اصلاح برای اجزای عملکرد که به‌طور غیرمستقیم باعث افزایش عملکرد دانه می‌شوند را ترجیح می‌دهند (Yasin and Singh, 2010). بر این مبنای انتخاب صفات شرکت‌کننده در عملکرد در هر یک از شرایط که همبستگی بالایی با عملکرد داشته باشند می‌تواند یک استراتژی خوب برای اصلاح عملکرد باشد (Rachid Al-Chaarani et al., 2004). در این مطالعه در شرایط نرمال همبستگی عملکرد دانه با تمام صفات موردبررسی به‌غیراز طول برگ و دم برگ معنی‌دار بود. البته همبستگی عملکرد با روز تا گلدهی به‌صورت منفی معنی‌دار بود (جدول ۴). در شرایط تنش شوری همبستگی عملکرد دانه با اکثر صفات به‌غیراز عرض برگ، طول دم برگ و روز تا گلدهی معنی‌دار بود (جدول ۴). با توجه به این‌که صفات وزن ۱۰۰ دانه، ارتفاع

به‌طورکلی چون وراثت‌پذیری عملکرد، پایین است و به‌شدت تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرد، لذا انتخاب صرفاً بر پایه عملکرد، نمی‌تواند ملاک خوبی برای گزینش لاین‌های امیدبخش باشد، لذا صفاتی که ضریب تنوع ژنتیکی و وراثت-پذیری بالایی در شرایط بدون تنش و تنش شوری داشته و همبستگی قوی با عملکرد دارند و همچنین در تجزیه همبستگی سهم اثرات مستقیم آن‌ها روی عملکرد بالاست به‌عنوان صفات مطلوب برای گزینش در نظر گرفته می‌شوند. در این مطالعه صفات قطر طبق و وزن صد دانه به دلیل تنوع ژنتیکی زیاد، همبستگی مثبت و اثر مستقیم بالا روی عملکرد دانه و همچنین وراثت‌پذیری متوسط، به‌عنوان صفات مطلوب برای گزینش ژنوتیپ‌های امیدبخش پیشنهاد می‌شوند.

به‌تنهایی بیش از ۵۷ درصد از تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمود. در مرحله دوم وزن صد دانه وارد مدل شد که با قطر طبق ۶۰ درصد از تغییرات عملکرد را توجیه نمودند و در مرحله سوم طول دم‌برگ وارد مدل شد که به همراه دو صفت قبلی حدود ۶۲ درصد از تغییرات عملکرد دانه را توجیه کردند (جدول ۶). در شرایط نرمال قطر طبق نخستین متغیر وارد شده به مدل بود که ۶۴ درصد از تغییرات عملکرد دانه را توجیه نمود. در مرحله بعد وزن صد دانه وارد مدل شد و به همراه قطر طبق در مجموع ۶۵ درصد از تغییرات عملکرد دانه را توجیه کردند (جدول ۶). نتایج رگرسیون گام‌به‌گام نشان داد صفات قطر طبق و وزن صد دانه در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری وارد مدل شدند، بنابراین انتخاب برای این صفات در هر دو شرایط به بهبود عملکرد دانه کمک خواهد کرد.

جدول ۴. همبستگی بین ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در رگه‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان روغنی در شرایط نرمال و تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) (NaCl).

Table 4. Correlation between yield and morphological characteristics in oilseed sunflower recombinant inbred lines in normal and salinity (6 dS/m) conditions (NaCl).

صفت Trait	GYP ¹	HSW ²	LN ³	PH ⁴	SD ⁵	DC ⁶	LL ⁷	LW ⁸	PL ⁹	DF ¹⁰	
Non-salt stress (normal) condition						شرایط نرمال					
HSW ²	0.61***										
LN ³	0.22*	0.21*									
PH ⁴	0.50***	0.37***	0.35***								
SD ⁵	0.49***	0.37***	0.37***	0.37***							
DC ⁶	0.80***	0.63***	0.29***	0.58***	0.52***						
LL ⁷	0.20 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.33***	0.31***	0.44***	0.28***					
LW ⁸	0.43***	0.38***	0.20 ^{ns}	0.27*	0.59***	0.48***	0.68***				
PL ⁹	0.20 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.33***	0.31***	0.44***	0.28***	1.0***	0.36***			
DF ¹⁰	-0.27*	-0.12 ^{ns}	0.04 ^{ns}	-0.25*	-0.16 ^{ns}	-0.32***	-0.13 ^{ns}	-0.30***	-0.13 ^{ns}		
CDW ¹¹	0.66***	0.45***	0.27*	0.6***	0.34***	0.77***	0.22*	0.45***	0.22*	-0.29***	
Salt stress condition						تنش شوری					
HSW	0.63***										
LN	0.31***	0.16 ^{ns}									
PH	0.47***	0.33***	0.32***								
SD	0.46***	0.38***	0.46***	0.32***							
DC	0.76***	0.63***	0.39***	0.51***	0.58***						
LL	0.245*	0.17 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.45***	0.11 ^{ns}	0.36***					
LW	0.20 ^{ns}	0.21 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.36***	0.27*	0.35***	0.52***				
PL	-0.03 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.37***	0.36***			
DF	-0.11 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.15 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.12 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.16 ^{ns}		
CDW	0.51***	0.62***	0.16 ^{ns}	0.39***	0.36***	0.61***	0.13 ^{ns}	0.16 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.02 ^{ns}	

۱: عملکرد دانه، ۲: وزن ۱۰۰ دانه، ۳: تعداد برگ، ۴: ارتفاع بوته، ۵: قطر ساقه، ۶: قطر طبق، ۷: طول برگ، ۸: عرض برگ، ۹: طول دم برگ، ۱۰: روز تا گلدهی، ۱۱: وزن خشک طبق. ns: غیر معنی‌دار؛ *، ** و *** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱.

Grain yield per plant (GYP)¹, 100 seeds weight (HSW)², Leaf number (LN)³, Plant height (PH)⁴, Stem diameter (SD)⁵, Capitulum diameter (CD)⁶, Leaf length (LL)⁷, Leaf width (LW)⁸, Petiole length (PL)⁹, Date to flowering (DF)¹⁰, Capitulum dried weight (CDW)¹¹

جدول ۵. همبستگی ژنتیکی بین ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در رگه‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان روغنی در شرایط نرمال و تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) (NaCl).

Table 5. Genetic correlation between yield and morphological characteristics in oilseed sunflower recombinant inbred lines in normal and salinity (6 dS/m) conditions (NaCl).

Trait	صفت	GYP ¹	HSW ²	LN ³	PH ⁴	SD ⁵	DC ⁶	LL ⁷	LW ⁸	PL ⁹	DF ¹⁰	CDW ¹¹
Non-salt stress condition												
شرایط نرمال												
HSW ²		0.47*										
LN ³		0.17*	-0.016 ^{ns}									
PH ⁴		0.73*	-0.09 ^{ns}	0.44*								
SD ⁵		0.7*	0.21*	0.33*	0.55*							
DC ⁶		0.85*	0.97*	0.19*	0.72*	0.67*						
LL ⁷		-	-0.003 ^{ns}	0.3*	0.78*	0.81*	-					
LW ⁸		0.72*	-0.04 ^{ns}	0.15*	0.49*	0.67*	0.84*	-				
PL ⁹		0.36*	0.1 ^{ns}	0.37*	0.66*	0.5*	0.59*	0.95*	0.58*			
DF ¹⁰		-0.31*	-0.37*	0.02 ^{ns}	-0.29*	-0.07*	-0.25*	-0.8*	-0.41*	-0.18*		
CDW ¹¹		0.82*	0.45*	0.31*	0.9*	0.58*	0.97*	-	0.75*	0.45*	-0.37*	
Salt stress condition												
تنش شوری												
HSW		0.66*										
LN		-0.06 ^{ns}	0.13 ^{ns}									
PH		0.55*	-	0.24*								
DP		0.52*	0.41*	0.47*	0.47*							
DC		0.71*	0.75*	0.39*	0.57*	0.29*						
LL		-0.06 ^{ns}	0.31*	0.48*	0.48*	0.41*	0.55*					
LW		0.86*	0.82*	-0.03 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.47*	0.66*	-				
PL		0.24*	0.37*	0.45*	0.45*	0.38*	0.46*	0.75*	0.83*			
DF		-0.08 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	0.15 ^{ns}	0.32*	-0.005 ^{ns}	0.01 ^{ns}	-0.27*	-0.001 ^{ns}	0.09 ^{ns}		
CDW		0.57*	0.82*	0.41*	0.5*	0.57*	0.05 ^{ns}	-0.004 ^{ns}	0.99*	0.13 ^{ns}	0.14*	

عملکرد دانه، وزن صد دانه ۲، تعداد برگ ۳، قطر ساقه ۴، ارتفاع گیاه ۵، قطر طبق ۶، طول برگ ۷، عرض برگ ۸، طول دم برگ ۹، وزن خشک طبق ۱۰، روز تا گلدهی ns: غیر معنی‌دار؛ *، ** و *** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۰۵، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱. همبستگی‌ها که به صورت "-" نشان داده شده‌اند بیش برآورد (Over estimate) بودند؛ بنابراین در تحلیل در نظر گرفته نشدند

Grain yield per plant (GYP), 100 seeds weight (HSW)², Leaf number (LN)³, Plant height (PH)⁴, Stem diameter (SD)⁵, Capitulum diameter (CD)⁶, Leaf length (LL)⁷, Leaf width (LW)⁸, Petiole length (PL)⁹, Date to flowering (DF)¹⁰, Capitulum dried weight (CDW)¹¹

خط برش در شرایط نرمال در فاصله ۸۸/۰۹ و در شرایط

تنش شوری در فاصله ۹۷/۰۱ انتخاب شد (Jamshidi et al., 2015).

بیشترین فاصله ماهالانوبیس در شرایط نرمال

بین گروه ۲ با ۳ به میزان ۵/۸۰ و در شرایط تنش شوری به

میزان ۴/۶۰ به دست آمد که در واقع ناشی از وجود تنوع

ژنتیکی بین مجموعه ژنوتیپ‌ها در هر یک از شرایط می‌باشد

(جدول ۷). با توجه به مقایسه میانگین خوشه‌های حاصل از

تجزیه خوشه‌ای با استفاده از آزمون SNK (جدول ۸) در

شرایط تنش شوری و نرمال بیشترین مقدار میانگین‌ها برای

اکثریت صفات با تفاوت معنی‌دار به ترتیب در خوشه ۲ و

کمترین مقدار میانگین‌ها در هر دو شرایط تنش شوری و

گروه‌بندی رگه‌های آفتابگردان بر اساس کل صفات

گروه‌بندی رگه‌ها با در نظر گرفتن تمامی صفات ریخت‌شناسی

مورد مطالعه به صورت یکجا با استفاده روش حداقل واریانس

وارد در نرم‌افزار Minitab 16 در شرایط نرمال (شکل ۲) و

تنش شوری (شکل ۳) انجام گرفت. همان‌طور که در جدول

۶ دیده می‌شود تمامی رگه‌ها در هر یک از شرایط محیطی در

۳ خوشه گروه‌بندی شدند. در شرایط نرمال در خوشه اول،

دوم و سوم به ترتیب ۴۹، ۲۹ و ۱۲ رگه و در شرایط تنش

شوری به ترتیب ۴۲، ۳۷ و ۱۴ رگه در گروه‌های مربوطه قرار

گرفتند.

C108, C120, C134a, C142, C34, LR1 و C125a و در شرایط تنش شوری خوشه ۲ شامل C108, C134a, C142, C86, C34 و C61 است که الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های رگه C86 به‌عنوان لاین متحمل به تنش شوری در ادامه بررسی شده است.

نرمال در خوشه ۳ قابل مشاهده بود. با توجه به فاصله زیاد بین دو گروه ۲ و ۳، احتمالاً بیشترین موفقیت در تلاقی بین رگه‌های این دو گروه به دست خواهد آمد. در گروه‌بندی رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در شرایط نرمال، خوشه ۲ شامل

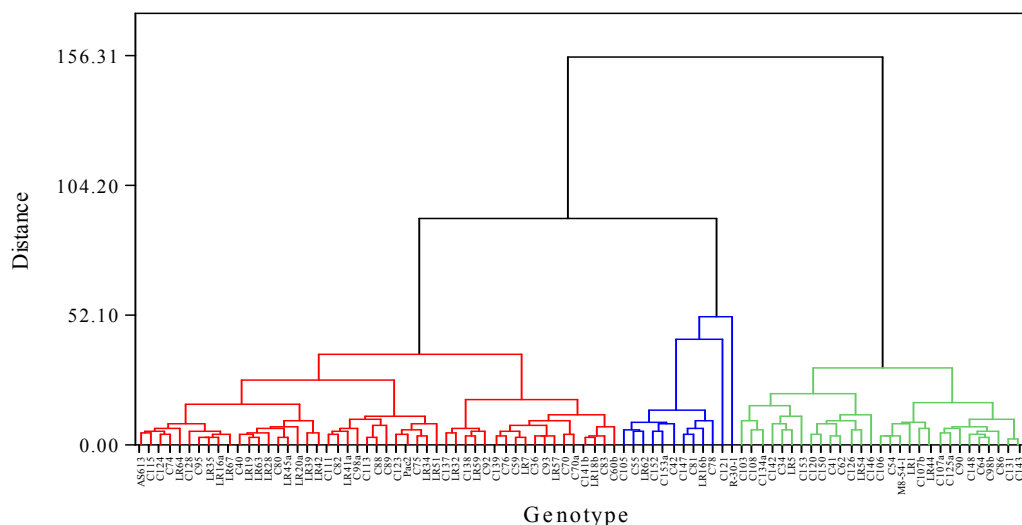
جدول ۶. نتایج رگرسیون گام‌به‌گام برای عملکرد دانه به‌عنوان متغیر تابع و ویژگی‌های ریخت‌شناسی به‌عنوان متغیرهای مستقل در رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی در شرایط نرمال و تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) (NaCl).

Table 6. Stepwise regression analysis results for grain yield as a response variable and morphological characteristics as predictor variables in oilseed sunflower recombinant inbred lines in Normal and Salinity Conditions (6 dS/m) (NaCl)

متغیر وارد شده به مدل Variable entered into the model	عرض از مبدأ Constant	ضرایب رگرسیون استاندارد شده Coefficients of regression			ضریب تبیین جزئی Partial R ²	ضریب نسبی مدل R-square	ضریب تبیین تصحیح شده Adjusted R-square	F
		B1	B2	B3				
شرایط نرمال								
CD	2.15	0.80			0.64	0.64	0.64	150.82**
HSW	0.11	0.69	0.17		0.18	0.66	0.65	4.25*
Durbin-Watson= 2.23								
تنش شوری								
CD	2.07	0.75			0.57	0.57	0.57	112.89**
HSW	1.99	0.60	0.24		0.03	0.61	0.60	7.69***
PL	2.76	0.61	0.25	-0.14	0.02	0.63	0.62	4.65*
Durbin-Watson= 1.58								

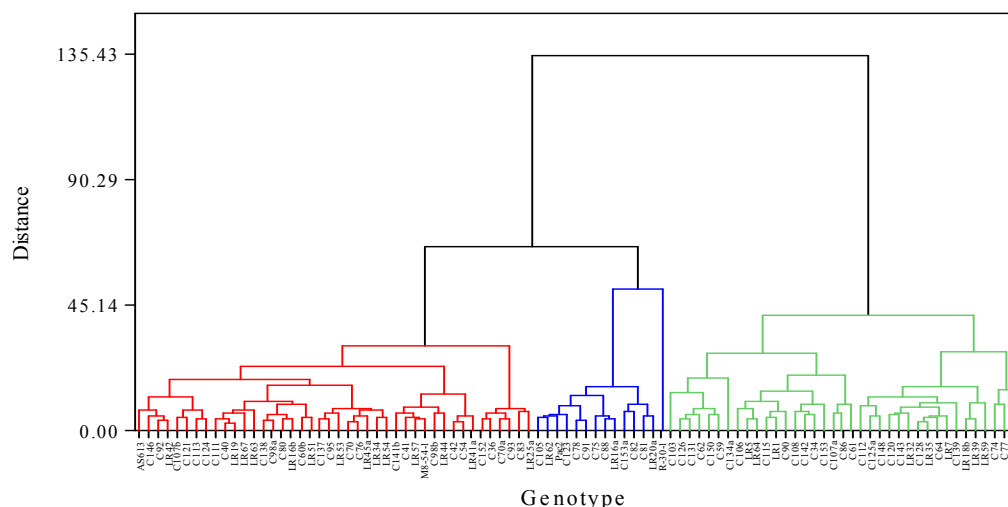
HSW = وزن صد دانه، CD = قطر طبق، PL = طول دم برگ

HSW: 100 seeds weight, CD: Capitulum diameter, PL: Petiole length



شکل ۲. گروه‌بندی رگه‌های خویش آمیخته نو ترکیب آفتابگردان روغنی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در شرایط نرمال با روش وارد

Fig. 2. Grouping oilseed sunflower recombinant inbred lines based on yield and morphological characteristics under normal conditions using Ward method.



شکل ۳. گروه‌بندی رگه‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان روغنی بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و عملکرد در شرایط تنش شوری (۶ دسی‌زیمنس بر متر) با روش وارد

Fig. 3. Grouping oilseed sunflower recombinant inbred lines based on yield and morphological characteristics under salt stress (6 dS/m) conditions using Ward method

جدول ۷. فواصل ماهالانوبیس محاسبه‌شده بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد
Table 7. Calculated Mahalanobis distances between groups identified by Ward method

خوشه یا گروه Cluster	شماره لاین Line number	خوشه ۱ Cluster 1	خوشه ۲ Cluster 2	خوشه ۳ Cluster 3
Non-salt stress شرایط نرمال				
1	49	0	2.83	3.14
2	29	2.83	0	5.80
3	12	3.14	5.80	0
Salt stress تنش شوری				
1	42	0	2.77	2.90
2	37	2.77	0	4.60
3	14	2.90	4.60	0

نتایج آن‌ها ایجاد خواهد شد. تنوع ژنتیکی، به‌نژادگران گیاهی را قادر می‌سازد تا به‌واسطه 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). گروه-بندی رگه‌های خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان روغنی در شرایط نرمال و تنش شوری بر اساس صفات قطر طبق و وزن صد دانه شناسایی شده در تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام نیز انجام گرفت. در شرایط نرمال رگه‌های موردبررسی بر اساس صفات قطر طبق و وزن صد دانه همچنان در ۳ خوشه قرار گرفتند (داده‌ها ارائه نشده است) منتها تعداد رگه‌ها در گروه‌ها متفاوت از حالت اول (گروه‌بندی بر اساس کل صفات) بود به‌طوری‌که در خوشه اول ۴۹ رگه و در خوشه‌های ۲ و ۳ به ترتیب ۳۱ و ۱۰ رگه قرار گرفتند.

گروه‌بندی رگه‌های آفتابگردان بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام

در تجزیه خوشه‌ای افراد داخل یک خوشه بیشترین شباهت و یکنواختی را به هم داشتند، در صورتی‌که بین خوشه‌ها، حداکثر تفاوت و غیریکنواختی وجود داشت. بنابراین اگر گروه‌بندی موفقیت‌آمیز باشد اجزاء یا افراد داخل خوشه از لحاظ ژنتیکی به هم نزدیک‌ترند و افراد خوشه‌های دورتر، متفاوت‌تر خواهند بود (Thompson and Nelson, 1998). دوری ژنتیکی والدین از همدیگر، یکی از معیارهای انتخاب والدین برای تلاقی و ایجاد تنوع لازم جهت انتخاب بهترین ارقام است. عموماً از لحاظ کمی، هر چه والدین از یکدیگر دورتر باشند (فاصله ژنتیکی بیشتر باشد) تنوع بیشتری در

جدول ۸. مقایسه میانگین کلاسترها با استفاده از آزمون SNK.

Table 8. Clusters mean comparisons using SNK test.

صفت Trait	Means of Cluster			میانگین کلاسترها		
	Non-salt stress		شرایط نرمال	Salt stress		تنش شوری
	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3
1 GYP	9.67 ^b	19.84 ^c	3.39 ^a	9.22 ^b	14.77 ^c	3.42 ^a
2 HSW	7.40 ^b	9.47 ^c	4.51 ^a	6.63 ^b	9.54 ^c	4.09 ^a
3 LN	32.22 ^b	25.09 ^c	20.41 ^a	22.53 ^{ab}	23.28 ^b	20.26 ^a
4 PH	92.81 ^b	101.04 ^c	65.31 ^a	86.12 ^b	94.67 ^b	75.61 ^a
5 SD	4.34 ^b	4.76 ^c	3.90 ^a	4.17 ^b	4.5 ^c	3.73 ^a
6 DC	9.04 ^b	12.17 ^c	6.18 ^a	8.76 ^b	11.23 ^c	6.74 ^a
7 LL	6.94 ^a	7.80 ^b	6.27 ^a	10.32 ^a	11.79 ^b	11.64 ^b
8 LW	8.18 ^b	9.45 ^c	7.32 ^a	7.56 ^a	9.38 ^b	8.59 ^b
9 PL	6.94 ^a	7.80 ^b	6.27 ^a	6.59 ^a	8.07 ^b	7.79 ^b
10 DF	76.86 ^a	7.42 ^a	76.32 ^a	74.03 ^a	75.8 ^a	69.97 ^a
11 CDW	14.01 ^b	19.75 ^c	7.94 ^a	12.02 ^b	17.45 ^b	7.75 ^a

عملکرد دانه ۱، وزن ۱۰۰ دانه ۲، تعداد برگ ۳، ارتفاع بوته ۴، قطر ساقه ۵، قطر طبق ۶، طول برگ ۷، عرض برگ ۸، طول دم برگ ۹، وزن خشک طبق ۱۰، روز تا گلدهی ۱۱.

Grain yield per plant (GYP), 100 seeds weight (HSW)², Leaf number (LN)³, Plant height (PH)⁴, Stem diameter (SD)⁵, Capitulum diameter (CD)⁶, Leaf length (LL)⁷, Leaf width (LW)⁸, Petiole length (PL)⁹, Date to flowering (DF)¹⁰, Capitulum dried weight (CDW)¹¹

و ۸۳/۴۵ کیلو دالتونی فقط در رگه متحمل C86 مشاهده شدند. با افزایش سطح شوری باند پروتئینی ۶۶ کیلو دالتونی در رگه حساس به میزان خیلی کم بیان شد ولی در رگه متحمل هیچ اثری از این باند پروتئینی مشاهده نشد (جدول ۹). باند پروتئینی ۱۱۶ کیلو دالتونی به صورت مشترک و مشابه در هر دورگه (متحمل و حساس) رؤیت گردید. باند پروتئینی ۵۵ کیلو دالتونی نیز در هر دورگه مشاهده شد ولی میزان بیان این پروتئین در رگه متحمل بیشتر بود و در نهایت باند پروتئینی ۱۴ کیلو دالتونی تنها در رگه متحمل، C86، در بالاترین سطح شوری (۸ dS/m) به صورت کم‌رنگ مشاهده شد (شکل ۴). در گیاه برنج تنش شوری موجب افزایش شدت باندهای پروتئینی ۹۰ کیلو دالتونی در ریشه و ۲۲ و ۳۱ کیلو دالتونی در نیام برگ‌ها گردید (Kanlaya et al., 2005).

در تحقیق انجام‌شده در گندم (Bakalova et al., 2008) مشخص شد که شوری موجب تشدید غلظت باندهای بین ۵۲-۶۰ و ۲۵ کیلو دالتونی در ریشه‌چه و ساقه‌چه گندم شده است. در مطالعه حاضر اکثر باندهای پروتئینی شناسایی‌شده وزن مولکولی بالایی داشتند. این نتایج متفاوت در ظهور باندها، یک نوع تضاد نیست بلکه به نظر می‌رسد شرایط کار مختلف پژوهشگران از قبیل میزان تنش، روش‌های مورداستفاده در بررسی پروتئین‌ها، مرحله زندگی

بیشترین فاصله همچنان بین خوشه ۲ و ۳ به دست آمد (داده‌ها ارائه نشده است). در شرایط تنش شوری نیز گروه-بندی رگه‌ها بر اساس صفات قطر طبق، وزن صد دانه و طول دم برگ که مهم‌ترین صفات تأثیرگذار در عملکرد بودند انجام گرفت. در اینجا برخلاف گروه‌بندی بر اساس کل صفات، رگه-ها در دو خوشه گروه‌بندی شدند. در خوشه اول ۳۷ رگه و در خوشه دوم ۵۶ رگه قرار گرفتند (داده‌ها ارائه نشده است). احتمال دارد در اینجا رگه‌های حساس در یک گروه و افراد متحمل در گروه دیگر قرار گرفتند. در این بخش هدف معرفی رگه‌های متحمل به تنش شوری بر اساس مهم‌ترین صفات تأثیرگذار بر عملکرد دانه بر اساس نتایج تجزیه رگرسیون بود؛ در شرایط تنش شوری برای طبق رگه‌های C134a، C90، LR18b، LR59، C86 و برای صد دانه رگه‌های C134a، C153، C86، C90، LR44، C55 و برای طول دم برگ رگه‌های C55، C134a، C74، C126 بالاترین مقدار را داشتند. همچنان که مشاهده می‌شود رگه C86 بر اساس هر دو صفت قطر طبق و وزن صد دانه (مهم‌ترین صفات مؤثر بر عملکرد دانه) برتر است.

الگوی الکتروفورزی (SDS-PAGE) پروتئین‌ها

بر اساس یافته‌های این پژوهش مشخص شد که الگوهای باندی دورگه حساس و متحمل به شوری مورد مطالعه متفاوت است (جدول ۹). مطابق نتایج، باندهای پروتئینی ۱۴۶، ۱۳۳

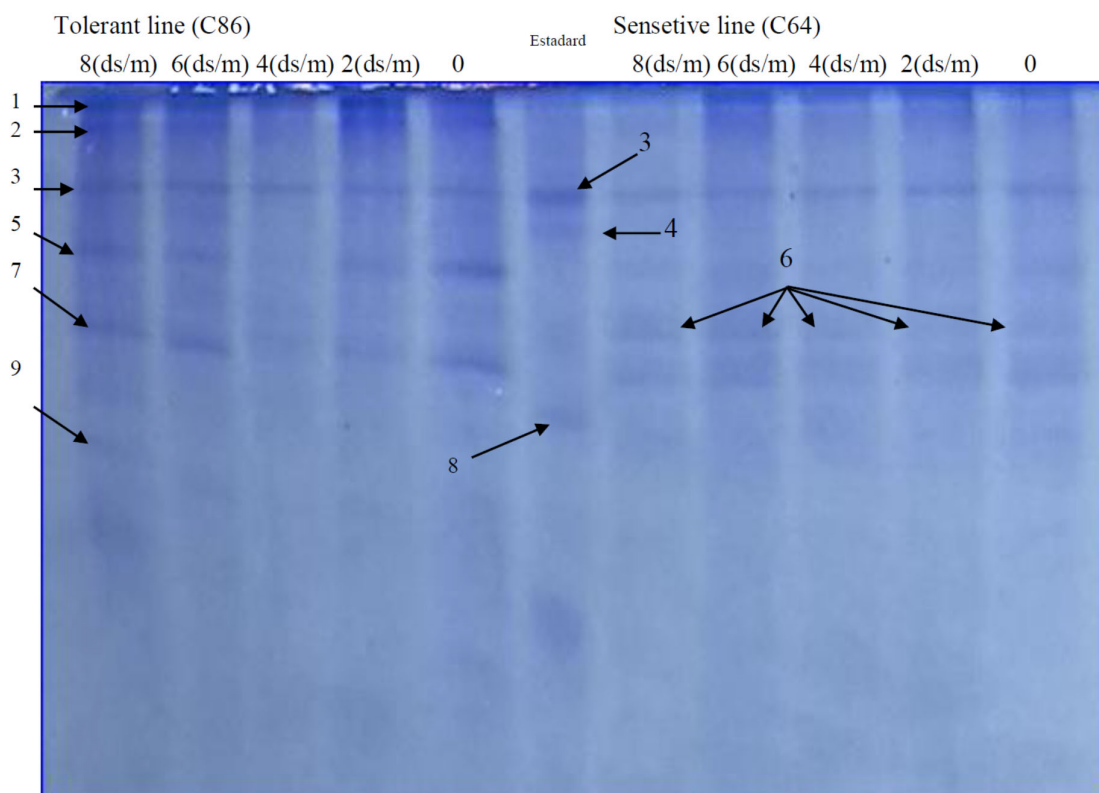
گیاه و نوع گونه و حتی ژنوتیپ گیاه مورد بررسی عامل اساسی تفاوت‌ها باشد. در پژوهش حاضر، تغییرات مشاهده شده در الگوی الکتروفورزی پروتئین‌های برگ بسته به میزان تنش شوری و ژنوتیپ مورد بررسی متفاوت بود.

جدول ۹. وزن مولکولی باندهای پروتئینی جدا شده در الکتروفورز

Table 9. Molecular weight of bands observed during protein electrophoresis

شماره باند Number of Band	وزن مولکولی باندها (کیلو دالتون) Molecular weight of bands	Salt susceptible line (C64) لاین حساس به شوری					پروتئین استاندارد Standard protein	Salt tolerant line (C86) لاین متحمل به شوری				
		0	2	4	6	8		0	2	4	6	8
1	146	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
2	133	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
3	116	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	97	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
5	83.45	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1
6	66	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
7	55	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
8	29	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
9	15.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

200KD Myosin from porcine heart, 116KD= β -Galactosidase from *E. coli*, 97KD= Phosphorylase b from rabbit muscle, 66KD= Albumin, bovine serum, 55KD =Glutamic Dehydrogenase from bovine liver, 45KD= Ovalbumin from chicken egg, 36KD= Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase from rabbit muscle, 29KD= Carbonic Anhydrase from bovine erythrocyte.



شکل ۴. الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها در SDS-PAGE

Fig 4. Electrophoresis pattern of proteins in SDS-PAGE

1: 146 KD, 2: 133 KD, 3: 116 KD, 4: 97 KD, 5: 83.45 KD, 6: 66 KD, 7: 55 KD, 8: 29 KD, 9: 15.27 KD). 116 KD= β -Galactosidase from *E. coli*, 97 KD= Phosphorylase b from rabbit muscle, 66 KD= Albumin, bovine serum, 29 KD= Carbonic Anhydrase from bovine erythrocytes

گروه ۲ و ۳، احتمالاً بیشترین موفقیت در تلاقی بین رگه‌های این دو گروه به دست خواهد آمد. بر اساس نتایج بخش اول مطالعه، رگه‌های C134a و C86 به‌عنوان ژنوتیپ‌های بالقوه متحمل جهت استفاده در تلاقی‌ها معرفی می‌گردند. در بخش دوم تحقیق بر اساس نتایج حاصله، الگوی الکتروفورزی متفاوتی در رگه‌های C86 و C64 در سطوح مختلف تنش شوری مشاهده شد که حاکی از واکنش متفاوت رگه‌ها به تنش شوری است. احتمالاً باندهای پروتئینی با وزن مولکولی ۵۵ و ۸۳/۴۵ کیلودالتون، پروتئین‌های مرتبط با تحمل به تنش شوری هستند که در رگه متحمل تغییرات بیان نشان می‌دهند. نتایج حاصل از این پژوهش می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی آفتابگردان جهت تولید ارقام متحمل به شوری مفید باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

بیشترین میزان ضریب تغییرات فنوتیپی در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری در صفات عملکرد دانه، طول دم برگ، عرض برگ، وزن صد دانه و وزن خشک طبق مشاهده شد که نشان‌دهنده نقش تعیین‌کننده صفات مذکور در بروز تنوع فنوتیپی است. در این مطالعه صفات قطر طبق و وزن صد دانه به دلیل تنوع ژنتیکی زیاد، همبستگی مثبت و اثر مستقیم بالا روی عملکرد دانه و از سویی وراثت‌پذیری متوسط، به‌عنوان صفات مطلوب برای گزینش ژنوتیپ‌های امیدبخش پیشنهاد می‌شوند. در هر دو شرایط نرمال و تنش شوری رگه‌های با بیشترین مقدار میانگین برای اکثر صفات مورد مطالعه در خوشه ۲ و رگه‌های با کمترین مقدار میانگین در خوشه ۳ قابل مشاهده است. با توجه به فاصله زیاد بین دو

منابع

- Ahmadpour, S., Sofalian, O. Darvishzadeh, R., 2017. Genetic diversity of oily sunflower lines under normal and salt stress conditions using multivariate statistical analysis methods. Iranian Journal of Field Crop Science. 48, 399-411. [In Persian with English summary].
- Andarkhor, S.A.A., Mastibege, N., Rameeh, V. Alitabar, R.A., 2014. Evaluation of combining ability and heterosis of phenological and morphological traits and seed yield in breeding lines of sunflower using Line×Tester analysis in summer cropping condition. Journal of Crop Breeding. 6, 1-17.
- 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 saline condition. Sci Pakistan Journal of Agricultural Sciences. 50, 49- 54.
- Ashraf, M. Akram, N.A., 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: an analytical comparison. Biotechnology. 27, 744-752.
- 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.
- Azzedine, F., Gherroucha, H. Baka, M., 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. Journal of Stress Physiology and Biochemistry. 7, 27-37.
- Bakalova, S., Nedeva, D. Mckee, J., 2008. Protein profiles in wheat seedlings subjected to dehydration stress. Applied Ecology and Environmental Research. 6, 37-48.
- 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.
- Falconer, D. S., Mackay, T. C. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. Fourth edition. Longman Group Limited. England. 464 pp.
- Faraghei, S.h., Farshadfar, M. 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. [In Persian with English summary].
- Flowers, T.J., Flowers, S.A., 2005. Why does salinity pose such a different problem for plant breeders? Agricultural Water Management. 78, 15- 24.
- Gentzmittel, L., Vear, F., Zhang, Y.X., Berville, A., 1995. Development of a consensus linkage RFLP map of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). Theoretical and Applied Genetics. 90, 1079-1086.

- Ghassemi-Golezani, K., Hosseinzadeh-Mahootchi, A., 2015. Improving physiological performance of safflower under salt stress by application of salicylic acid and jasmonic acid. *Walia Journal*. 31, 104-109.
- Hajheidari, M., Abdollahian-Noghabi, M., Askari, H., Heidari, M., Sadeghian, S.Y., Ober, E.S., Hosseini Salekdeh, G.h., 2005. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics*. 5, 950-960.
- Hakim, M., Juraimi, A.S., Hanafi, M., Ali, E., Ismail, M.R., Selamat, A., Karim, S.R., 2014. Effect of salt stress on morpho-physiology, vegetative growth and yield of rice. *Journal of Environmental Biology*. 35, 317-326.
- Heidari, A., Toorchi, M., Bandehag, A., Shakiba, M.R., 2011. Effect of NaCl stress on growth, water relations, organic and inorganic osmolytes accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*. 3, 351-362.
- Hussain, S.A., Akhtar, J., Haq, M.A., Riaz, M.A., Saqib, Z.A., 2008. Ionic concentration and growth response of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Genotypes under saline and/or sodic water application. *Soil and Environment*. 27, 177-184.
- Jamshidi Golan, S., Mazahery Laghab, H., Moosavi, S.S., Kakaei, M., 2015. Variability of Different Characteristics of Field Resistance in Different Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Genotypes to Alfalfa Weevil (*Hypera postica* Gyll.). *Plant Production Technology*. 7, 141-152
- Kafi, M., Salehi, M., Eshghizadeh, H.R., 2011. Biosaline Agriculture, Plant, Water and Soil Management Approaches. Ferdowsi University of Mashhad Publication, Mashhad, Iran. 380 pp. [In Persian].
- Kakaei, M., Mostafaie, A., 2010. Study of Seed Proteins Pattern of Cicer arietinum by Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamid Gel Electrophoresis. The 3rd Iranian Pulse Crops Symposium, 19-20 may 2010. [In Persian].
- Kanlaya, K.N., Sakda, D., Chaisiri, W., Sumontip, B., Manit, K., Piyada, T., 2005. Protein profiles in response to salt stress in leaf sheaths of rice seedlings. *Science Asia*. 31, 403-408.
- Kaps, M., Lamberson, W.R., 2009. Biostatistics for Animal Science: an introductory text. 2nd Edition. Oxfordshire, UK, 504p.
- Kholghi, M., Bernousi, I., Darvishzadeh, R., Pirzad, A., 2011. Correlation and path-coefficient analysis of seed yield and yield related trait in Iranian confectionery sunflower populations. *African Journal of Biotechnology*. 10, 13058-13063.
- Koc, E., Islek, C., Ustun, A.S., 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Gazi University Journal of Science*. 23, 1-6.
- Laurentin, H., 2009. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 56, 277-292.
- Manchanda, G., Garg, N., 2008. Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum*. 30, 595-618.
- Matsoukas, N.P., Morrison, W.R., 1991. Breadmaking quality of ten Greek bread wheat, 2. Relationships of protein, lipid starch components to baking quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 55, 87-101.
- Sarvari, M., Darvishzadeh, R., Najafzadeh, R., 2017. Morphological and molecular responses of sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines to drought stress. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 5, 40-56 [In Persian with English summary].
- Mohammadi, S.A., Prasanna, B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. *Crop Science*. 43, 1235-1248.
- Nadarajan, N., Gunasekaran, M., 2005. Quantitative Genetics and Biometrical Techniques in Plant Breeding. Kalyani Pub. New Delhi, India. pp: 27-28.
- 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.
- Rachid Al-Chaarani, G., Gentzbittel, L., Huang, X., Sarrafi, A., 2004. Genotypic variation and identification of QTLs for agronomic traits using AFLP and SSR in recombinant inbred lines of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 109, 1353-1360.
- 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 and Experimental Botany*. 71, 89–98.
- Rastegar, M.A., 2005. Pruducion of industry crop. Bahremand Perss. 479 pp.
- 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 and Subtropical Botany*. 17, 169-175.
- Shahbaz, M., Ashraf, M., Akram, N., Hanif, A., Hameed, S., Joham, S., Rehman, R., 2011. Saltinduced modulation in growth, photosynthetic capacity, proline content and ion accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*. 33, 1113- 1122.
- Shunping, Y., Tang, Z., Su, W., Sun, W., 2005. Proteomic analysis of salt stress responsive proteins in rice root. *Proteomics*. 5, 235-244.
- Singh, M., Singh, H., Kumar, R., Tank, D.S., Singh, V.P., Singh, T., Singh, S.M., 1988. Correlation and path coefficient analysis of some morphological and yield characters in sunflower. *Crops Research*. 16, 93-96.
- Stansfield. W. D., 1991. *Theory and Problems in Genetics*. McGraw-Hill.
- Tahir, M.A., Aziz, T., Farooq, M., Sarwar, G., 2012. Silicon induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane permeability in two salt stressed wheat genotypes. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 58, 247–256.
- Thompson, J.A., Nelson, R.L., 1998. Utilization of diverse germplasm for soybean yield improvement. *Crop Science*. 38, 1362-1368.
- Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., Befort, B.L., 2011. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 108, 20260–20264.
- Tunçturk, M., Ciftci, W., 2004. Relationships among traits using correlation and path coefficient analysis in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) sown different fertilization levels and row spacing. *Asian Journal of Plant Sciences*. 3, 683-686.
- Valizadeh, M., Moghadam, M., 2002. *Experimental designs in agriculture*. Seventh edition, Pishtaz Elem Pub., Tabriz, Iran, 452 p. [In Persian].
- Yasin, A.B., Singh, S., 2010. Correlation and path coefficient analyses in sunflower. *Journal of Plant Breeding Science*. 2, 129-133.

Original article

The effect of salt stress on morphological traits and electrophoresis pattern of proteins in recombinant inbred lines population of oilseed sunflower derived from PAC2 × RHA266 cross

F. Morsali Aghajari¹, R. Darvishzadeh^{2*}, Gh.H. Gholami³

1. Department of of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

2. Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

3. Department of Mathematics, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

Received 7 December 2018; Accepted 9 March 2019

Abstract

In order to investigate the morphological changes in 98 recombinant inbred lines population of oilseed sunflower derived from the cross of PAC2×RHA266 under normal and 6dS/m of salinity stress conditions, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with 3 replications in Urmia university. In each condition, after flowering stage the characteristics including: grain yield per plant, 100-seeds weight, leaf number, stem diameter, plant height, capitol diameter, leaf length, leaf width, petiole length, capitol dried weight, date to flowering were measured. Based on the results of ANOVA, salinity×genotype interaction effect was significant on plant height and petiole length characteristics. Comparison of mean of lines in normal and salt stressed conditions indicated that the average of lines under salinity stress conditions decreased compared to normal one. The highest reduction was observed in grain yield (13.23) and 100-seeds weight (10.60). Based on stepwise regression analysis, the head diameter and 100-seeds weight were entered in the model and explained some part of yield variation in both salinity and normal conditions. So, selecting for these characteristics will improve grain yield in both conditions. Based on the results of the first part of work, two salt tolerant and sensitive lines (respectively C86 and C64 lines) were selected and planted at different salinity levels (0, 2, 4, 6 and 8 dS/m) conditions and their protein electrophoresis patterns were investigated using SDS-PAGE. Based on the results of molecular experiment, different electrophoretic patterns for C86 and C64 lines were observed at different levels of salt stress, indicating a different reaction of lines to salt stress. Probably protein bands with molecular weights of 55 and 83.45 kDa are salt stress-related proteins that exhibit expression changes in the tolerant line. The results of the present study can be useful in sunflower improvement programs for developing salt tolerant cultivars.

Keywords: Heritability, Oilseed sunflower, Protein electrophoresis, Salinity stress, Stepwise regression.