



بررسی تحمل به شوری در برخی ارقام کلزا با استفاده از صفات مورفوفیزیولوژیک و نشانگرهای ISSR

علی اصغری^۱, شیوا محمدنیا^۲ و هاجر فلاحتی^۳

۱- دانشیار، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، (نویسنده مسؤول: ali_asgharii@yahoo.com)
۲- دانشجوی دکترای و کارشناس ارشد، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
تاریخ دریافت: ۹۴/۰۲/۲۷
تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۲۳

چکیده

کلزا (*Brassica napus L.*) یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی جهان محسوب می‌شود. از طرفی خاک‌های شور و شوری آب آبیاری از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای محیطی در تولید کلزا می‌باشدند. به‌منظور بررسی تحمل به شوری ارقام کلزا در مرحله گیاهچه از لحاظ صفات مورفوفیزیولوژیک و بررسی ارتباط این صفات با نشانگرهای ISSR، ۱۵ رقم کلزا در دو سطح تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولاًر و ۲۵۰ میلی‌مولاًر و شرایط بدون تنش به صورت آب کشت در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه تنش شوری موجب کاهش اکثر صفات مورد ارزیابی در ارقام کلزا به جز محتوای سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم شد. نتایج مقایسه میانگین و تجزیه خوش‌های نشان داد که رقم‌های SLMO46 و PF از نظر اکثر صفات در شرایط مختلف مورد بررسی نسبت به بقیه ارقام برتر بوده در حالی که، ارقام Hayola60 و Licord کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند. در بررسی مولکولی با استفاده از ۱۱ آغازگر ISSR، ۴۵ نوار چندشکل در ارقام مورد مطالعه کلزا تولید شد. میانگین محتوای اطلاع چندشکلی و شاخص نشانگری برای کلیه آغازگرها به ترتیب ۰/۸۲، ۰/۰۸ و ۱/۰۸ به دست آمد. در تجزیه خوش‌های با استفاده از داده‌های ISSR و فاصله ژنتیکی نی، ارقام کلزا به سه گروه تقسیم شدند. کمترین فاصله ژنتیکی بین دو رقم Zarfam و Jewel (+۰/۷۹) و بیشترین فاصله بین ارقام Quantum و Hyola60 با SLMO46 (+۰/۳۲) به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: تنش، شوری، کلزا، صفات مورفولوژیک، نشانگر مولکول

عوامل اصلی کاهش رشد گیاهان در شرایط شوری می‌باشد. با توجه به نقش اساسی پتاسیم در فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه نظیر باز و بسته شدن روزنه‌ها، تنظیم اسمزی، فعال کردن آنزیم‌های مختلف، افزایش هیدراسيون، اثر کلوتیدی و دخالت در نقل و انتقال مواد، کاهش آن مانع از رشد و نمو طبیعی گیاه می‌شود (۲۶). هنگامی که گیاه در شرایط شور رشد می‌کند فعالیت فتوستراتری آن کاهش می‌یابد و در نتیجه میزان رشد، سطح برگ و محتوای کلروفیل کاهش و فلورسانس کلروفیل افزایش می‌یابد (۴۳). در بررسی گیاه گندم (۳)، شنبیله (۵)، گونه‌های مختلف براسیکا (۷) و نیز ارقام مختلف کلزا (۱۰) ارتباط مستقیمی بین فتوستراتر و مقدار ماده حشک حاصل در شرایط تنش شوری گزارش شده است.

با توجه به این که صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در تمام مراحل رشد گیاه قبل از اندازه‌گیری نمی‌باشدند، در سال‌های اخیر زیست شناسی مولکولی ابزارهای مناسبی را برای تجزیه و تحلیل جامع تر در مورد شناسایی موجودات زنده فراهم کرده است. در این میان نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR هستند که بر اساس نواحی ریزماهواره‌ای هدف طراحی شده‌اند. چائوزی و همکاران تنواع ژنتیکی ۲۴ رقم کلزا بهاره و پاییزه سوئی و نیمه پاییزه چنی را به کمک نشانگرهای ISSR بررسی کردند. تجزیه خوش‌های با استفاده از روش UPGMA بر اساس ۱۲۵ نوار چند شکل تکثیر شده با ۲۰ آغازگر، ۳۴ رقم کلزا را به سه گروه منتسب کرد. این مطالعه نشان داد که نشانگرهای ISSR می‌توانند به عنوان

مقدمه

دانه‌های روغنی بعد از غلات دومین منبع مهم تامین انرژی مورد نیاز انسان هستند (۳۴). کلزا (*Brassica napus L.*) یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی جهان محسوب می‌شود و مقام سوم را پس از سویا و نخل روغنی در تامین روغن جهان و ایران دارد (۴۶). دانه‌های کلزا به طور متوسط دارای ۴۰-۴۵ درصد روغن بوده و منبع ارزشی برای تامین روغن خوارکی و نیز مصارف صنعتی است (۳۳). با توجه به افزایش روز افزون جمعیت جهان، که تا سال ۲۰۵۰ به ۹ میلیارد نفر خواهد رسید، در آینده امنیت غذایی انسان‌ها مهم‌ترین چالش پیش روی دولتها خواهد بود (۱۲). امنیت غذایی انسان‌ها توسط عوامل مختلفی مانند تنش‌های زنده و غیر زنده به خطر می‌افتد (۱۵). تنش شوری از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که بهره‌برداری کشاورزی را محدود می‌کند (۲۸). خاک‌های شور و شوری آب آبیاری از مهم‌ترین عوامل تنش‌زای محیطی در تولید کلزا می‌باشدند (۱۵). شوری از طریق کاهش پتانسیل اسمزی خاک یا تنش آبی و تنش یونی سبب کاهش رشد و نمو گیاه می‌گردد. در اثر تنش یونی حاصل از شوری جذب عناصر و یون‌های ضروری مورد نیاز گیاه مانند کلسیم، منیزیم، فسفر و نیترات کاهش می‌یابد (۸). تاثیرات مضر املاح بر گیاهان نتیجه تلفیق عوامل مختلفی می‌باشد که می‌توان نتیجه آن را در گیاه به صورت کاهش رشد (۱۴) کاهش جذب آب که با کاهش سنتز پروتئین، تعرق، انتقال یون و در نهایت با کاهش محصول مشاهده کرد (۱). افزایش یون سدیم در محیط ریشه سبب کاهش میزان جذب یون پتاسیم و پایین آمدن نسبت پتانسیل به سدیم می‌گردد (۱۳). عدم تعادل عناصر غذایی در بخش هوایی یکی از

سانتی گراد، دمای دوره تاریکی 18 ± 3 درجه سانتی گراد و با طول دوره روشنایی و تاریکی مشخص که تابع طول روز بود، انجام شد. آزمایش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. بنزور هر رقم توسط هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضد غونی شدند. به منظور جوانه زنی یکنواخت، بنزور در ظروف پتربی دش حاوی کاغذ صافی مطروب در دستگاه ژرمنیاتور (دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت ۶۰ درصد) قرار داده شدند. پس از جوانه زنی، بنزور با جوانه های یکنواخت به ظروف ۱۲ لیتری حاوی محلول غذایی هوگلنند نصف غلظت (۲۰)، منتقل شدند. برای نگهداری و کشت گیاهچه ها، بذر های جوانه زده، روی سطح تیوب های کوچک که بر روی صفحه یونولیت با ضخامت ۲ سانتی متر واقع در روی ظروف محیط کشت که در زیر آن ها تویر تعبیه شده بود، قرار داده شدند. برای جلوگیری از خفه شدن گیاهچه ها، محلول غذایی هوگلنند توسط پمپ آکواریوم هواده می شد.

روشی کارآمد و مناسب برای ارزیابی تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم کلزا استفاده کردند (۱۷). از نشانگرهای ISSR به عنوان وسیله ای در شناسایی ژنتیک ها و همچنین مطالعه ساختار جمعیتی گونه های گیاهی مانند کلزا (۲۵)، گندم (۳۰) و سیب زمینی (۳۷) استفاده شده است.

هدف از تحقیق حاضر ارزیابی پانزده رقم کلزا از نظر مقاومت به تنش شوری و گروه بندی آن ها بر اساس صفات اندازه گیری شده و همچنین تعیین تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر ISSR بود.

مواد و روش ها

در این تحقیق پانزده رقم کلزا از بخش دانه های روغنی موسسه نهال و بذر کرج تهیه شد و از نظر تحمل به تنش شوری در مرحله ی گیاهچه در مهر ماه سال ۱۳۸۹ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه حقوق اردبیلی از طریق کشت هیدروپونیک مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش در گلخانه با رطوبت نسبی ۳۸٪ درصد، دمای دوره روشنایی 20 ± 5 درجه

جدول ۱- اسمای ارقام کلزای مورد مطالعه در شرایط تنش شوری

Table 1. The names of studied *Brassica napus* cultivars in salinity stress condition

نام رقم	شماره	نام رقم	شماره
Zarfam	۹	PF	۱
Jewel	۱۰	Hyola 401	۲
Hyola 60	۱۱	Adder	۳
Talaye	۱۲	Licord	۴
Oriente	۱۳	SLM 046	۵
Hyola 308	۱۴	SLM 043	۶
Quantum	۱۵	Okapia	۷
		RGS	۸

کرت اصلی شامل سطوح تنش ۱۵۰، ۲۵۰ میلی مولار کلرید سدیم (NaCl) (۶) و شاهد و کرت فرعی شامل ۱۵ رقم کلزا (جدول ۱) بود.

طریق غوطه ور ساختن ریشه در آب مقطر در درون یک استوانه مدرج با حجم ۱۰ سانتی متر مکعب اندازه گیری شد (۴). پس از جدا کردن ریشه ها با استفاده از خط کش بر حسب سانتی متر طول ریشه اندازه گیری شد. جهت محاسبه وزن خشک ریشه و وزن خشک اندام هواپی نمونه ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد قرار داده شد و سپس با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ اندازه گیری شدند. از مجموع وزن خشک ریشه و اندام هواپی، صفت عملکرد بیولوژیک و از تقسیم وزن خشک ریشه به وزن خشک اندام های هواپی، صفت نسبت ریشه به اندام هواپی به دست آمد. برای اندازه گیری سدیم و پتاسیم، نمونه های اندام هواپی کلزا به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد در آون خشک شد و وزن آن ها اندازه گیری شد. سپس، نمونه های خشک شده گیاهی به وسیله آسیاب به صورت پودر در آمد. یک گرم از پودر حاصل در بوته چینی ریخته شد و در کوره الکتریکی به مدت ۴ ساعت در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد خاکستر شد. سپس، خاکستر بدست آمده به وسیله ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ مولار عصاره گیری شد و جهت اندازه گیری عناصر پتاسیم و سدیم توسط دستگاه فیلم فتو متر مورد استفاده قرار گرفت (۲۳).

۲۰ روز پس از کشت و در مرحله سه برگ چهاری، تنش شوری با استفاده از کلرید سدیم با مقادیر ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی مولار اعمال شد. برای جلوگیری از شوک اسمزی، کلرید سدیم در سه نوبت با مقدار مساوی به گلدان ها اضافه شد. برای این منظور، مقدار نمک مورد نیاز برای رسیدن ۱۲ لیتر محلول هر گلدان به غلظت های مذکور محاسبه شد. کلرید سدیم مورد نیاز به سه قسمت مساوی تقسیم و هر دو روز یک بار به گلدان ها اضافه گردید. ۲۰ روز پس از اعمال تنش شوری نمونه برداری از بخش های مختلف گیاهچه ها به منظور اندازه گیری صفات کلروفیل برگ، سطح ریشه، حجم ریشه، طول ریشه، عملکرد بیولوژیک، نسبت ریشه به اندام هواپی، وزن خشک ریشه، وزن خشک اندام هواپی، اندازه گیری سدیم و پتاسیم انجام شد.

میزان کلروفیل با استفاده از برگ های جوان و توسعه یافته به وسیله دستگاه کلروفیل متر مدل 502-SPAD از کمپانی Konica Minolta اندازه گیری شد. این دستگاه با اندازه گیری طیف جذبی در محدوده نور آبی (۴۰۰-۵۰۰ nm) و در محدوده نور قرمز (۵۰۰-۶۰۰ nm) میزان کلروفیل را به صورت غیر تحریبی تعیین می کند. صفت سطح ریشه با استفاده از روش اتکینسون (۴) برآورد گردید. حجم ریشه از

تنش شوری به غیر از صفت نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در بقیه صفات اختلاف معنی داری را در سطح احتمال یک درصد نشان دادند. در حالیکه برهمنکنش شوری در رقم در تمامی صفات غیر معنی دار بود (جدول ۲).

مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری با روش حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد نشان داد که بیشترین میزان برای صفات مورد بررسی در سطح شاهد مشاهده شده که با افزایش شوری از میزان وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه، طول ریشه، حجم ریشه، سطح ریشه، عملکرد بیولوژیک و میزان پتانسیم موجود در اندام هوایی به طور چشمگیری کاسته شد، در حالی که، میزان سدیم در اندام هوایی و نیز نسبت سدیم به پتانسیم روند افزایشی را نشان دادند.

نتایج مقایسه میانگین همچنین نشان داد که صفات مقدار کلروفیل و فلوروسانس کلروفیل اختلاف معنی داری را در سطح شوری ۲۵۰ میلی مولار نشان دادند (جدول ۳). یکی از عوامل کاهش کلروفیل افزایش سدیم در اندام های هوایی می باشد که سبب تجزیه کلروفیل در برگ ها می شود (۱۹). غلظت بالای سدیم در برگ ها باعث تخریب سریع تر کلروفیل می شود که برخی آن را ناشی از فعالیت آنزیم کلروفیلاز عنوان کرده اند (۳۹)، بطوریکه برخی از محققین معتقدند که توانایی حفظ کلروفیل در گیاه سبب بهبود وضعیت قدرت رویش گیاهچه در شرایط تنش شوری می شود (۲۲). شوری باعث افزایش بیون سدیم در سیتوپلاسم فعالیت های آنزیمی ۵۰ نوع بیش از حد سدیم در سیتوپلاسم می شود (۳۰). افزایش آنزیم که برای فعالیت خود احتیاج به پتانسیم دارد، را مختل می کند. چون، بیون سدیم نمی تواند نقش بون پتانسیم را در این آنزیم ها ایفا کند. بنابراین، با افزایش بیون سدیم در سیتوپلاسم و برتری این بیون در رقابت با بیون پتانسیم جهت اتصال به آنزیم های مورد نظر، فعالیت های متabolیسم گیاه دچار اختلال می گردد (۴۴). همچنین، از آثار سوء دیگر تجمع بیش از حد سدیم در سیتوپلاسم، ایجاد اختلال در پیکارچگی ساختار و عمل غشا های سلولی می باشد (۴۵). محققین نسبت Na^+/K^+ را به عنوان یک پارامتر قابل اطمینان برای تعیین تحمل به تنش شوری در گیاه زراعی کلزا گزارش کرده اند (۱۱). رقم 308 Bیشترین و رقم 60 Hyola Kمترین وزن تر اندام هوایی را داشتند. از نظر صفت وزن خشک اندام هوایی نیز رقم SLMO46 دارای بیشترین میزان این صفت بود. در حالی که، ارقام Hyola60 و Jewel و Licord دارای کمترین میزان وزن خشک اندام هوایی بودند (جدول ۴). افزایش شوری باعث کاهش مقدار ماده خشک در ارقام مختلف کلزا می شود (۲). کاهش ماده خشک به سبب کاهش سطح برگ گیاه، کاهش فشار آماس سلول و کاهش میزان فتوسترات در شرایط تنش شوری رخ می دهد (۹). محققین میزان تحمل به شوری در کلزا را با مقدار ماده خشک تولیدی در مرحله گیاهچه ای متناسب دانسته اند (۷). بیشترین مقدار صفت وزن تر ریشه مربوط به ارقام PF و SLMO46 و کمترین مقدار آن مربوط به رقم Licord بود (جدول ۴). از نظر وزن خشک ریشه، رقم SLMO46 دارای بیشترین مقدار و ارقام Licord

برای تجزیه مولکولی استخراج DNA به روش CTAB مطابق با روش سقایی معروف و همکاران (۴۱) انجام گرفت. برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده از الکتروفورز زل آگارز ۸/۰ درصد و دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد. رقم Hyola 401 به علت داشتن کمیت و کیفیت بقیه ارقام، DNA های استخراج شده رقیق شدند. برای تکثیر قطعات DNA ژنومی از ۱۱ آغازگر ISSR تهیه شده از شرکت متایرون کره استفاده شد. واکنش زنجیره ای پلیمراز با حجم ۲۰ میکرو لیتر انجام گردید.

چرخه های دمایی و زمانی واکنش PCR شامل: مرحله اول چهار دقیقه واسرشته سازی اولیه (94°C دمای (۴۰) مرحله دوم (94°C دمای (۳۰) ۳۵ ثانیه واسرشته سازی (دمای (94°C دمای (۳۰) ۳۰ ثانیه سیکل شامل اتصال (دمای 5°C - 5°C - 47°C)، یک دقیقه تکثیر (دمای (72°C دمای (۲۰) مرحله سوم ده دقیقه تکثیر نهایی (دمای (72°C دمای (۲۰) مرحله چهارم پنج دقیقه (دمای (40°C صورت گرفت. سپس محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز گردید. امتیازدهی نوارها به صورت حضور (۱) و عدم حضور (۰) انجام شد. تعداد نوارهای چند شکل و یک شکل هر آغازگر و میزان تنوع ژنی بین ژنوتیپ ها با استفاده از شاخص تنوع ژنی نی (۴۵) برآورد شد. شاخص اطلاعات شانون ($H = -\sum f_i \ln f_i$) ژنوتیکی بین ژنوتیپ ها با استفاده از فرمول (f_i) فراوانی یک نوار ISSR در جمعیت، لگاریتم بر مبنای عدد نپری) محاسبه شد. همچنین، محشای اطلاعات چند شکلی (PIC) و شاخص شانگر (MI) هر آغازگر محاسبه گردید. برای محاسبه PIC از فرمول $PIC_i = 2f_i(1-f_i)$ استفاده شد که در آن f_i فراوانی قطعه (آل) تکثیر شده و $1-f_i$ فراوانی آل نول (عدم وجود نوار) می باشد (۴۰). شاخص شانگر (MI) از حاصلضرب PIC در تعداد نوارهای چند شکل هر آغازگر بدست آمد (۳۶). گروه بندی ژنوتیپ ها با استفاده از تجزیه خوشه ای به روش دورترین همسایگی و ضریب تشابه SM¹ انجام شد. مناسب بودن روش تجزیه خوشه ای با محاسبه ضریب همبستگی کوفتیک تعیین گردید، که از بین ضرایب تشابه SM، جاکارد و دایس، ضریب تشابه بیشترین همبستگی کوفتیک را نشان داد. برای انجام تجزیه های فوق از نرم افزارهای GeneAlex، SPSS v.19، PopGen32 و NTYSYS 2.2، 6.4 استفاده گردید.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی صورت گرفت، اما با توجه به این که در صفات مورد مطالعه خطای اول معنی دار نشد، لذا مجدداً تجزیه واریانس به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی انجام گرفت. تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده نشان داد که اختلاف معنی داری بین ارقام از لحاظ صفات وزن تر اندام هوایی و ریشه، وزن خشک ریشه، حجم ریشه، سطح ریشه در سطح احتمال یک درصد و برای صفات وزن خشک اندام هوایی، طول ریشه و عملکرد بیولوژیک در سطح احتمال پنج درصد وجود داشت. سطوح

شناخته نشده‌اند، اما معلوم شده است که تحمل به شوری تا حد زیادی مربوط به تجمع کم سدیم در بافت گیاه است. برای رسیدن به این ویژگی مهم بایستی ارقام گیاهان زراعی از توانایی بسیار بالایی (ازدیک به ۱۰۰٪) در انتقال مجدد سدیم به بیرون از ریشه برخوردار باشند (۱۸).

افزایش توانایی در جذب انتخابی پتانسیم از محیطی که دارای مقادیر بالای سدیم است، ممکن است اهمیت زیادی در تحمل به شوری داشته باشد (۱۵). رشید و همکاران (۳۸) در بررسی تحمل به شوری ارقام مختلف گندم، افزایش معنی داری در میزان سدیم با افزایش سطح شوری مشاهده نمود که دارای تنوع ژنتیکی بالایی در جذب سدیم در بین ارقام بود. در جو نیز گزارشاتی مبنی بر افزایش غلظت سدیم بافت بخش هوایی و کاهش میزان پتانسیم محتوی بافت بخش هوایی با افزایش شوری مشاهده شده است (۲۷). در سطح تنفس ۲۵۰ میلی‌مولار، سه گروه مجزا مشخص شد (شکل ۱ ج)، که در بین آن‌ها گروه اول شامل ارقام RGS، PF، Zarfam، SLMO43، Quantum، SLMO46، Hyola401 (بیشترین مقادیر صفات وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، حجم و سطح ریشه، طول ریشه، نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی، فلورورسانس کلروفیل و عملکرد بیولوژیک بود. گروه سوم از لحاظ این صفات پایین‌ترین مقدار را داشت (جدول ۷).

برای بررسی چندشکلی‌های DNA بین ارقام کلزا تعداد ۱۱ آغازگر ISSR جهت بررسی تنوع بین ارقام کلزا استفاده گردید. این آغازگرها در مجموع ۴۵ نوار چندشکل تولید کردند. تعداد قطعات تکثیر شده با آغازگرهای مختلف بسیار متفاوت بود. بدطوری که، آغازگرهای شماره ۱۱، ۱۶ و ۲۲ تنها با دو نوار چندشکل و میانگین درصد چند شکلی ۳۷/۷۸٪ کمترین آغازگر شماره ۸ با ۷ نوار چند شکل و درصد چند شکلی ۷۷/۷۸٪ بیشترین میزان چند شکلی را نشان دادند (جدول ۸). محبوب و همکاران (۲۵) ۳۶ زنوتیپ کلزا را با استفاده از ۱۳ نشانگر ISSR مورد ارزیابی قرار دادند و در مجموع ۲۵۷ مکان چندشکلی مشاهده کردند و نشانگر ISSR را برای شناسایی تفاوت‌های بین گونه‌ای و همچنین داخل گونه‌ای در مطالعات فلوروتیکی و بررسی ساختار ژنتیکی ژنوتیپ‌های کلزا هم‌زمان با بکارگیری صفات مورفولوژیکی پیشنهاد کردند.

به منظور گروه‌بندی ارقام کلزا بر اساس داده‌های ISSR تجزیه خوش‌های به روش دورترین همسایگی با استفاده از ماتریس شباهت SM انجام شد (شکل ۳). مناسب بودن روش تجزیه خوش‌های با توجه به معنی‌دار بودن ضریب همیستگی کوفتیک در سطح احتمال یک درصد مشخص شد ($r=+0.82^{**}$).

Adder Hyola و کمترین مقدار را از نظر صفت مذکور داشتند (جدول ۴). از جمله دلایلی که می‌توان برای این کاهش وزنی در گیاهان مورد مطالعه بیان نمود، از بین رفتن تعادل یونی و تعادل اسمزی است که از جمله آثار مخرب شوری است و ریشه اولین اندامی است که به دلیل جذب عناصر به طور مستقیم با تنفس مواجه می‌گردد (۳۵). طول ریشه در مراحل گیاهچه و گیاه كامل با افزایش غلظت شوری به دلیل کاهش و اختلال در فعالیت‌های زیستی و متابولیسمی کاهش می‌یابد که این امر در گیاهان مختلف نظری گندم گزارش شده است (۲۴). نتایج مقایسه میانگین ارقام نشان داد که بیشترین اندازه طول ریشه و سطح ریشه را رقم SLMO46 و کمترین مقدار طول ریشه را رقم RGS داشت. رقم PF از لحاظ حجم و سطح ریشه بیشترین مقدار، رقم Hyola60 کمترین مقدار سطح ریشه و رقم Licord کمترین مقدار حجم ریشه را داشت. عملکرد بیولوژیک در رقم SLMO46 بالاترین مقدار و در ارقام Licord و Hyola60 کمترین مقدار را داشت. در اکثر مطالعات انجام شده روی کلزا (۲۱) افزایش شوری اثر منفی معنی‌داری بر عملکرد بیولوژیک داشته است که در نتیجه کاهش سطوح فتوسترات کنده و مصرف بیش از حد انرژی در جهت کنترل و کاهش اثر تنفس شوری است. شوری باعث افزایش یون سدیم در اندام هوایی کلزا شد (جدول ۳). در نتیجه سبب کاهش میزان دسترسی گیاهچه‌های کلزا به آب می‌گردد. لذا، تنفس خشکی حاصل از شوری اولین عامل کاهنده رشد گیاه محسوب شده و در ادامه سدیم و کلر در گیاه تجمع یافته و سبب بروز تنفس گیاه می‌گردد. اشرف (۷) با مطالعه اثر غلظت‌های مختلف شوری در شش گونه براسیکا مشاهده کردند که با افزایش غلظت شوری، میزان غلظت یون سدیم بسیار زیاد و مقدار یون پتانسیم بسیار کم شد. در اثر تنفس یونی جذب عناصر ضروری مورد نیاز گیاه مانند پتانسیم، کلسیم، فسفر، نیترات و منیزیم کاهش می‌یابد. برایند این عوامل منجر به کاهش رشد و تولید ماده خشک می‌گردد.

گروه‌بندی ارقام کلزا با استفاده از تجزیه خوش‌های بر اساس میانگین استاندارد شده صفات مورفولوژیک به روش Ward در سه سطح شاهد، تنفس شوری ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار به طور جداگانه انجام شد (شکل ۱). برای تعیین محل مناسب برای برش نمودار درختی از تجزیه واریانس چند متغیره استفاده شد. در سطوح شاهد، تنفس ۱۵۰ میلی‌مولار و ۲۵۰ میلی‌مولار ارقام به سه گروه مجزا تقسیم شدند (شکل ۱).

در سطح شاهد ارقام خوش‌های اول PF و SLMO46 از لحاظ اکثر صفات نسبت به میانگین کل برتری داشتند. میانگین ارقام گروه سوم در اکثر صفات نسبت به تاکنون مکانیسم‌های بیولوژیک و مولکولی در گیاهان مقاوم به شوری به خوبی

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه کلزا در شرایط تنش شوری

Table 2. Analysis of variance for studied traits of *Brassica napus* under salinity stress condition

میانگین مربوطات

متغیر	ازدیادی	درجه	منابع	وزن تر اندام هواي ريشه	وزن تر اندام هواي ريشه	وزن خشك ريشه (R) (S)	طول ريشه	حجم ريشه	سطح ريشه	R/S	عملکرد بیولوژیك	کلروفیل	Fv/Fm	سدیم	پتانسیم	نسبت سدیم به پتانسیم
تکرار	۲			۶/۷۴ns	۱/۱۲۶**	۰/۰۸۸ns	۶۲/۶۹**	۰/۰۱۱ns	۷/۱۹ns	۰/۰۰۴**	۰/۱۱۳ns	۹۶/۴۲**	۰/۰۰۳ns	۲/۶۶**	۴۸/۴۳	۰/۰۰۰۴۳ns
شوری	۲			۶۴۹/۶۲**	۲/۹۸**	۴/۸۸**	۱۰۳۵/۳۱**	۰/۰۳۷**	۱۴۹۳/۰۳**	۰/۰۰۲ns	۶/۱۲**	۱۳۹۰/۶۷**	۰/۰۰۰۷۷ns	۱۲۸/۴۵**	۴۸/۴۳	۰/۰۰۰۴۳ns
رقم	۱۴			۹/۵۴**	۰/۰۶۸**	۰/۷۵**	۱۲/۶۵	۰/۰۰۶**	۰/۰۶۷**	۰/۰۰۱ns	۰/۰۹۹**	۹/۸۷ns	۰/۰۰۰۱۶ns	۰/۰۰۰۱۶ns	۰/۰۰۰۱۶ns	۰/۰۰۰۱۶ns
رقم	۲۸			۲/۵۴ns	۰/۰۱۷ns	۰/۰۳۹ns	۳/۸۶ns	۰/۰۰۳ns	۰/۰۱۷ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۰۷۸ns	۱۲/۴۶ns	۰/۰۰۰۷۸ns	۰/۰۰۰۷۸ns	۰/۰۰۰۷۸ns	۰/۰۰۰۷۸ns
شوری				۳/۷۹	۰/۰۱۶	۰/۰۳۳	۶/۲۲	۰/۰۰۲	۰/۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۴۱	۱۲/۴۱	۰/۰۰۰۷۸ns	۰/۰۰۰۷۸ns	۰/۰۰۰۷۸ns	۰/۰۰۰۷۸ns
اشتباه	۸۸			۲۹/۹۸	۱۵/۹۹	۲۸/۴۳	۸/۹	۱۷/۳۵	۲۱/۰۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۷۸ns	۱۱/۵۵	۰/۰۰۰۷۸ns	۳/۹۷	۰/۰۰۰۷۸ns	۰/۰۰۰۷۸ns
ضریب تغییرات																

* ns و ** : به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد
نشان دهنده بیشینه کارایی کوانتومی فتوسیستم Fv/Fm و معیاری از نحوه عملکرد فتوسنتز گیاهی است

جدول ۳- مقایسه میانگین بین سطوح شوری و شاهد در ارقام کلزا به روش حداقل اختلاف معنی دار (LSD) (Table 3. Mean comparison of control and salinity levels in *Brassica napus* cultivars using Least Significant Difference (LSD) method)

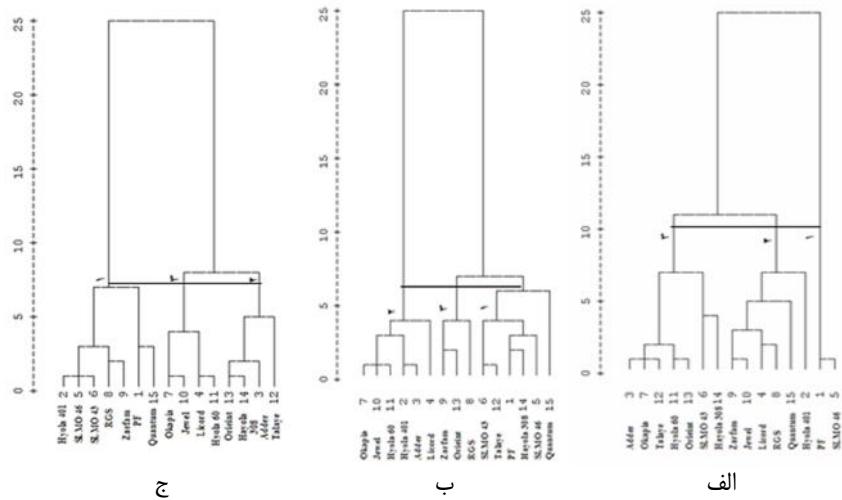
تیمار	وزن تر اندام هواي ريشه (gr)	وزن تر اندام هواي (gr)	وزن خشك ريشه (gr)	طول ريشه (cm)	حجم ريشه (cm³)	سطح ريشه (cm²)	عملکرد بیولوژیك (gr)	کلروفیل 1 FW (gr)	نسبت سدیم به پتانسیم	سدیم (ppm)	پتانسیم (ppm)	Fv/Fm
شاهد	۱/۱۱a	۱۰/۳۴a	۰/۹۹a	۳۳/۲۳a	۱/۰۱a	۲۰/۸۱a	۱/۰۷a	۳۳/۲۱a	۰/۰۲۴c	۰/۰۷7c	۲/۲۲a	۰/۰۲۲a
۱۵۰ Mm	۰/۰۷b	۰/۸۹b	۰/۰۷b	۲۶/۹۸b	۰/۰۵۹b	۱۴/۰۲b	۰/۸۷b	۳۳/۲۰a	۳/۴۹b	۳/۹۸b	۱/۲۹c	۱/۰۲۹c
۲۵۰ Mm	۰/۰۴c	۰/۲۹c	۰/۰۴c	۲۳/۸c	۰/۳۰c	۹/۳۵c	۰/۳۷c	۲۴/۱۱b	۷/۲۵a	۱۳/۷۹a	۱/۹۲b	۰/۹۲b

تفاوت حروف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشد

جدول ۴- مقایسه میانگین ارقام مورد مطالعه کلزا از نظر صفات مورفولوژیک با روش حداقل اختلافات معنی دار
Table 4. Mean comparison of morphological traits in studied *Brassica napus* cultivars using least significant differences method

رقم	وزن تر اندام هوایی (gr)	وزن تر ریشه (gr)	وزن خشک اندام هوایی (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	حجم ریشه (cm ³)	طول ریشه (cm)	سطح ریشه (cm ²)	عملکرد بیوپوژیک (gr)
PF	۷/۷۱ ^{ac}	۱/۰ ^a	۰/۷۹ ^{ab}	۰/۱۰ ^{ab}	۰/۹۷ ^a	۲۸/۷۷ ^{ac}	۱۸/۲۳ ^a	-/۸۸ ^{ab}
Hyola 401	۵/۵۹ ^c	۰/۷۸ ^a	۰/۵۶ ^{cd}	۰/۰۷ ^{be}	۰/۷۵ ^{ad}	۲۶/۸۲ ^{bc}	۱۵/۲۲ ^{ad}	-/۶۳ ^{cd}
Adder	۶/۲۱ ^a	۰/۵۸ ^{cd}	۰/۰۵ ^{de}	۰/۵۱ ^{ce}	۰/۴۱ ^{ce}	۲۸/-۰ ^۵ ac	۱۳/۱۹ ^{bd}	-/۶۴ ^{cd}
Licord	۵/۲۸ ^{ed}	۰/۵۴ ^d	۰/۰۵ ^{de}	۰/۴۹ ^e	۰/۴۹ ^e	۲۸/۶۸ ^{ac}	۱۲/۷۶ ^{cd}	-/۵۹ ^{cd}
SLMO 46	۷/۱۸ ^{ab}	۰/۹۵ ^a	۰/۱۰ ^a	۰/۹۳ ^{ab}	۰/۹۳ ^{ab}	۳۰/۶۱ ^a	۱۸/۱۸ ^a	-/۹۲ ^a
SLMO 43	۶/۵۴ ^{ac}	۰/۷۷ ^{ad}	۰/۰۸ ^{ad}	۰/۷۳ ^{ad}	۰/۷۳ ^{ad}	۲۸/۸۵ ^{ab}	۱۵/۸۴ ^{ac}	-/۷۶ ^{ad}
Okapia	۵/۹ ^{be}	۰/۰۵ ^{cf}	۰/۰۹ ^{de}	۰/۵۲ ^{ce}	۰/۵۲ ^{ce}	۲۸/۳۳ ^{ac}	۱۳/۳۸ ^{bd}	-/۶۳ ^{cd}
RGS	۶/۱۸ ^{ac}	۰/۷۵ ^{ad}	۰/۰۵ ^{ad}	۰/۷۱ ^{ae}	۰/۷۱ ^{ae}	۲۶/-۰ ^۳ c	۱۴/۷۹ ^{bd}	-/۷۷ ^{ad}
Zarfam	۶/۱۴ ^{ac}	۰/۰۸ ^{ad}	۰/۰۳ ^{ad}	۰/۵۵ ^{ce}	۰/۵۵ ^{ce}	۲۷/۹۲ ^{ac}	۱۳/۶۵ ^{bd}	-/۶۸ ^{bd}
Jewel	۵/۴۱ ^{dc}	۰/۰۹ ^{bf}	۰/۰۷ ^{ce}	۰/۴۴ ^{ce}	۰/۴۴ ^{ce}	۲۶/۶۶ ^{bc}	۱۳/-۰ ^۵ bd	-/۶۰ ^{cd}
Hyola 60	۴/۸۵ ^c	۰/۰۵ ^{cd}	۰/۰۴ ^d	۰/۴۸ ^{de}	۰/۴۸ ^{de}	۲۶/۷۳ ^{bc}	۱۲/۳۷ ^d	-/۵۷ ^d
Talaye	۶/۱۶ ^{ac}	۰/۰۵ ^{bf}	۰/۰۷ ^{ad}	۰/۵۳ ^{bc}	۰/۵۳ ^{bc}	۲۷/۵۹ ^{bc}	۱۴/۲۹ ^{bd}	-/۷۴ ^{ad}
Orieint	۷/۱۲ ^{ad}	۰/۰۷ ^{bf}	۰/۰۳ ^{ad}	۰/۵۶ ^{ce}	۰/۵۶ ^{ce}	۲۷/-۰ ^۳ c	۱۳/۷۷ ^{bd}	-/۶۸ ^{bd}
Hayola 308	۸/۱۴ ^a	۰/۷۸۵ ^{ac}	۰/۰۷ ^{ad}	۰/۷۶ ^{ac}	۰/۷۶ ^{ac}	۲۹/-۰ ^۲ ab	۱۶/۱۲ ^{ab}	-/۸۳ ^{ac}
Quantum	۷/۶۲ ^{ac}	۰/۰۹ ^{ab}	۰/۰۳ ^{ad}	۰/۷۴ ^{ac}	۰/۷۴ ^{ac}	۲۸/۷۴ ^{ac}	۱۵/۹۸ ^{ac}	-/۷۰ ^۲ bd

تفاوت حروف در هر ستون نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال ۵ درصد می باشد



شکل ۱- گروه‌بندی ارقام مختلف کلزا بر اساس صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک به روش Ward در سطح: (الف) شاهد، (ب) شوری ۲۵۰ میلی مولار (ج) شوری ۱۵۰ میلی مولار

Figure 1. Grouping of *Brassica napus* cultivars based on physiological and morphological traits using Ward method at levels of control (A), 150 mM (B) C) and 250 mM salinity

جدول ۵ - میانگین، انحراف از میانگین کل، درصد انحراف از میانگین کل و انحراف استاندارد میانگین‌ها در ۳ خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورفو‌فیزیولوژیک ارقام کلزا در سطح شاهد

Table 5. Mean, deviation from total mean, standard error of mean in three groups obtained from cluster analysis for morphophysiological traits of *Brassica napus* cultivars at control level

ردیف	نام	خوشه	وزن تراویحی (gr)	وزن اندام هوایی (gr)	وزن اندام	وزن تراویحی (gr)	وزن تراویحی (gr)	وزن خشک اندام هوایی (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	حجم ریشه (cm ³)	طول ریشه (cm)	سطح ریشه	R/S	عملکرد بیولوژیک (gr)	کلروفیل (SPAD)	نسبت سدیم به پتاسیم	فلوتورسانس کلروفیل	سدیم (ppm)	پتاسیم (ppm)
۱	میانگین		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	انحراف از میانگین	SLMO 46	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	درصد انحراف از میانگین		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	انحراف استاندارد		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
۲	میانگین		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	انحراف از میانگین	RGS Hyola 401	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	درصد انحراف از میانگین	Licord Zarfam Jewel Quantum	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	انحراف استاندارد		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
۳	میانگین		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	انحراف از میانگین	Hyola 60	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	درصد انحراف از میانگین	Talaye Orient Hayola 308 SLMO 43 Okapia Adder	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	انحراف استاندارد		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲
	میانگین کل		-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۰۲

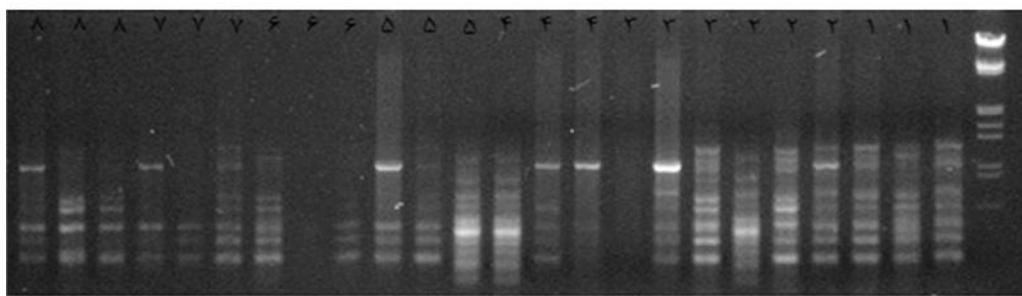
جدول ۶- میانگین، انحراف از میانگین کل، درصد انحراف از میانگین کل و انحراف استاندارد میانگین‌ها در ۳ خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورفوفیزیولوژیک ارقام کلزا در سطح تنفس ۱۵۰ میلی‌مolar
Table 6. Mean, deviation from total mean, standard error of mean in three groups obtained from cluster analysis for morphophysiological traits of *Brassica napus* cultivars at 150 mM salinity stress

خوشه	رقم	وزن تر هوایی (gr)	وزن تر اندام هوایی (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	وزن خشک اندام ریشه (gr)	حجم ریشه (cm ³)	طول ریشه (cm)	سطح ریشه	R/S	بیولوژیک (gr)	عملکرد (gr)	کلروفیل (SPAD)	نسبت سدیم به پتاسیم	فلوئورسانس کلروفیل	سدیم (ppm)	پتاسیم (ppm)	
میانگین از میانگین درصد انحراف از میانگین انحراف استاندارد	SLMO 43 Talaye SLMO 46 PF Hayola308 ۱	۷/۲۶	۰/۸۱	۰/۰۸۶	۰/۰۶۹	۰/۰۷۲	۱۵/۵۴	۲۷/۴۲	۰/۱۲۵	۰/۰۷۷	۰/۰۱	۳۳/۲	۳/۳۸	۰/۸۰۹	۳/۹۱	۰/۰۲	
میانگین از میانگین درصد انحراف از میانگین انحراف استاندارد	Quantum Okapia Jewel Hyola 60 Hyola401 Adder Licord ۲	۵/۴۹	۰/۰۵۵	۰/۰۵۶	۰/۰۱۳	۰/۰۴۷	۱۲/۴۳	۲۶/۷۳	۰/۰۵۶	۰/۰۱۵	۰/۰۲	۳/۱۵	-۰/۰۴۹	-۰/۰۱۸	-۰/۰۵	۱/۵۵	
میانگین از میانگین درصد انحراف از میانگین انحراف استاندارد	Zarfam Oriaint RGS ۳	۶/۹۶	۰/۰۷۲	۰/۰۶۷	۰/۰۶۳	۰/۰۶۷	۱۴/۱۶	۲۶/۶۲	۰/۱۰۷	۰/۰۶۹	۰/۰۱۳	۳۷/۰۷	۴/۳۲	۰/۸۱۷	۴/۴۴	۱/۰۶	
میانگین کل		۶/۴۱	۰/۰۶۹	۰/۰۵۹	۰/۰۷	۰/۰۵۹	۰/۰۹۹	-۱/۳۳	۰/۰۹۹	-۰/۰۴	۰/۰۲	۲/۹۹	۲۳/۷۸	۰/۴۹	۰/۸۱۳	۳/۹۸	۱/۲۹

جدول ۷- میانگین، انحراف از میانگین کل، درصد انحراف از میانگین کل و انحراف استاندارد میانگین‌ها در ۳ خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورفو‌فیزیولوژیک ارقام کلزا در سطح تنش ۲۵۰ میلی‌مولار

Table 7. Mean deviation from total mean, standard error of mean in three groups obtained from cluster analysis for morphophysiological traits of *Brassica napus* cultivars at 250 mM salinity stress stress

نوبت پتانسیم (ppm)	سدیم (ppm)	فلوئورسنس کلروفیل	نسبت سدیم به پتانسیم	کلروفیل (SPAD)	عملکرد بیولوژیک (gr)	R/S	سطح ریشه	طول ریشه (cm)	حجم ریشه (cm ³)	وزن خشک ریشه (gr)	وزن خشک اندام هوایی (gr)	وزن تر اندام هوایی (gr)	وزن تر اندام هوایی (gr)	رقم	خوشه
۲/۲۹	۱۲/۵۹	-۰/۷۶	۵/۷۳	۲۴/۱۰	-۰/۴۲	-۰/۱۹	۱۰/۳۶	۲۴/۰۹	-۰/۳۷	-۰/۴۲	-۰/۳۸	-۰/۳۵	۳/۳۲	۱	میانگین
-۰/۳۷	-۱/۲	-۰/۰۱	-۱/۶۲	-۰/۰۱	-۰/۰۵	-۰/۰۰۳	۱/۰۱	۰/۲۹	-۰/۰۷	-۰/۰۰۷	-۰/۰۵	-۰/۰۷	-۰/۰۵۸		انحراف از میانگین
۱۹/۲۷	-۸/۷	۱/۳۳	-۲۲/۰۴	-۰/۰۴	۱۳/۵۱	۲/۸۳	۱۰/۸	۱/۲۲	۲۳/۳۳	۲۰	۱۵/۱۵	۲۵	۲۱/۱۷		درصد انحراف از میانگین
-۰/۱۲	-۰/۸۳	-۰/۰۰۹	-۰/۲۷	-۰/۰۷۲	-۰/۰۱	-۰/۰۰۶	-۰/۲۸	-۰/۴۶	-۰/۰۲	-۰/۰۰۱	-۰/۰۱	-۰/۰۲	-۰/۱۸		انحراف استاندارد
۱/۵۸	۱۱/۸	-۰/۷۲	۷/۵۹	۲۴/۴۵	-۰/۳۴	-۰/۱۰۲	۹/۰۲	۲۳/۹۳	-۰/۳۱	-۰/۰۳۱	-۰/۳۱	-۰/۲۶	۲/۵۹	۲	میانگین
-۰/۳۴	-۱/۹۹	-۰/۰۰۳	-۰/۲۴	-۰/۳۴	-۰/۰۳	-۰/۰۰۴	-۰/۳۳	۰/۱۳	-۰/۰۱	-۰/۰۰۴	-۰/۰۲	-۰/۰۰۲	-۰/۰۱۵		انحراف از میانگین
-۱۷/۷۱	-۱۴/۴۳	-۴	۳/۲۷	۱/۴۱	-۸/۱	-۳/۷۷	-۳/۵۳	۰/۵۵	۳/۳۳	-۱۱/۴۳	-۶/۰۶	-۷/۱۴	-۵/۴۷		درصد انحراف از میانگین
-۰/۰۹	-۰/۹۴	-۰/۰۴	-۰/۴۸	-۰/۷۶	-۰/۰۱	-۰/۰۰۶	-۰/۳۱	-۰/۱۴	-۰/۰۲	-۰/۰۰۸	-۰/۰۲	-۰/۰۲	-۰/۲۷		انحراف استاندارد
۱/۹	۱۵/۶	-۰/۷۶	۸/۱۵	۲۲/۷۹	-۰/۲۹	-۰/۱۰۲	۷/۸۹	۲۳/۱۷	-۰/۲۲	-۰/۰۷۷	-۰/۲۷	-۰/۱۹	۱/۸۷	۳	میانگین
-۰/۰۲	۱/۸۱	-۰/۰۱	-۰/۸	-۰/۳۲	-۰/۰۸	-۰/۰۰۴	-۱/۴۶	-۰/۶۳	-۰/۰۸	-۰/۰۰۸	-۰/۰۶	-۰/۰۹	-۰/۰۸۷		انحراف از میانگین
-۱/۰۴	۱۳/۱۳	۱/۳۳	۱۰/۸۸	-۱/۳۳	-۲۱/۶۲	-۳/۷۷	-۱۵/۶۱	-۲/۶۵	-۲۶/۶۷	-۲۲/۸۶	-۱۸/۱۸	-۳۲/۱۴	-۳۱/۷۵		درصد انحراف از میانگین
-۰/۱	-۰/۹۷	-۰/۰۱	-۰/۲۸	۱/۰۲	-۰/۰۱	-۰/۰۰۵	-۰/۴۲	-۰/۸۱	-۰/۰۲	-۰/۰۰۲	-۰/۰۰۸	-۰/۰۲	-۰/۱۳		انحراف استاندارد
۱/۹۲	۱۳/۷۹	-۰/۷۵	۷/۳۵	۲۴/۱۱	-۰/۳۷	-۰/۱۰۶	۹/۳۵	۲۳/۸	-۰/۳	-۰/۰۳۵	-۰/۳۳	-۰/۲۸	۲/۷۴	میانگین کل	



شکل ۲- الگوی نواربندی آغازگر شماره ۸ در برخی از ارقام کلزای مورد مطالعه (از هر رقم سه نمونه مورد مطالعه قرار گرفته است و اولین ستون سمت راست سایز مارکر SM0191 می‌باشد)

Figure 2. Banding pattern of primer 8 in some of *Brassica napus* studied cultivars (three plants from each cultivar were studied and the right column is the size marker SM0191)

جدول ۸- توالی، مقدار اطلاعات چند شکلی، شاخص نشانگری، شاخص شانون و تعداد نشانگرهای چندشکل تولید شده توسط آغازگرهای ISSR در ارقام مختلف کلزا

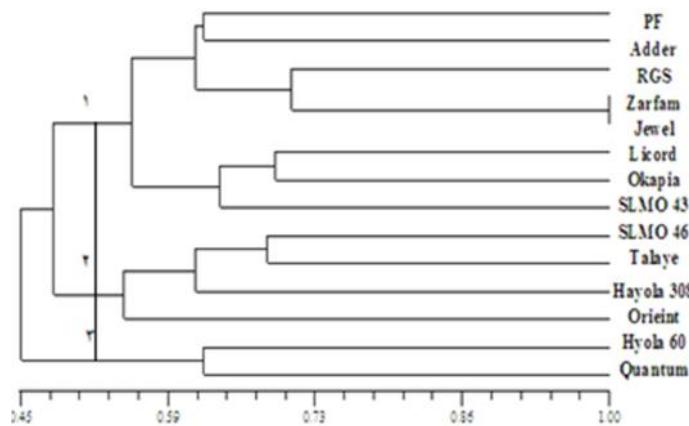
Table 8. Sequences, polymorphic information, Shannon index, the number of polymorphic bands that produced by ISSR primers in *Brassica napus*

شماره نشانگر	توالی آغازگرها	PIC	MI	شاخص شانون	تعداد نوارهای چند شکل	درصد چند شکلی (%)
۱	۵'-AGACAGACGC -3'	۰/۲۱۷	۱/۳۰۲	۰/۳۱	۶	۶۶/۶۶
۲	۵'-GACAGACAGACAGACA -3'	۰/۲۴۳	۱/۲۵۸	۰/۳۴۹	۶	۷۵
۵	۵'-AACAAACAACGG -3'	۰/۲۴۸	۱/۲۴	۰/۲۵۵	۵	۲۱/۲۳
۷	۵'-GAGAGAGAGAGAGAT -3'	۰/۲۲۸	۰/۸۸۴	۰/۴۷	۳	۷۵
۸	۵'-GACGACGACGGACG -3'	۰/۲۸۱	۱/۹۶۷	۰/۴۰۳	۷	۷۷/۷۷
۱۱	۵'-GTGGTGGTTGGC -3'	۰/۳۰۲	۰/۴۳۲	۰/۴۳۲	۲	۴۰
۱۲	۵'-TTGTTGTTGTTGTC -3'	۰/۳۱۷	۰/۹۵۱	۰/۴۵۵	۳	۶۰
۱۵	۵'-ACGACGACGACGAC -3'	۰/۲۸۶	۰/۸۵۸	۰/۴۰۹	۳	۵۰
۱۶	۵'-CACACACACACAAG -3'	۰/۷۷	۰/۵۴	۰/۲۸۶	۲	۳۳/۳۳
۲۲	۵'-ATGATGATGATGATGATG -3'	۰/۳۴۹	۰/۶۹۸	۰/۵	۲	۴۰
۳۱	۵'-CACCACCAACGC -3'	۰/۲۶۵	۱/۵۹	۰/۳۷۹	۶	۶۰

شباهت ژنتیکی بین ارقام Zarfam و Jewel (۰/۰۷۹) مشاهده شد. دامنه فواصل ژنتیکی بین ۰/۰۷۹ تا ۰/۳۲۴ متفاوت بود.

به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که ارقام SLMO46 از نظر اکثر صفات مورد مطالعه برتری داشتند. در حالیکه ارقام Licord و Hyola60 در اکثر صفات کمترین مقدار را دارا بودند. بالا بودن معیارهای شاخص نشانگری، شاخص شانون، تعداد و درصد نوارهای چندشکل برای آغازگر هشت نشاندهنده کارایی بالای این آغازگر در تمايز ارقام کلزای مورد مطالعه می‌باشد. ارقام Quantum و Hyola60 با SLMO46 بیشترین فاصله ژنتیکی را از یکدیگر دارا بودند. از این‌رو، می‌توان به عنوان والدین جهت ایجاد تنوع ژنتیکی در نسل‌های در حال تفکیک استفاده کرد.

در این تجزیه ۱۴ رقم مورد مطالعه به ۳ گروه تقسیم شدند. ارقام SLMO43، Okapia (Licord)، SLMO46 (Jewel) در گروه اول و ارقام RGS (Zarfam)، Orieint (Hyola308)، Talaye (SLMO46) در گروه دوم و ارقام Quantum (Hyola60) در گروه ۳ قرار گرفتند. نتایج گروه‌بندی بر اساس داده‌های مولکولی و مورفو‌فیزیولوژیکی در سطح تنش ۲۵۰ میلی‌مولار تا حدودی باهم همسویی داشتند. به طوری که در هر دو گروه‌بندی RGS (Zarfam) و SLMO43 در گروه اول قرار گرفتند. فاصله ژنتیکی بین لاین‌ها بر اساس فاصله ژنتیکی نیز (۳۲)، محاسبه شد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین ارقام SLMO46 (۰/۰۳۲۴) و ارقام Quantum (۰/۰۳۲۳) و SLMO46 (۰/۰۳۲۳) و کمترین فاصله ژنتیکی یا بیشترین



شکل ۳- گروه‌بندی ارقام کلزا مورد مطالعه بر اساس داده‌های مولکولی (ISSR) با استفاده از روش دورترین همسایگی و ماتریس شباهت

Figure3. Grouping of studied *Brassica napus* cultivars based on molecular data (ISSR) using single linkage method and simple machincg similarity matrix

منابع

- Abdolzadeh, A. and N. Safari. 2002. Comparison of salt tolerance in eleven varieties of wheat with emphasize on ions accumulation. Agricultural Sciences Natural Resources, 9(2): 95-103 (In Persian).
- Ahmadi, S.H. and J. Niazi Ardekani. 2006. The effect of water salinity on growth and physiological stages of eight Canola (*Brassica napus*) cultivars. Irrigation Sciences, 25(1): 11-20.
- Akbari Ghogdi, E., A. Izadi darbandi, A. Borzooei and A. Majdabadi. 2011. Study of morphological changes in wheat genotypes under salt stress. Science and Technology of Greenhouse Culture, 4(1): 71-82 (In Persian).
- Alizadeh, A. 2010. Soil water plant relationship. 3th edn. Imamreza University, Mashad, Iran, 484 pp.
- Archangi, A., M. Khodambashi and A. Mohamadkhani. 2012. The effect of salt stress on morphological characteristics and Na⁺, K⁺ and Ca⁺ ion contents in medicinal plant fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) under hydroponic culture. Science and Technology of Greenhouse Culture, 3(10): 33-41.
- Ashraf, M., T. Mcneilly and A.D. Bradshaw. 1985. The Potential for evolution of salt (NaCl) tolerance in seven grass species. New Phytologist, 103(2): 299-309.
- Ashraf, M. 2001. Relationships between growth and gas exchange characteristics in some salt-tolerant amphidiploids *Brassica* species in relation to their diploid parents. Environmental and Experimental Botany, 45(2): 155-163.
- Ashraf, M. 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. ScienceDirect, 199(5): 361-376.
- Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. Advan. Agron, 88: 223-271.
- Ashraf, M. and Q. Ali. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany, 63(3): 266-273.
- Ashraf Mehrabi, A., M. Omidi and B. Fazeli Nasab, B. 2011. Effects of salinity on seed germination, seedling growth and callus culture of canola genotypes. Journal of Field Crop Science, 42(1): 81-90.
- Azimi, M., M. Khodarahmi and M.R. Jalalkamali. 2012. Evaluation of some important agronomic characteristics in spring bread wheat genotypes under terminal drought stress and non-stress conditions. Iranian Journal of Agronomy and Plant Breeding, 8(1): 175-193 (In Persian).
- Benlloch, M., M.A. Ojeda, J. Ramos and A. Rodrigueznavarro. 1994. Salt sensitivity and low discrimination between potassium and sodium in plants. Plant and Soil, 166(1): 117-123.
- Blumwald, E., S.G. Aharon and M.P. Apse. 2000. Sodium Transport in Plant Cells. Biochimica et Biophysica Acta, 1465(1-2): 140-151.
- Bybordi, A and S.J. Tabatabaei. 2009. Effect of salinity stress on germination and seedling properties in canola cultivars (*Brassica napus* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37(1): 71-76.
- Bybordi, A. 2010. Effects of Salinity on Yield and Component Characters in Canola (*Brassica napus* L.) Cultivars. Noulaet Scientia Biologicae, 2(1): 81-83.
- Chaves, M.M., J. Flexas and C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany, 103(4): 551-560.

18. Davenport, R., R. James, A. Zakrisson, M. Tester and R. Munns. 2005. Control of sodium transport in durum wheat. *Plant Physiology*, 137(3): 807-818.
19. Dingkuhn, M., S.K. De Datta, R. Pamplona, C. Javellana and H.F. Schnier. 1992. Effect of late-season N fertilization on photosynthesis and yield of transplanted and direct-seeded tropical flooded rice. II. A canopy stratification study. *Field Crop Research*, 28(3): 235-249.
20. Esfandiari, E., F. Shekari, F. Shekari and M. Esfandiari. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj*, 35(1): 48-56.
21. Francois, L.E. 1994. Growth, seed yield and oil content of canola grown under saline conditions. *Agronomy Journal*, 86(2): 233-237.
22. Francis, D and D Piekielek. 2000. Assessing crop nitrogen needs with chlorophyllmeters. The site specific management guidelines series is published by the potash and phosphate institute (PPI). Coordinated by South Dakota State University (SDSU).
23. Jones, J.B. 2001. Laboratory guide for conduction soil tests and plant analysis. CRC press, LLC, U.S.
24. Kerepesi, H and G. Galiba. 2000. Osmotic and salt stress induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Crop Science*, 40(2): 482-487.
25. Mahjoob, B., H. Najafi-Zarini and H.R. Hashemi. 2014. Assessment of genetic relationships among 36 *Brassica* genotypes using ISSR molecular markers. *Journal of Crop Breeding*, 6(14): 96-106 (In Persian).
26. Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academics Press. London.
27. Mohammad, M., H. Malkawi and R. Shibli. 2003. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus fertilization on growth and nutrient uptake of barley grown on soils with different levels of salts. *Journal of plant Nutrition*, 26(1): 125-137.
28. Monirifar, H. 2016. Development and Evaluation of a Synthetic Alfalfa Variety for Tolerance to Salinity. *Journal of Crop Breeding*, 18(8):176-182 (In Persian).
29. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environment*, 25(2): 239-250.
30. Nagaoka, T. and Y. Ogihara. 1997. Applicability of inter-simple sequence repeats polymorphism in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(5): 597-602.
31. Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *PNAS*, 70(12): 3321-3323.
32. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3): 583-590.
33. Nemati, M and A. Asghari. 2012. Evaluation of osmotic stress tolerance in hydroponics. *Journal of science and Technology of Greenhouse Culture*, 3(11): 19-30 (In Persian).
34. Nemati, M., A. Asghari, O. Sofalian, A. Rasoulzadeh and H.R. Mohammaddoust Chamanabad. Effect of Water Stress on Rapeseed Cultivars Using Morpho-Physiological Traits and Their Relations with ISSR Markers. 2012. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 2(1):55-66.
35. Penuelas, J., R. Isla, I. Filella and J.L. Araus. 1997. Visible and near-infrared reflectance assessment of salinity effects on barley. *Crop Science*, 37(1): 198-202.
36. Powell, W., M. Morgante and C. Andr. 1996. The comparision of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) marker for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2(3): 225-238.
37. Prevost, A. and M.J. Wilkinson. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(1):107-112.
38. Rashid, A., R.H. Qureshi, P.A. Holington and R.G.W. Jones. 1999. Comparative responses of wheat cultivars to salinity at the seedling stage. *Crop Science*, 182(3): 199-207.
39. Reddy, M.P and A.B. Vora. 1986. Changes in pigments composition, hill reaction activity and saccharine metabolism in Bajra (*Pennisetum typhoides* S&H) leaves under NaCl salinity. *Photosynthetica*, 20: 50-55.
40. Roldan-Ruiz, F.A., T.J. Gilliland, P. Dubreuil, C. Dillmann and J. Lallemand. 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(8): 1138-1150.
41. Saghai-Marof, M.A., K.M. Soliman, R.A. Jorgensen and R.W. Allard. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance chromosomal location, population dynamics. *Proceeding of the National Acadev of Sciences*, 81(24): 8014-8018.
42. Shiran, B., N. Amirkabhtiar, S. Kiani, sh. Mohammadi, E. Sayed Tabatabei and T. Moradi .2007. Molecular characterization and genetic relationship among almond cultivars assessed by RAPD and SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 111(5): 280-292.
43. Tarinejad, A., H. Gayomi, V. Rashidi, F. Farahvash and B. Alizade. 2012. Evaluation of Tolerance Rate of Canola Cultivar to Salinity Stress. *Sustainable Agriculture and Production Science*, 22(4.1): 29-43 (In Persian).
44. Tester, M. and R. Dovenport. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, 91(5): 503-527.
45. Zhu, J., M.D. Gale, S. Quarrie, M.T. Jackson and G.J. Bryan. 1998. AFLP markers for the study of rice biodiversity. *Theoretical and Applied Genetics*, 96(5): 602-611.
46. Zhu, J. 2003. Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current Opinion Plant Biology*, 6(5): 441-445.
47. Monirifar, H. 2016. Development and Evaluation of a Synthetic Alfalfa Variety for Tolerance to Salinity. *Journal of Crop Breeding*, 18(8):176-182 (In Persian).

Assesment of Salinity Tolerance in Some Canola Cultivars using Morphophysiologic Traites and ISSR Markers

Ali Asghari¹, Shiva Mohammadnia² and Hajar Fallahi³

1- Associate professor, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabil,
(Corresponding Author: ali_asgharii@yahoo.com)

2 and 3- PHD student and M.Sc. Graduated, Faculty of Agricultural Sciences, University of Mohaghegh Ardabil
Received: May 17, 2015 Accepted: December 13, 2016

Abstract

Canola (*Brassica napus L.*) is one of the most important world's oilseed crops. The salin soils and salinity is the most important environmental stress factor that affects production of rapeseed. In order to study salinity resistance in canola cultivars at seedling stage based on morphophysiologal traits and assessing relation of these traits with ISSR markers, 15 canola cultivars in two salinity stress levels (150 mM and 250 mM) and non stress condition (control) were studied at greenhouse condition as hydroponic culture method. In this study, salinity stress caused decreasing of all evaluated morphophysiologal traits, except Na to K ratio and Na content. Results of mean comparisons and classification by cluster analysis of cultivars in different conditions showed that the SLMO46 and PF were better than other cultivars in all traits, was superior for average of most traits. So, the Hyolla60 and Licord cultivars in all traits had lower amounts. In Molecular analysis using 11 ISSR primers, 45 polymorphic bands produced in studied canola cultivars. Means of Polymorphic Information Content and Marker Index for all primers were obtained 0.282 and 1.108, respectively. In cluster analysis using ISSR data and Nei's genetic distance and UPGMA method, the canola cuhtivars classified in three clusters. The minimum genetics distance obtained between Zarfam and Jovel cultivars (0.079) and the maximum distance observed between Quantum and Hyolla60 whit SLMO46 cultivars (0.32).

Keywords: Canola, Molecular Markers, morphophysiological trait, salinity, Stres