

Evaluation of genetic diversity and potential salt stress tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes using the molecular marker SCoT and germination indices

Kamran Samiei 

*Corresponding Author: Assistant Professor, Department of Genetic and Plant Breeding, Khorramabad Campus, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran. Email address: kamransamiei@yahoo.com

Reza Mir Drikvand 

Associate Professor, Department of Genetic and Plant Breeding, Khorramabad Campus, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran. Email address: drikvand_r@yahoo.com

Gholam Ali Jamshidi 

MSc Graduate, Department of Genetic and Plant Breeding, Khorramabad Campus, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran. Email address: amoozeshgah.garin@gmail.com

Abstract

Objective

Genetic diversity and parental selection in breeding programs are crucial factors for the successful development of new crop varieties. Plants are exposed to a wide range of stresses at all stages of growth, leading to quantitative and qualitative reductions in yield and overall crop production. The present study aimed to evaluate the genetic diversity of safflower and assess its potential tolerance to NaCl salt stress, as well as to classify genotypes using germination indices and SCoT molecular markers.

Materials and Methods

In this study, a factorial experiment was conducted using a completely randomized design with three replications at the Genomics Laboratory of the Islamic Azad University, Khorramabad Branch, during the first half of 2022. Ten safflower genotypes were evaluated under control conditions and three salinity levels (50, 150, and 250 mM NaCl). For this purpose, 20 seeds of each genotype were placed in 12-cm sterile Petri dishes under different salinity levels with three replications. The samples were incubated for 10 days in a growth chamber at 25°C during the day

and 20°C at night. Various traits and indices, including germination percentage, germination rate, shoot and root length and weight, stress tolerance index, seedling vigor, seedling length vigor index, seedling weight vigor index and reduction of germination, were measured and calculated. SCoT markers were employed to estimate genetic diversity, and genetic distances among safflower genotypes were analyzed and clustered based on germination indices and molecular data.

Results

The results of analysis of variance showed that the interaction effect of genotype and salinity stress was significant for most of the studied traits. Comparison of means showed that genotypes number 5 and 7 showed the highest and lowest significant decrease for the studied traits and indices, respectively. Genotype number 7, along with two genotypes 4 and 9, had greater tolerance to salinity stress. Based on the results of factor analysis, considering the loading of the first and second factors, the first factor was called stress tolerance or resistance and the second factor was called the weight factor. Based on the two principal components, the studied genotypes formed 5 groups. Genotype number 5 was located at a further distance from the other genotypes due to its greater resistance to different levels of salinity stress. In cluster analysis, the genotypes were placed in 4 groups. The first group had the highest decrease and the second group had the lowest decrease for the traits at salinity stress levels. The primers used showed 114 bands with 86% polymorphism. The highest and lowest similarity coefficients between genotypes were 66 and 34%, respectively. Based on cluster analysis using molecular markers, the genotypes were classified into 5 groups. The grouping obtained in both techniques showed a high correlation ($R=0.87$).

Conclusion

Overall, the results indicated that safflower genotypes possess high genetic diversity under salt stress conditions, and their responses to varying stress levels differed significantly. These genetic differences provide useful information regarding enhancing crop production and identifying salt-tolerant genotypes in breeding programs. Although safflower exhibits considerable tolerance to soil salinity, developing more tolerant cultivars remains necessary, and evaluating germplasm under saline conditions is essential. Despite the moderate concordance between molecular marker-based grouping and germination indices, their combined use is of great importance for identifying superior genotypes and enhancing breeding efficiency.

Keywords: Cluster analysis, Interaction, Polymorphism, Salt stress tolerance, Seed vigor.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Samiei K, Mir Drikvand R, Jamshidi GA (2024) Evaluation of genetic diversity and salt stress tolerance potential of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.) using molecular marker SCoT and germination indices. *Journal of Genetics and Plant Breeding* 1 (2), 85-114.

Journal of Genetics and Plant Breeding 1 (2), 85-114. DOI: 10.22103/gpb.2025.25895.1034

Received: November 8, 2024.

Received in revised form: December 21, 2024.

Accepted: December 23, 2024.

Published online: December 27, 2024.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production,
Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and
Iranian Genetics Society.



© the authors




ارزیابی تنوع ژنتیکی و پتانسیل تحمل به تنش شوری ژنوتیپ‌های گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT و شاخص‌های جوانه‌زنی

کامران سمیعی 

*نویسنده مسئول: استادیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم‌آباد، ایران. رایانامه:

kamransamiei@gmail.com

رضا میر دریکوند 

دانشیار، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم‌آباد، ایران. رایانامه:

drikvand_r@yahoo.com

غلامعلی جمشیدی 

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، واحد خرم‌آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، خرم‌آباد، ایران. رایانامه:

amoozeshgah.garin@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۱۸ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۳

چکیده

هدف: تنوع ژنتیکی و انتخاب والدین در برنامه‌های به‌نژادی، مهمترین عوامل موفقیت تولید یک رقم زراعی هستند. گیاهان در تمام مراحل رشد در معرض طیف وسیعی از تنش‌ها قرار می‌گیرند که باعث کاهش کمی و کیفی عملکرد و تولید محصول می‌شود. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی تنوع ژنتیکی گلرنگ و بررسی پتانسیل تحمل به تنش شوری نمک NaCl و گروه‌بندی آن‌ها با استفاده از شاخص‌های جوانه‌زنی و نشانگر مولکولی SCoT بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر، به‌منظور بررسی پتانسیل ژنتیکی ژنوتیپ‌های گلرنگ برای تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه و همچنین گروه‌بندی آن‌ها با استفاده از ویژگی‌ها و شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در آزمایشگاه ژنومیکس دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد و در ۶ ماهه نخست سال ۱۴۰۱ اجرا شد. در این آزمایش ۱۰ ژنوتیپ گلرنگ در سه سطح ۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl و شاهد مورد ارزیابی

قرار گرفتند. برای این منظور، ۲۰ بذر از هر ژنوتیپ در ظروف پتری ۱۲ سانتی‌متری تحت شرایط استریل در سطوح مختلف تنش شوری بررسی شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۰ روز در اتاقک کشت با شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۰ درجه سانتی‌گراد در شب کشت داده شدند. صفات و شاخص‌های مختلفی از جمله درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول و وزن ساقچه‌چه و ریشه‌چه، شاخص تحمل به تنش، بنیه گیاهچه، شاخص طولی بنیه بذر، شاخص وزنی بنیه بذر و کاهش جوانه‌زنی اندازه‌گیری و محاسبه شدند. به منظور برآورد تنوع ژنتیکی از نشانگر SCoT استفاده شد. فواصل ژنتیکی ژنوتیپ‌های گلرنگ با استفاده از شاخص‌های جوانه‌زنی و نشانگرهای مولکولی برآورد و گروه‌بندی شدند.

نتایج: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل ژنوتیپ و تنش شوری برای بیشتر صفات مورد بررسی معنی‌دار بودند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های G5 و G7 به ترتیب بیشترین و کمترین کاهش معنی‌دار را برای صفات و شاخص‌های مورد مطالعه نشان دادند. ژنوتیپ G7 به همراه دو ژنوتیپ G4 و G9 از تحمل به تنش شوری بیشتری برخوردار بودند. براساس نتایج تجزیه عاملی، با توجه به بار عامل اول و دوم، عامل اول تحمل یا مقاومت به تنش و عامل دوم عامل وزنی نامیده شد. بر اساس دو مؤلفه اصلی، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در ۵ گروه قرار گرفتند. ژنوتیپ G5 به دلیل مقاومت بیشتر به سطوح مختلف تنش شوری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، در فاصله دورتری قرار داشت. در تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها در ۴ گروه قرار گرفتند. گروه اول بیشترین کاهش و گروه دوم کمترین کاهش را برای صفات در سطوح تنش شوری داشتند. آغازگرهای مورد استفاده، ۱۱۴ باند با ۸۶ درصد چندشکلی نشان دادند. بیشترین و کمترین ضریب تشابه بین ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۶۶ و ۳۴ درصد بود. بر اساس تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نشانگر مولکولی، ژنوتیپ‌ها در ۵ گروه قرار گرفتند. گروه‌بندی به دست آمده در هر دو تکنیک، همبستگی بالایی ($R=0.87$) نشان داد. **نتیجه‌گیری:** نتایج به‌طور کلی نشان داد که ژنوتیپ‌های گلرنگ تنوع ژنتیکی بالایی در شرایط تنش شوری نشان داده و عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش اختلاف معنی‌داری داشتند. این تفاوت‌های ژنتیکی مبنای خوبی برای ارائه اطلاعات در مورد ژنوتیپ‌های گلرنگ هستند که می‌تواند برای تولید بهتر محصول و تعیین تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های مختلف در برنامه‌های اصلاحی مفید باشند. گلرنگ تحمل قابل توجهی به شوری خاک نشان می‌دهد، با این حال، تولید ارقام متحمل‌تر ضروری است و ارزیابی ژرمپلاسم در شرایط شور ضروری است. اگرچه گروه‌بندی صورت گرفته با استفاده از نشانگر مولکولی و شاخص‌های جوانه‌زنی همخوانی بالایی را نشان نداد، به‌طور کلی ارزیابی ویژگی‌های جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های گلرنگ و پاسخ آن‌ها به شوری در برنامه‌های به‌نژادی و ترکیب آن‌ها با اطلاعات مولکولی در معرفی ژنوتیپ‌های برتر از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: اثر متقابل، بنیه بذر، تجزیه خوشه‌ای، تحمل به تنش شوری، چندشکلی.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: سمیعی کامران، میر دریکوند رضا، جمشیدی غلامعلی (۱۴۰۳) ارزیابی تنوع ژنتیکی و پتانسیل تحمل به تنش شوری ژنوتیپ‌های گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT و شاخص‌های جوانه‌زنی. *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۱(۲)، ۸۵-۱۱۴.



مقدمه

گلرنگ یکی از مهمترین محصولات زراعی است که پس از گیاهانی نظیر سویا و آفتابگردان، در مقام هشتم تولید گیاهان روغنی قرار دارد. این گیاه را می‌توان در سراسر جهان کشت نمود (Hussain et al. 2016). این گیاه عمدتاً به‌عنوان روغن خوراکی مورد کشت قرار گرفته و در برخی نقاط به‌عنوان رنگ طبیعی خوراکی و طعم دهنده غذا و ساخت رنگ در صنعت مورد استفاده قرار می‌گیرد. به‌دلیل محتوای غنی و ارزش غذایی بالای روغن خوراکی آن، در برخی از نقاط جهان از جمله ایران به یک محصول مهم تبدیل شده است (Asgarpanah & Kazemivash 2013).

گیاهان زراعی همواره در معرض انواع مختلفی از تنش‌ها قرار داشته و برای مقابله با اثرات مضر آن‌ها، فیزیولوژی، فرآیندهای متابولیک و رشد و نمو خود را تغییر داده و در حال بهبود آن هستند. اگرچه گیاهان در برابر تنش‌ها آسیب‌پذیر هستند با این حال از مکانیسم‌های منحصر به فرد و پیشرفته‌ای برای تحمل و مقاومت به تنش‌ها استفاده می‌کنند (Rao 2006). تنش شوری سبب کاهش قابل توجهی در بهره‌وری محصولات کشاورزی شده و اکثر گونه‌های گیاهی نسبت به شوری حساس بوده و بسته به غلظت و نوع نمک، مرحله رشدی و نوع گیاه، بین ۱۰ تا ۵۰ درصد بر عملکرد گیاهان زراعی تأثیر منفی می‌گذارد (Godoy et al. 2021). گیاهان در مراحل جوانه‌زنی و رشد گیاهچه حساس‌تر بوده و تحت تأثیر تنش شوری، بسیاری از فعالیت‌هایی که انتظار می‌رود در مسیر طبیعی گیاه رخ دهند، کند یا متوقف می‌شوند. در کنار این محدودیت‌ها، عقیمی، توقف رشد، کاهش سطح برگ، کندی یا عدم گلدهی و کاهش فعالیت فتوسنتزی رخ خواهد داد (Yildiz et al. 2020). تحت تنش شوری، پتانسیل اسمزی کاهش یافته و به‌دلیل مشکل در جذب آب توسط بذر و سمیت سدیم برای جنین در حال رشد، از جوانه‌زنی بذر جلوگیری می‌شود (Farsiani & Ghobadi 2020). شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی شده و در مراحل بعدی سایر شاخص‌های جوانه‌زنی را کاهش خواهد داد. تنش اسمزی ناشی از شوری و اثرات سمی یون‌های سدیم و کلر بر روی بذرهای در حال جوانه‌زنی به‌طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش و تاخیر در جوانه‌زنی می‌شود (Faroog et al. 2006). علی‌رغم مقاومت نسبی گیاه گلرنگ به تنش‌های غیر زیستی، تنش شوری در مناطق کشت این گیاه به‌ویژه در مرحله جوانه‌زنی، به‌عنوان یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید اقتصادی آن محسوب می‌گردد. بر همین اساس یکی از اولویت‌های به‌نژادی گیاه گلرنگ تولید و انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش شوری بوده که در برنامه‌های به‌نژادی آن مورد توجه قرار می‌گیرد (Golkar & Karimi 2019).

در پژوهش‌های اخیر روش‌های مختلفی مانند ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی، آناتومیکی و مولکولی برای بررسی تنوع

ژنتیکی به کار گرفته شده‌اند. ویژگی‌های مورفولوژیکی و زراعی دارای محدودیت‌هایی مانند چندشکلی و وراثت‌پذیری پایین هستند و تحت تأثیر مرحله رشد گیاه قرار می‌گیرند. برخلاف این گروه از صفات، نشانگرهای مولکولی تنوع را در سطح DNA تشخیص می‌دهند و تا حد زیادی بر مشکلات مرتبط با طبقه‌بندی مبتنی بر مورفولوژی غلبه می‌کنند (Shahverdi et al. 2022). اگرچه استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک و زراعی در برآورد تنوع ژنتیکی گیاهان زراعی کاربردهای فراوانی دارند، با این وجود استفاده از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA به دلیل عدم تأثیرپذیری محیطی و دارا بودن توارث بالا، ابزار قدرتمندی در برآورد تنوع ژنتیکی و آگاهی از خصوصیات ذخائر ژنتیکی محسوب می‌شوند (Ranjan & Aparajita 2010). نشانگرهای مولکولی با هزینه سنجش کم و کاربرد سریع و آسان ابزاری با ارزش برای ژنتیک جمعیت و برنامه‌های به‌نژادی می‌باشند. هر چند هر روش مزایا و محدودیت‌های خود را دارد، با این وجود می‌توان با انتخاب مناسب یک نشانگر و ترکیب اطلاعات به‌دست آمده توسط نشانگرهای مختلف، محدودیت‌های موجود را کاهش داد (Marakli 2018). نشانگر¹ SCoT از جمله نشانگرهای چندشکل مناسب در ارزیابی نواحی بدون آغاز ژن‌ها می‌باشد. کارایی این نشانگر در برآورد تنوع ژنتیکی بسیاری از گیاهان از جمله گلرنگ مورد تأیید قرار گرفته است (Hajibarat et al. 2016; Mir-Drikvand & Samiei 2019; Golkar & Yavari 2018).

جوانه‌زنی مهمترین صفت کیفی بذر بوده و ارتباط آن در آزمایشگاه با استقرار مناسب بوته در مزرعه بر اهمیت این صفت می‌افزاید. این صفت تحت تأثیر ژنتیک، محیط و زمان قرار می‌گیرد. گزارشات فراوانی نشان می‌دهند که سرعت جوانه‌زنی و استقرار گیاه نسبت به سرعت جوانه‌زنی بیشتر تحت تأثیر کنترل عوامل ژنتیکی قرار دارد. به‌طور کلی گیاهان متحمل به تنش شوری از کارایی زیستی بالاتری از نظر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه برخوردار هستند با این وجود این دو صفت در شرایط تنش شوری بیشتر از سایر شاخص‌های جوانه‌زنی تحت تأثیر منفی قرار می‌گیرند (Sadeghian & Yavari 2004).

آگاهی از شباهت‌ها و تفاوت‌ها بین ارقام و ژنوتیپ‌های گلرنگ می‌تواند برای اجرای استراتژی‌های دقیق به‌نژادی این گیاه ارزشمند باشد. همچنین توسعه ایده‌آل گونه‌های مناسب مقاوم به تنش شوری باید بر اساس تحمل به نمک در مراحل مختلف رشد باشد (Purty et al. 2008). هدف از مطالعه حاضر ارزیابی پتانسیل تحمل به تنش شوری ژنوتیپ‌های گلرنگ و بررسی تنوع ژنتیکی و مقایسه گروه‌بندی با استفاده از شاخص‌های جوانه‌زنی و اطلاعات نشانگر مولکولی SCoT بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده: به‌منظور برآورد تنوع ژنتیکی، بررسی تحمل به تنش شوری و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ با استفاده از شاخص‌های جوانه‌زنی و نشانگر مولکولی SCoT، تعداد ۱۰ ژنوتیپ که در مراحل پایانی بررسی خصوصیات اصلاحی بودند از مرکز تحقیقات دیم سرارود کرمانشاه تهیه و مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). تمامی مراحل مطالعه در آزمایشگاه

¹-Start Codon Target

ژنومیکس دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم‌آباد و در شش ماهه نخست سال ۱۴۰۱ به اجرا درآمد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل فاکتور a در چهار سطح (سه غلظت نمک کلرید سدیم (NaCl) و یک شاهد) و فاکتور b، شامل ۱۰ ژنوتیپ گلرنگ بودند.

اجرای تنش شوری: به منظور بررسی تاثیر تنش شوری بر روی شاخص‌های جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های مورد بررسی، از سه

سطح تنش شامل غلظت‌های ۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (NaCl) به همراه شاهد (آب مقطر) استفاده شد. هر واحد آزمایشی شامل پتری‌دیش ۱۲ سانتی‌متری استریل حاوی ۲۰ عدد بذر بود. جهت اجرای پژوهش و جلوگیری از آلودگی قارچی و باکتریائی، بذور به مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵ درصد ضدعفونی و پس از ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل، مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱. کد ژنوتیپ‌های گلرنگ مورد مطالعه

Table 1. Code of studied safflower genotypes

ویژگی ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	کد	ویژگی ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	کد
Genotype characteristic	Genotype name	Code	Genotype characteristic	Genotype name	Code
متحمل به تنش-پائیزه Autumn-tension tolerant	40-24-1	G6	متحمل به تنش-بهاره Spring-tension tolerant	54/360/S6/697	G1
متحمل به تنش-پائیزه Autumn-tension tolerant	60 s6-58-11	G7	متحمل به تنش-بهاره Spring-tension tolerant	271 LR 51/697	G2
متحمل به تنش-پائیزه Autumn-tension tolerant	88-S6-58/697	G8	متحمل به تنش-بهاره Spring-tension tolerant	233/S6-51	G3
متحمل به تنش-بهاره Spring-tension tolerant	313 s6/697	G9	متحمل به تنش-پائیزه Autumn-tension tolerant	18/219/S7/760/51	G4
متحمل به تنش-بهاره Spring-tension tolerant	38/263/S6/6020	G10	متحمل به تنش-پائیزه Autumn-tension tolerant	1-V-49/236	G5

پس از قرار دادن بذور استریل در پتری‌دیش، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر محلول نمکی آماده شده برای هر یک از تیمارهای تنش مورد نظر، به آن‌ها اضافه شد. به منظور جلوگیری از تبخیر، اطراف کلیه پتری‌دیش‌ها با استفاده از پارافیلیم مسدود شد. پس از آماده‌سازی

تمامی پتری دیش‌ها، به دستگاه فیتوترون (نورصنعت، ایران) با شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد روزانه و ۲۰ درجه سانتی‌گراد شبانه منتقل گردید. طول مدت روشنایی (روز) ۱۶ ساعت و طول مدت تاریکی (شب) ۸ ساعت در نظر گرفته شد. آزمایش به مدت ۱۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات مختلفی از جمله درصد جوانه‌زنی (رابطه ۱)، سرعت جوانه‌زنی (رابطه ۲)، بنیه بذر (رابطه ۳)، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، کاهش درصد جوانه‌زنی (رابطه ۴)، شاخص تحمل به شوری (رابطه ۵)، شاخص طولی بنیه گیاهچه (رابطه ۶) و شاخص وزنی بنیه گیاهچه (رابطه ۷) اندازه‌گیری شد (Panahi et al. 2012).

رابطه ۱:

$$\text{Germination percentage} = \frac{\text{Number of germinated seeds on the tenth day}}{\text{Total number of seeds}} \times 100$$

رابطه ۲:

$$\text{Germination speed} = \frac{\text{Number of seeds germinated per day}}{\text{Number of days}}$$

رابطه ۳:

$$\text{Seedling vigor} = \text{Sum of the lengths of the roots and stems} \times \text{Germination percentage}$$

رابطه ۴:

$$\text{Reduction of germination} = \frac{\text{Number of germinated seeds under salt stress}}{\text{Number of germinated seeds under normal conditions}} \times 100$$

رابطه ۵:

$$\text{Salinity tolerance index} = \frac{\text{Germination percentage in control} \times \text{Germination percentage in Stress}}{\text{Average germination percentage of all genotypes}}$$

رابطه ۶:

$$\text{Seedling length vigor index} = \text{Stem length} \times \text{Germination percentage}$$

رابطه ۷:

$$\text{Seedling weight vigor index} = \text{Seed weight} \times \text{Germination percentage}$$

استخراج DNA و بررسی کمی و کیفی آن: به‌منظور جداسازی DNA ژنوتیپ‌های کلرنگ مورد مطالعه، از ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه برگ و روش دلاپورتا با اندکی تغییر استفاده شد. به‌منظور بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده، از تکنیک ژل الکتروفورز آگارز ۱ درصد و بافر TAE استفاده شد. علاوه بر این با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Spectrophotometer, SmartSpect-plus, BioRad, USA) و اندازه‌گیری میزان جذب نمونه‌های استخراج شده در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر، کمیت و کیفیت نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی چند شکلی و راه‌اندازی واکنش‌های PCR: به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی، تعداد ۲۵ آغازگر نشانگر SCoT براساس مطالعات قبلی انتخاب و براساس توانایی تکثیر قطعات قابل اعتماد و تکرارپذیر، ۱۱ آغازگر مورد استفاده قرار گرفتند. جهت راه‌اندازی واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز از دستگاه ترموسایکلر (Mycycler™-BioRad, USA) و کیت PCR ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما (ایران) استفاده شد. شرایط واکنش بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده در نظر گرفته شد.

الکتروفورز و مشاهده قطعات تکثیر شده: پس از اتمام مراحل تکثیر برای هر آغازگر، محصول PCR بر روی ژل ۱/۵ درصد آگارز بارگیری و توسط دستگاه الکتروفورز به مدت ۲ ساعت اجرا گردید. به‌منظور برآورد حدود اندازه قطعات تکثیر شده روی ژل، از نشانگر با باندهای استاندارد ۱۰۰bp استفاده شد. مشاهده و عکس‌برداری زیر نور UV به کمک دستگاه ژل‌داکت (BioRad, Gel dac, USA) صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: به‌منظور تجزیه آماری صفات مرتبط با جوانه‌زنی، از نرم‌افزار SAS 9.4 استفاده شد. تمامی داده‌های آماری از نظر نرمال بودن مورد بررسی قرار گرفته و سپس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تجزیه واریانس به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی برای دو فاکتور (تنش و ژنوتیپ) صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD و سطح آماری ۵ درصد اجرا شد. به‌منظور تعیین میزان همبستگی بین صفات مختلف در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، از ضرایب همبستگی ساده استفاده گردید. تجزیه به عامل‌ها؛ تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) نیز برای صفات مختلف انجام گرفت. در نهایت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس ضرایب تشابه محاسبه شده با استفاده از صفات فنوتیپی انجام گرفت.

جهت امتیازدهی در بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگر مولکولی، وجود یا عدم وجود باند (چندشکلی) به‌ترتیب با اعداد ۱ و صفر برای هر ژنوتیپ مشخص شد. گروه‌بندی با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و روش UPGMA توسط نرم‌افزار NTSYS-pc.2.2 انجام شد. به‌منظور ارزیابی آغازگرهای مورد استفاده، شاخص‌های محتوای چندشکل (PIC^۱) و شاخص نشانگری (MI^۲) برای هر آغازگر برآورد شد. به‌منظور ارزیابی همبستگی بین دو روش گروه‌بندی، از آزمون مانتل استفاده شد.

¹-Factor Analysis

²-Principle Component Analysis

³-Polymorphism Information Content

⁴-Marker Index

نتایج و بحث

براساس نتایج به دست آمده، شاخص‌های جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در تمامی سطوح تنش شوری نسبت به شرایط کنترل (شاهد بدون تنش) کاهش نشان دادند (جدول ۲). مقادیر شاخص‌ها و صفات مورد بررسی با افزایش سطح تنش، کاهش بیشتری نشان داد. صفت وزن تر ریشه‌چه با ۸۸ درصد بیشترین و صفت نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه با ۲ درصد کمترین کاهش را نشان داد. اکثر صفات و شاخص‌های مورد مطالعه بیش از ۴۰ درصد نسبت به شرایط کنترل (شاهد بدون تنش) کاهش نشان دادند و تنها صفات نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه، نسبت وزن خشک ساقه‌چه به وزن تر ساقه‌چه و نسبت وزن خشک ریشه‌چه به وزن تر ریشه‌چه کمتر از ۱۰ درصد کاهش داشتند (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین تمامی صفات مورد بررسی به جز دو صفت (وزن خشک به وزن تر ریشه‌چه) و (وزن خشک به وزن تر ساقه‌چه) در سطوح مختلف تنش شوری (فاکتور a) و در بین ژنوتیپ‌های مختلف (فاکتور b) تفاوت معنی‌داری وجود داشت. اثرات متقابل تنش شوری و ژنوتیپ ($a \times b$) نیز معنی‌دار بود که بیانگر عکس‌العمل متفاوت ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش شوری بود (جدول ۲).

با توجه به اینکه درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر مستقیم صفت تعداد بذر جوانه زده بود، نتایج مشابهی از نظر مقادیر این صفت در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. میانگین کاهش صفت درصد جوانه‌زنی در سطح تنش ۲۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد در بین ژنوتیپ‌های گلرنگ ۴۵ درصد بود به طوری که با هر سطح تنش حدود ۱۵ درصد از تعداد بذرهای جوانه‌زده کاهش یافت (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و تنش در صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری را نشان داد. براساس نتایج مقایسات میانگین (جدول ۳)، بیشترین مقدار درصد جوانه‌زنی و تعداد بذر جوانه زده به ژنوتیپ شماره ۷ تعلق داشت این ژنوتیپ به همراه ژنوتیپ‌های شماره ۴ و ۹ بیشترین مقدار شاخص‌های درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی در سطوح مختلف تنش را به خود اختصاص دادند. درخصوص صفت شاخص تحمل به تنش شوری، ژنوتیپ‌های ۷، ۹ و ۴ به ترتیب بیشترین میانگین را در سطوح مختلف تنش شوری نشان دادند (جدول ۳). نتایج به طور کلی نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت. ژنوتیپ شماره ۷ و ۴ کمترین کاهش صفات در سطوح مختلف تنش نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها را داشتند و نسبت به تنش شوری بیشترین تحمل را نشان دادند. در مقابل ژنوتیپ‌های شماره ۶ کمترین مقدار را در اکثر صفات داشت (جدول ۳).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار شاخص‌های مرتبط با جوانه‌زنی گلرنگ گردید. به طور کلی با افزایش سطوح تنش شوری، بر میزان کاهش صفات و شاخص‌ها افزوده شد و اختلاف بین ژنوتیپ‌ها در سطوح مختلف تنش شوری نیز بیانگر اثر متفاوت تنش بر روی ژنوتیپ‌های مختلف بود. تنش شوری از طریق کاهش جوانه‌زنی بذر، محدودیت رشد و نمو گیاهانی که تازه جوانه‌زده، باعث کاهش عملکرد کشاورزی می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده که تنش شوری رشد گیاهان را با القای تنش‌های کم‌آبی و اکسیداتیو، سمیت یونی، محدود کردن جذب مواد معدنی ضروری و عدم تعادل تغذیه‌ای در مرحله جوانه زنی و پس از آن کاهش می‌دهد (Ashrafi & Razmjoo 2015).

اثر متقابل تنش شوری و ژنوتیپ در تمامی صفات مورد بررسی بیانگر عکس‌العمل متفاوت ژنوتیپ‌ها نسبت به تنش شوری بود (جدول ۳). در مطالعه Khayamim et al. (2011) با افزایش سطح شوری میزان جوانه‌زنی و ساین شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش نشان داد و این اختلاف در ژنوتیپ‌های مختلف معنی‌دار بود. مطالعات متعددی نشان داده که گیاه گلرنگ تحمل زیادی در برابر شوری نشان می‌دهد. با وجود این پژوهش‌های اخیر نشان داده که در طول جوانه‌زنی مقاومت گیاهچه‌ها نسبت به شوری ۵۰ درصد کاهش پیدا می‌کند (Kaffka et al. 2000). در تحقیقی Çakırlar & Culha (2011) بیان داشتند شوری بر درصد جوانه‌زنی ارقام گلرنگ تأثیر منفی دارد و غلظت‌های بالاتر، اثرات کاهنده بیشتری را نشان خواهد داد. به طوری که غلظت‌های بالاتر از ۷۵ میلی‌مولار به طور معنی‌داری درصد جوانه‌زنی ارقام گلرنگ را کاهش می‌دهد. همچنین کمترین درصد جوانه‌زنی متعلق به غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار بود. در نتیجه تیمارهای تنش اثرات بازدارنده بر جوانه‌زنی گلرنگ خواهند داشت.

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه با افزایش سطوح تنش شوری کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد (کنترل) دارند. در مطالعات گذشته نیز کاهش صفات و شاخص‌های طولی و وزنی ریشه‌چه و ساقه‌چه تحت تأثیر تنش شوری گزارش شده است. در همین رابطه Laleh et al. (2011) نشان دادند که تنش شوری بر وزن و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گلرنگ اثر کاهشی معنی‌داری دارد. آنان نشان دادند که طول و وزن ریشه‌چه نسبت به طول و وزن ساقه‌چه گلرنگ در مراحل ابتدایی جوانه‌زنی بر اثر تنش شوری از کاهش بیشتری برخوردار است. طول ریشه‌چه از صفات مهم مقاومت و تحمل در برابر تنش‌های شوری و خشکی محسوب می‌گردد. زیرا ریشه‌چه مستقیماً با خاک در ارتباط بوده و افزایش طول ریشه‌چه بر کارایی گیاهچه برای جذب بیشتر آب و مواد غذایی و همچنین تعادل پتانسیل موثر است (Almansouri et al. 2010). کاهش طول ریشه‌چه در شرایط تنش شوری ناشی از کاهش پتانسیل آب در ناحیه ریشه بوده که موجب بروز علائم تنش خشکی، سمیت یونی و کاهش جذب مواد غذایی و نهایتاً کاهش رشد گیاهچه خواهد شد (Kaya et al. 2003).

در تحقیقی Thoday-Kennedy et al. (2021) نشان دادند که غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل به نمک گیاه روغنی گلرنگ بسیار مناسب است. تحمل نمک در گلرنگ به حذف یون سدیم از بافت اندام هوایی و حفظ جذب پتاسیم وابسته است. و در مجموع تحمل به تنش شوری در آزمایش‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی، سازگاری با عملکرد ژنوتیپ‌های انتخاب شده در شرایط تنش شوری در مزرعه را نشان می‌دهد. تحمل به تنش شوری پیچیده بوده و ژن‌های زیادی را شامل می‌شود، اما پیشرفت‌هایی در مطالعه مکانیسم‌های پاسخ گیاه به شوری حاصل شده است. با وجود این، مطالعات در مورد تحمل به شوری می‌تواند در اصلاح گیاهان زراعی مقاوم یا متحمل به شوری کمک قابل توجهی باشد (Negrao et al. 2017).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های گلرنگ در سطوح مختلف تنش شوری

Table 2. Analysis of variance of the studied traits in safflower genotypes at different levels of salinity stress

درصد تغییرات Percentage of changes	میانگین مربعات صفات مورد بررسی (MS)			صفات Traits
	Mean squares of the studied traits (MS)			
	تنش × ژنوتیپ (a×b) Stress × genotype	ژنوتیپ (b) Genotype	تنش شوری (a) Salinity stress	
-45	2.35**	2.63**	407.93**	تعداد بذر جوانه زده (NSG) Number of germinated seeds
-45	58.86**	65.83**	10198.11**	درصد جوانه‌زنی (GP) Germination percentage
-62	10.04**	15.99**	1133.91**	سرعت جوانه‌زنی (GS) Germination speed
-44	218.55**	2292.28**	320980.57**	طول ریشه‌چه (RL) Root length
-52	3444.33**	7171.35**	561717.91**	طول ساقه‌چه (SL) Stem length
-69	17488.31**	25022.40**	3415291.54**	بنیه گیاهچه (SV) Seedling vigor
-2	0.003*	0.006*	0.002	طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه (RL/SL) Root length to shoot length
-88	190.67**	206.31**	2888.25**	وزن تر ریشه‌چه (WRW) Root fresh weight
-45	421.94**	878.49**	68810.45**	وزن تر ساقه‌چه (WSW) Stem fresh weight
-45	8.15**	10.39**	811.15**	وزن خشک ریشه‌چه (DRW) Root dry weight
-42	6.41*	11.78**	526.89**	وزن خشک ساقه‌چه (DSW) Stem dry weight
-9	0.0002	0.0002	0.0008	وزن خشک به وزن تر ریشه‌چه (DR/WR) Dry weight to fresh weight of root
-6	0.0002	0.0004	0.0002*	وزن خشک به وزن تر ساقه‌چه (DS/WS) Dry weight to fresh weight of stem
-45	0.007**	0.01**	1.23**	کاهش جوانه‌زنی (RG) Reduction of germination
-69	58.86**	65.83**	10198.05**	شاخص طولی بنیه بذر (SLVI) Seedling length vigor index
-69	5732.05**	1081.87**	1094884.02**	شاخص وزنی بنیه بذر (SWVI) Seedling weight vigor index
-44	58.85*	65.83*	10198.05**	شاخص تحمل به شوری (STI) Salinity tolerance index

* و ** به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن میانگین مربعات در احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

علامت منفی تغییرات بیانگر کاهش میانگین صفات نسبت به میانگین کنترل (شاهد) می‌باشد.

*and ** indicate that the mean squares are significant at 5 and 1 percent probability, respectively.

The negative sign of the changes indicates a decrease in the mean of the traits compared to the control mean.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری در صفات مختلف

Table 3. Comparison of the mean interaction effect of genotype and different levels of salinity on different traits

صفات (Traits)					
سرعت جوانه‌زنی Germination speed		طول ریشه‌چه Root length		طول ساقچه Stem length	
اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean
a1b9	23.51 ^a	a1b7	547.00 ^a	a1b7	753.33 ^a
a1b10	23.40 ^a	a1b9	541.33 ^a	a1b4	709.33 ^{ab}
a1b2	23.39 ^a	a1b1	535.33 ^{ab}	a1b1	685.67 ^{ab}
a1b8	22.68 ^{ab}	a1b8	529.67 ^{ab}	a1b10	685.33 ^{ab}
a1b7	22.65 ^{abc}	a1b3	523.67 ^{abc}	a1b2	684.00 ^{ab}
a2b7	22.24 ^{abc}	a2b2	522.00 ^{abcd}	a2b7	677.33 ^{ab}
a2b8	22.17 ^{abcd}	a2b8	522.00 ^{abcd}	a2b10	673.33 ^{abc}
a1b1	22.16 ^{abcd}	a1b10	517.00 ^{abcd}	a2b4	673.00 ^{abc}
a2b9	21.48 ^{bcd}	a1b4	516.33 ^{abcd}	a1b5	671.33 ^{abc}
a2b6	21.40 ^{bcd}	a2b7	514.67 ^{abcd}	a1b9	670.67 ^{abc}
a2b2	21.32 ^{bcd}	a2b4	512.33 ^{abcd}	a2b9	658.67 ^{bcd}
a2b10	21.22 ^{cdef}	a1b5	512.33 ^{abcd}	a1b3	653.67 ^{bcd}
a1b6	20.87 ^{def}	a1b6	511.33 ^{abcd}	a1b8	653.33 ^{bcd}
a1b4	20.77 ^{ef}	a2b10	501.33 ^{bcd}	a2b2	637.67 ^{cde}
a1b3	20.28 ^{ef}	a2b5	495.67 ^{bcd}	a2b1	632.33 ^{cde}
a2b1	20.06 ^{ef}	a1b6	492.67 ^{bcd}	a1b5	631.00 ^{cde}
a2b4	18.84 ^{ef}	a2b9	489.00 ^{bcd}	a2b8	629.00 ^{cde}
a1b5	17.80 ^{hi}	a3b3	487.67 ^{cdef}	a1b6	625.33 ^{cde}
a2b5	17.49 ^{ij}	a2b1	487.67 ^{cdef}	a2b3	619.33 ^{def}
a2b3	16.36 ^{jk}	a2b6	465.67 ^{cdef}	a2b6	584.33 ^{def}
a3b6	15.79 ^{jk}	a3b6	454.33 ^{cdef}	a3b7	582.67 ^{efg}
a3b9	15.55 ^{jk}	a3b5	450.33 ^{efgh}	a3b5	574.67 ^{efg}
a3b4	15.5 ^{jk}	a3b2	436.67 ^{efgh}	a3b2	574.00 ^{efg}
a3b7	15.03 ^k	a3b8	435.00 ^{efgh}	a3b8	570.00 ^{efg}
a3b10	14.08 ^k	a3b7	432.00 ^{efgh}	a3b6	550.67 ^{efg}
a3b5	13.99 ^{lm}	a3b9	418.33 ^{efgh}	a3b1	548.00 ^{efgh}
a3b1	13.10 ^{lm}	a3b1	404.33 ^{ghi}	a3b9	525.33 ^{ghi}
a3b8	13.01 ^{lm}	a3b8	385.33 ^{ghi}	a3b4	516.00 ^{ghi}
a3b2	12.44 ^{mn}	a3b10	385.00 ^{ghi}	a3b10	504.00 ^{ghi}
a4b4	12.16 ^{mn}	a3b4	384.67 ^{ghi}	a3b3	492.67 ^{hij}
a4b2	11.57 ^{no}	a4b4	350.67 ^{ijk}	a4b5	447.33 ^{ijk}
a3b3	11.30 ^o	a4b5	338.33 ^{ijk}	a4b4	435.33 ^{ijk}
a4b5	9.56 ^o	a4b2	324.33 ^{jk}	a4b2	420.33 ^{kl}
a4b9	9.44 ^p	a4b8	316.00 ^k	a4b1	393.33 ^{kl}
a4b1	8.73 ^{pq}	a4b1	301.33 ^{km}	a4b8	380.67 ^{kl}
a4b8	7.86 ^{qr}	a4b9	290.67 ^{klm}	a4b9	380.00 ^{kl}
a4b10	7.20 ^f	a4b3	287.67 ^{klm}	a4b7	323.67 ^l
a4b3	6.56 ^{rs}	a4b10	248.33 ^{lm}	a4b3	321.33 ^l
a4b6	5.60 st	a4b7	248.00 ^{lm}	a4b6	316.67 ^l
a4b7	5.08 st	a4b6	234.00 ^m	a4b10	309.33 ^l

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different.

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری در صفات مختلف

Table 3. Comparison of the mean interaction effect of genotype and different levels of salinity on different traits

صفات (Traits)					
وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight		تعداد بذر جوانه‌زده Number of germinated seeds		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	
اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean
a1b1	27.70 ^a	a1b7	19.33 ^a	a1b7	96.67 ^a
a1b5	27.26 ^{ab}	a1b4	18.67 ^{ab}	a1b4	93.33 ^{ab}
a1b9	26.65 ^{abc}	a1b9	18.67 ^{ab}	a1b9	93.33 ^{ab}
a2b4	26.59 ^{abc}	a1b1	18.33 ^b	a1b1	91.67 ^{ab}
a2b7	25.70 ^{abcd}	a1b2	18.00 ^{bc}	a1b2	90.00 ^{abc}
a2b10	25.54 ^{abcd}	a1b8	18.00 ^{bc}	a1b8	90.00 ^{abc}
a1b8	25.42 ^{abcd}	a1b3	18.00 ^{bc}	a1b3	90.00 ^{abc}
a1b7	25.26 ^{abcde}	a2b7	18.00 ^{bc}	a2b7	90.00 ^{abc}
a2b9	25.14 ^{abcde}	a1b10	18.00 ^{bc}	a1b10	90.00 ^{abc}
a2b6	24.69 ^{abcde}	a2b8	18.00 ^{bc}	a2b8	90.00 ^{abc}
a1b3	24.47 ^{abcde}	a2b10	17.67 ^{cd}	a2b10	88.33 ^{abcd}
a1b4	24.45 ^{abcde}	a2b4	17.67 ^{cd}	a2b4	88.33 ^{abcd}
a2b3	24.41 ^{abcde}	a1b5	17.67 ^{cd}	a1b5	88.33 ^{abcd}
a2b8	24.39 ^{abcde}	a2b9	17.33 ^{cd}	a2b9	86.67 ^{abcde}
a1b10	24.15 ^{abcde}	a2b2	17.33 ^{cd}	a2b2	86.67 ^{abcde}
a2b1	24.08 ^{abcde}	a1b7	17.00 ^{cd}	a1b5	85.00 ^{bcde}
a2b5	23.79 ^{bcdef}	a2b3	17.00 ^{cd}	a2b3	85.00 ^{bcde}
a1b2	23.39 ^{bcdef}	a2b1	17.00 ^{cd}	a2b1	85.00 ^{bcde}
a1b6	22.9 ^{cdef}	a1b6	16.67 ^{de}	a1b6	83.33 ^{cdefg}
a2b2	22.73 ^{cdef}	a2b6	16.00 ^{de}	a2b6	80.00 ^{efgh}
a3b6	22.48 ^{cdefh}	a3b6	15.67 ^{de}	a3b6	78.33 ^{efgh}
a3b5	22.28 ^{cdefg}	a3b5	15.33 ^{de}	a3b5	76.67 ^{efgh}
a3b9	21.41 ^{defgh}	a3b7	15.00 ^{de}	a3b7	75.00 ^{fghij}
a3b2	21.29 ^{defgh}	a3b8	15.00 ^{de}	a3b8	75.00 ^{fghij}
a3b8	21.21 ^{defgh}	a3b2	14.67 ^{def}	a3b2	73.33 ^{hijk}
a3b1	20.74 ^{defgh}	a3b1	14.33 ^{def}	a3b1	71.67 ^{hijk}
a3b7	20.74 ^{ghij}	a3b9	14.00 ^{def}	a3b9	70.00 ^{ijkl}
a3b10	19.48 ^{ghij}	a3b4	13.67 ^{ef}	a3b4	68.33 ^{ijkl}
a4b5	18.24 ^{ghij}	a3b10	13.33 ^{efg}	a3b10	66.67 ^{ijkl}
a3b3	17.83 ^{ghij}	a3b3	13.00 ^{efg}	a3b3	65.00 ^{kl}
a3b4	17.80 ^{ghij}	a4b5	11.67 ^{efg}	a4b5	58.33 ^{mn}
a4b4	16.50 ^{ghij}	a4b4	11.67 ^{efg}	a4b4	58.33 ^{mn}
a4b8	15.84 ^{ghij}	a4b1	10.67 ^{efg}	a4b1	53.33 ^{mn}
a4b9	13.62 ^{kl}	a4b2	10.67 ^{gh}	a4b2	53.33 ^{mn}
a4b3	13.48 ^{kl}	a4b8	10.33 ^{gh}	a4b8	51.67 ^{mno}
a4b1	13.46 ^{kl}	a4b9	10.00 ^{gh}	a4b9	50.00 ^{mno}
a4b10	12.59 ^{kl}	a4b3	9.33 ^{ijk}	a4b3	46.67 ^{no}
a4b7	12.57 ^{kl}	a4b10	8.67 ^{klm}	a4b10	43.33 ^{no}
a4b2	12.57 ^{kl}	a1b6	8.33 ^{mn}	a1b6	41.67 ^{no}

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different.

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری در صفات مختلف

Table 3. Comparison of the mean interaction effect of genotype and different levels of salinity on different traits

صفات (Traits)					
طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه Root length to shoot length		وزن تر ریشه‌چه Root fresh weight		وزن تر ساقه‌چه Stem fresh weight	
اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean
a4b3	0.90	a1b7	164.1 ^a	a1b7	263.67 ^a
a4b8	0.83	a1b9	162.4 ^a	a1b4	248.27 ^{ab}
a2b8	0.83	a1b1	160.6 ^{ab}	a1b1	239.98 ^{ab}
a3b6	0.83	a1b8	158.9 ^{ab}	a1b10	239.87 ^{ab}
a1b8	0.82	a1b3	157.1 ^{abc}	a1b2	239.40 ^{ab}
a1b9	0.81	a1b2	156.6 ^{abcd}	a2b7	237.07 ^{ab}
a4b4	0.81	a2b8	156.6 ^{abcd}	a2b10	235.67 ^{abc}
a1b3	0.80	a1b10	155.1 ^{abcd}	a2b4	235.55 ^{abc}
a2b6	0.80	a1b4	154.9 ^{abcd}	a1b5	234.97 ^{abc}
a4b10	0.80	a2b7	154.4 ^{abcd}	a1b9	234.73 ^{abc}
a3b9	0.79	a1b5	153.7 ^{abcd}	a2b9	230.53 ^{bcd}
a1b3	0.79	a2b4	153.7 ^{abcd}	a1b3	228.78 ^{bcd}
a2b3	0.79	a2b10	153.4 ^{abcd}	a1b8	228.67 ^{bcd}
a2b5	0.79	a2b2	150.4 ^{bce}	a2b2	223.18 ^{bcd}
a1b6	0.79	a2b5	148.7 ^{bcd}	a2b1	221.32 ^{bcd}
a3b5	0.78	a1b6	147.8 ^{bcd}	a1b5	220.85 ^{bcd}
a3b3	0.78	a2b9	146.7 ^{bcd}	a2b8	220.15 ^{bcd}
a1b1	0.78	a2b3	146.3 ^{bcd}	a1b6	218.87 ^{bcd}
a2b1	0.77	a2b1	146.3 ^{bcd}	a2b3	216.77 ^{bcd}
a4b1	0.77	a2b6	139.7 ^{cdef}	a2b6	204.52 ^{bcd}
a4b7	0.77	a3b6	136.3 ^{defg}	a3b7	203.93 ^{bcd}
a4b9	0.76	a3b5	135.1 ^{defg}	a3b5	201.13 ^{defg}
a3b2	0.76	a3b2	131.0 ^{defgh}	a3b2	200.90 ^{defg}
a3b10	0.76	a3b8	130.5 ^{defgh}	a3b8	199.50 ^{defg}
a1b5	0.76	a3b7	129.6 ^{defgh}	a3b6	192.73 ^{efg}
a1b2	0.76	a3b9	125.5 ^{ghi}	a3b1	191.80 ^{efg}
a3b8	0.76	a3b1	121.3 ^{ghi}	a3b9	183.87 ^{fgh}
a2b4	0.76	a3b3	115.6 ^{ghi}	a3b4	180.60 ^{fghi}
a3b10	0.76	a3b10	115.5 ^{ghi}	a3b10	176.40 ^{ghij}
a2b7	0.76	a3b4	115.4 ^{ghi}	a3b3	172.43 ^{hijl}
a4b5	0.76	a4b4	105.2 ^{ijk}	a4b5	156.57 ^{hijk}
a4b2	0.76	a4b5	101.5 ^{ijk}	a4b4	152.37 ^{hijk}
a1b10	0.76	a4b2	97.3 ^k	a4b2	147.12 ^{jk}
a3b4	0.75	a4b8	94.8 ^{kl}	a4b1	137.67 ^{kl}
a2b9	0.74	a4b1	90.4 ^{klm}	a4b8	133.23 ^{kl}
a3b7	0.74	a4b9	87.2 ^{klm}	a4b9	133.00 ^{kl}
a3b1	0.74	a4b3	86.3 ^{klm}	a4b7	113.28 ^l
a4b6	0.73	a4b10	74.51 ^m	a4b3	112.47 ^l
a1b4	0.73	a4b7	74.41 ^m	a4b6	110.83 ^l
a1b7	0.73	a4b10	70.2 ^m	a4b10	108.27 ^l

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different.

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری در صفات مختلف

Table 3. Comparison of the mean interaction effect of genotype and different levels of salinity on different traits

صفات (Traits)					
وزن خشک به وزن تر ریشه چه Dry weight to fresh weight of root		وزن خشک به وزن تر ساقه چه Dry weight to fresh weight of stem		کاهش جوانه زنی Reduction of germination	
اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean
a4b5	0.18 ^a	a4b3	0.12 ^a	a1b1	1.00 ^a
a1b5	0.18 ^a	a4b1	0.12 ^{ab}	a1b2	1.00 ^a
a2b6	0.18 ^a	a4b5	0.12 ^{ab}	a1b3	1.00 ^a
a2b4	0.17 ^a	a1b3	0.11 ^{abc}	a1b4	1.00 ^a
a1b1	0.17 ^a	a4b9	0.11 ^{abc}	a1b5	1.00 ^a
a3b9	0.17 ^a	a4b7	0.11 ^{abc}	a1b6	1.00 ^a
a3b1	0.17 ^a	a4b10	0.11 ^{abc}	a1b7	1.00 ^a
a2b9	0.17 ^a	a4b4	0.11 ^{abc}	a1b8	1.00 ^a
a4b7	0.17 ^a	a3b7	0.11 ^{abc}	a1b9	1.00 ^a
a3b10	0.17 ^a	a4b8	0.11 ^{abc}	a1b10	1.00 ^a
a4b10	0.17 ^a	a4b6	0.11 ^{abc}	a2b8	1.00 ^a
a2b3	0.17 ^a	a3b8	0.11 ^{abc}	a2b10	0.98 ^{ab}
a2b10	0.17 ^{ab}	a3b9	0.11 ^{abc}	a2b2	0.97 ^{ab}
a2b7	0.17 ^{ab}	a1b5	0.11 ^{abc}	a2b5	0.96 ^{ab}
a4b8	0.17 ^{ab}	a1b9	0.11 ^{abc}	a2b6	0.96 ^{ab}
a3b5	0.17 ^{ab}	a1b1	0.11 ^{abc}	a2b4	0.95 ^{ab}
a2b1	0.17 ^{ab}	a3b5	0.10 ^{abc}	a2b3	0.94 ^{ab}
a3b6	0.17 ^{ab}	a2b1	0.10 ^{abc}	a3b6	0.94 ^{ab}
a1b9	0.16 ^{ab}	a2b6	0.10 ^{abc}	a2b7	0.93 ^{ab}
a3b2	0.16 ^{ab}	a2b3	0.10 ^{abc}	a2b1	0.93 ^{ab}
a3b8	0.16 ^{ab}	a4b2	0.10 ^{abc}	a3b9	0.93 ^{ab}
a1b8	0.16 ^{ab}	a3b1	0.10 ^{abc}	a3b5	0.87 ^{abc}
a2b5	0.16 ^{ab}	a2b2	0.10 ^{abc}	a3b8	0.83 ^{abc}
a3b7	0.16 ^{ab}	a3b3	0.10 ^{abc}	a3b2	0.82 ^{abc}
a1b4	0.16 ^{ab}	a3b10	0.10 ^{abc}	a3b1	0.78 ^{bcd}
a4b4	0.16 ^{ab}	a1b8	0.10 ^{abc}	a3b7	0.78 ^{bcd}
a4b9	0.16 ^{ab}	a2b7	0.10 ^{abc}	a3b9	0.75 ^{bcd}
a4b3	0.16 ^{ab}	a2b8	0.10 ^{abc}	a3b10	0.74 ^{cd}
a1b6	0.16 ^{ab}	a2b5	0.10 ^{abc}	a3b4	0.73 ^{cd}
a1b10	0.16 ^{ab}	a1b6	0.10 ^{abc}	a3b3	0.73 ^{cd}
a2b8	0.16 ^{ab}	a2b9	0.10 ^{bc}	a4b5	0.66 ^{efg}
a1b3	0.16 ^{ab}	a1b7	0.10 ^{bc}	a4b4	0.63 ^{gh}
a3b3	0.16 ^{ab}	a3b2	0.10 ^{bc}	a4b2	0.59 ^{hi}
a1b7	0.15 ^{ab}	a3b6	0.10 ^{bc}	a4b1	0.58 ^{hij}
a3b4	0.15 ^{ab}	a1b10	0.10 ^{bc}	a4b8	0.57 ^{hij}
a4b6	0.15 ^{ab}	a2b10	0.10 ^{bc}	a4b9	0.54 ^{ijk}
a4b3	0.15 ^{ab}	a2b4	0.10 ^{bc}	a4b3	0.52 ^{kl}
a4b7	0.15 ^{ab}	a1b2	0.10 ^{bc}	a4b6	0.51 ^{kl}
a4b10	0.15 ^{ab}	a1b3	0.09 ^c	a4b10	0.48 ^{kl}
a4b6	0.14 ^b	a3b4	0.09 ^c	a4b7	0.43 ^l

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different.

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری در صفات مختلف

Table 3. Comparison of the mean interaction effect of genotype and different levels of salinity on different traits

صفات (Traits)					
شاخص تحمل به شوری Salinity tolerance index		بنیه بذر Seed vigor		وزن خشک ساقه‌چه Stem dry weight	
اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean	اثر متقابل Interaction	میانگین Mean
a1b7	96.67 ^a	a1b7	1257.95 ^a	a1b7	25.77 ^a
a1b4	93.33 ^{ab}	a1b4	1144.65 ^{ab}	a1b3	25.65 ^a
a1b9	93.33 ^{ab}	a1b9	1135.47 ^{abc}	a1b1	25.43 ^a
a1b1	91.67 ^{ab}	a1b1	1121.98 ^{abc}	a1b5	25.26 ^a
a1b2	90.00 ^{abc}	a1b2	1087.63 ^{abc}	a1b9	25.24 ^a
a1b8	90.00 ^{abc}	a1b10	1082.1 ^{abc}	a2b7	23.80 ^{ab}
a1b3	90.00 ^{abc}	a2b7	1072.8 ^{abc}	a1b4	23.25 ^{abc}
a2b7	90.00 ^{abc}	a1b8	1064.7 ^{abc}	a1b10	23.08 ^{abc}
a1b10	90.00 ^{abc}	a1b3	1061.8 ^{abc}	a1b8	22.97 ^{abc}
a2b8	90.00 ^{abc}	a2b4	1052.28 ^{bc}	a2b2	22.76 ^{abc}
a2b10	88.33 ^{abcd}	a2b10	1047.27 ^{bc}	a1b2	22.70 ^{abcd}
a2b4	88.33 ^{abcd}	a1b5	1046.32 ^{bc}	a2b10	22.67 ^{abcd}
a1b5	88.33 ^{abcd}	a2b8	1035.9 ^{bcd}	a2b4	22.65 ^{abcd}
a2b9	86.67 ^{abcd}	a2b9	998.72 ^{bcd}	a2b1	22.58 ^{abcd}
a2b2	86.67 ^{abcd}	a2b2	988.53 ^{bcd}	a2b9	22.49 ^{abcd}
a2b5	85.00 ^{bcdef}	a2b5	957.67 ^{bcde}	a3b7	22.19 ^{abcd}
a2b3	85.00 ^{bcdef}	a2b1	953.93 ^{bcde}	a2b3	22.13 ^{abcd}
a2b1	85.00 ^{bcdef}	a3b3	942.12 ^{bcde}	a2b5	21.86 ^{abcde}
a1b6	83.33 ^{cdefg}	a1b6	934.73 ^{bcde}	a2b8	21.80 ^{abcde}
a2b6	80.00 ^{cdefg}	a2b6	843.2 ^{cdef}	a3b8	21.75 ^{abcde}
a3b6	78.33 ^{cdefg}	a3b6	789.48 ^{cdef}	a1b6	21.67 ^{abcde}
a3b5	76.67 ^{cdefg}	a3b5	785.72 ^{cdef}	a2b6	20.91 ^{abcde}
a3b7	75.00 ^{efghij}	a3b8	762.68 ^{cdef}	a3b5	20.91 ^{abcde}
a3b8	75.00 ^{efghij}	a3b7	761.5 ^{defg}	a3b9	19.87 ^{bcdefg}
a3b2	73.33 ^{efghij}	a3b2	741.81 ^{fgh}	a3b1	19.66 ^{bcdefg}
a3b1	71.67 ^{efghijk}	a3b1	682.98 ^{ghij}	a3b2	19.56 ^{bcdefg}
a3b9	70.00 ^{efghijk}	a3b9	670.07 ^{ijkl}	a3b6	18.75 ^{cdfe fgh}
a3b4	68.33 ^{ijkl}	a3b4	617.43 ^{klm}	a4b5	18.17 ^{cdfe fgh}
a3b10	66.67 ^{ijkl}	a3b10	595.52 ^{klmn}	a3b10	17.80 ^{cdfe fgh}
a3b3	65.00 ^{ijkl}	a3b3	572.63 ^{klmn}	a3b3	17.40 ^{cdfe gj}
a4b7	58.33 ^{klm}	a4b5	459.45 ^{lmn}	a3b4	16.88 ^{efghij}
a4b4	58.33 ^{klm}	a4b4	459.15 ^{lmn}	a4b4	16.75 ^{efghij}
a4b1	53.33 ^{klmn}	a4b2	413.23 ^{lmn}	a4b1	15.96 ^{efghij}
a4b2	53.33 ^{klmn}	a4b1	370.73 ^{mno}	a4b2	14.90 ^{hijkl}
a4b8	51.67 ^{mn}	a4b8	363.23 ^{mno}	a4b9	14.83 ^{hijkl}
a4b9	50.00 ^{mn}	a4b9	342.07 ^{no}	a4b8	14.52 ^{hijkl}
a4b3	46.67 ^{no}	a4b3	284.05 ^{no}	a4b3	13.47 ^{klm}
a4b10	43.33 ^{no}	a4b10	247.85 ⁿ	a4b7	12.55 ^{lm}
a4b5	41.67 ^o	a4b7	239.03 ⁿ	a4b10	12.05 ^m
a4b6	41.67 ^o	a4b6	232.93 ⁿ	a4b6	11.97 ^m

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different.

ادامه جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف شوری در صفات مختلف

Table 3. Comparison of the mean interaction effect of genotype and different levels of salinity on different traits

صفات (Traits)			
شاخص طولی بنيه بذر Seedling length vigor index		شاخص وزنی بنيه بذر Seedling weight vigor index	
اثر متقابل	میانگین	اثر متقابل	میانگین
Interaction	Mean	Interaction	Mean
a1b7	728.80 ^a	a1b7	255.08 ^a
a1b4	662.47 ^{ab}	a1b4	231.86 ^{ab}
a1b1	629.85 ^{abc}	a1b1	220.45 ^{abc}
a1b9	628.93 ^{abc}	a1b9	220.13 ^{bc}
a1b2	616.87 ^{abc}	a1b2	215.90 ^{bc}
a1b10	616.80 ^{abc}	a1b10	215.88 ^{bc}
a2b7	609.60 ^{abc}	a2b7	213.36 ^{bc}
a2b4	597.47 ^{abc}	a2b4	209.11 ^{bc}
a1b10	595.23 ^{abc}	a1b10	208.33 ^{bc}
a1b5	593.43 ^{abc}	a1b5	207.70 ^{bc}
a1b3	589.45 ^{abc}	a1b3	206.31 ^{bc}
a1b8	588.00 ^{abc}	a1b8	205.80 ^{bcd}
a2b9	573.80 ^{bcd}	a2b9	200.83 ^{bcd}
a2b8	566.10 ^{bcd}	a2b8	198.14 ^{bcd}
a2b2	553.70 ^{bcd}	a2b2	193.80 ^{bcd}
a2b1	538.85 ^{bcd}	a2b1	188.60 ^{bcd}
a2b5	536.35 ^{cdef}	a2b5	187.72 ^{cdef}
a2b3	526.63 ^{cdef}	a2b3	184.32 ^{cdef}
a1b6	522.27 ^{cdef}	a1b6	182.79 ^{cdef}
a2b6	469.78 ^{cdef}	a2b6	164.42 ^{cdef}
a3b5	440.23 ^{cdef}	a3b5	154.08 ^{efgh}
a3b7	437.00 ^{efghi}	a3b7	152.95 ^{efghi}
a3b8	432.57 ^{efghi}	a3b8	151.40 ^{efghi}
a3b6	431.33 ^{efghi}	a3b6	150.97 ^{efghi}
a3b2	421.63 ^{efghi}	a3b2	147.57 ^{fghi}
a3b1	393.27 ^{ghi}	a3b1	137.64 ^{ghi}
a3b9	372.13 ^{ghi}	a3b9	130.25 ^{ghi}
a3b4	354.07 ^{ghij}	a3b4	123.92 ^{ghij}
a3b10	337.60 ^{ghij}	a3b10	118.16 ^{ghij}
a3b3	321.33 ^{ijkl}	a3b3	112.47 ^{ijk}
a4b5	261.72 ^{jkl}	a4b5	91.60 ^{jkl}
a4b4	254.53 ^{klm}	a4b4	89.09 ^{klm}
a4b2	231.93 ^{lm}	a4b2	81.18 ^{lm}
a4b1	210.03 ^{lm}	a4b1	73.51 ^{lm}
a4b8	198.63 ^{lm}	a4b8	69.52 ^{lm}
a4b9	193.80 ^{lm}	a4b9	67.83 ^{lm}
a4b3	149.77 ^m	a4b3	52.42 ^{lm}
a4b10	137.20 ^m	a4b10	48.02 ^m
a4b7	135.17 ^m	a4b7	47.31 ^m
a4b6	133.63 ^m	a4b6	46.77 ^m

میانگین‌هایی که دارای حرف مشترک هستند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different.

نتایج تجزیه همبستگی ساده بین صفات مختلف نشان داد که همبستگی مثبت معنی‌داری بین صفت درصد جوانه‌زنی و اکثر صفات مشاهده شد به طوری که همبستگی بین درصد جوانه‌زنی و دو صفت طول ریشه‌چه و ساقه‌چه به ترتیب برابر با ۰/۹۴ و ۰/۹۲ بود. همچنین شاخص تحمل به تنش شوری با صفات درصد جوانه‌زنی (۰/۹۹)، طول ساقه‌چه (۰/۹۸)، شاخص طولی قدر بذر (۰/۹۱)، شاخص وزنی بنیه بذر (۰/۹۱) و بنیه بذر (۰/۹۶) همبستگی مثبت بسیار معنی‌داری نشان داد. براساس نتایج به‌دست آمده صفت سرعت جوانه‌زنی با نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه همبستگی منفی و معنی‌داری (۰/۴۹-) نشان داد. همبستگی بین سرعت جوانه‌زنی و صفت بنیه بذر نیز منفی و معنی‌دار (۰/۵۴-) بود (جدول ۴).

نتایج حاصل از تجزیه به عامل‌ها نشان داد که دو عامل اول مجموعاً ۷۸ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند که سهم عامل اول و دوم به ترتیب ۶۳ و ۱۵ درصد بود. در عامل اول تعداد بذر جوانه زده (۰/۹۸)، درصد جوانه‌زنی (۰/۹۸)، بنیه بذر (۰/۹۷)، طول ساقه‌چه (۰/۹۷)، شاخص طولی و شاخص وزنی بنیه بذر (۰/۹۶)، شاخص تحمل به شوری (۰/۹۹) و وزن تر ساقه‌چه (۰/۹۶) دارای بار عاملی دوران یافته بزرگ و مثبت بودند و صفت طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه (۰/۵۱-) دارای بار عاملی منفی و بزرگ بود (جدول ۶).

در عامل دوران یافته دوم، نسبت وزن خشک به وزن تر ریشه‌چه (۰/۸۸) و نسبت وزن خشک به وزن تر ساقه‌چه (۰/۶۵) دارای بار عامل مثبت و بالا بودند و سرعت جوانه‌زنی (۰/۵۷-) دارای بار منفی بالایی بود. با توجه به بار عوامل هر کدام از صفات در هر دو عامل دوران یافته، می‌توان عامل پنهانی اول را تحت عنوان عامل تحمل به تنش شوری و عامل دوم را به‌عنوان عامل وزنی نامید.

جدول ۴. نتایج همبستگی ساده صفات مختلف ژنوتیپ‌های گلرنگ تحت تنش شوری

Table 4. Simple correlation results of different traits of safflower genotypes under salt stress

صفات (Traits)								صفات (Traits)
WRW	RL/SL	SV	SL	RL	GS	GP	NSG	
							1.00	NSG
						1.00	0.99**	GP
					1.00	0.33	0.33	GS
				1.00	0.23	0.94**	0.94**	RL
			1.00	0.79**	0.41	0.92**	0.92**	SL
		1.00	0.97**	0.87	0.42	0.95**	0.95**	SV
	1.00	-0.54*	0.69**	0.14	-0.49*	-0.39	-0.39	RL/SL
1.00	0.14	0.87**	0.80**	0.99**	0.23	0.94**	0.94**	WRW
0.54*	-0.69**	0.97**	0.99**	0.81**	0.41	0.92**	0.92**	WSW
0.73**	-0.17	0.58*	0.54*	0.62**	0.03	0.70**	0.70**	DRW
-0.25	-0.32	0.76**	0.73**	0.73**	0.05	0.78**	0.78**	DSW
0.01	0.43	-0.16	-0.25	-0.03	-0.62**	0.06	0.06	WR/DR
0.13	-0.13	0.01	0.01	-0.08	0.19	-0.10	-0.09	WS/DS
0.13	0.17	0.10	0.13	0.43	-0.06	0.30	0.30	RG
0.98**	-0.65**	0.98**	0.92**	0.94**	0.33	0.91**	0.91**	ILSV

0.87**	-0.67**	0.98**	0.97**	0.79**	0.44	0.91**	0.91**	IWSV
0.98**	-0.40	0.96**	0.98**	0.33	0.44	0.99**	0.99**	STI

* و ** به ترتیب بیانگر معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

* and **: significant at 0.05, 0.01 probability levels, respectively.

ادامه جدول ۴. نتایج همبستگی ساده صفات مختلف ژنوتیپ‌های گلرنگ تحت تنش شوری

Table 4. Simple correlation results of different traits of safflower genotypes under salt stress

(صفات) (Traits)								(صفات) (Traits)
SWVI	SLVI	RG	WS/DS	WR/DR	DSW	DRW	WSW	
								NSG
								GP
								GS
								RL
								SL
								SV
								RL/SL
								WRW
							1.00	WSW
						1.00	0.79**	DRW
				1.00	0.48	0.32	0.63**	DSW
			1.00	0.44	0.32	0.72**	-0.25	WR/DR
		1.00	0.08	-0.17	0.06	0.38	-0.09	WS/DS
	1.00	0.02	0.60**	-0.21	0.78**	0.70**	0.43	RG
1.00	0.91**	0.01	0.03	-0.21	0.74**	0.54*	0.78**	SLVI
0.91**	0.91**	0.30	0.02	-0.09	0.78**	0.54*	0.94**	SWVI
								STI

* و ** به ترتیب بیانگر معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می باشد.

* and **: significant at 0.05, 0.01 probability levels, respectively.

براساس نتایج آزمون تجزیه مولفه‌های اصلی (جدول ۶)، با توجه به اینکه دو مولفه اصلی اول مقدار قابل توجهی از واریانس بین ژنوتیپ‌های گلرنگ و صفات مختلف را توجیه نمودند (بیش از ۷۸ درصد) و با اضافه شدن مولفه‌های بعدی تنها مقدار اندکی به اندازه قبلی افزوده شد، لذا نمودار پراکنش ژنوتیپ‌ها برای دو مولفه اصلی اول توانست تفسیر قابل قبولی از پراکنش واقعی داده‌ها را ارائه دهد.

پس از رسم نمودار پراکنش ژنوتیپ‌ها با استفاده از مولفه‌های اصلی اول و دوم، گروه‌بندی تمام ژنوتیپ‌ها با استفاده از دو مولفه اول انجام گرفت. با توجه به گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر روی نمودار مولفه‌های اصلی، ۵ گروه مختلف تشکیل شد. ژنوتیپ شماره ۵ بیشترین مقدار را در بین هر دو مولفه به خود اختصاص داد و در فاصله دورتری از سایر ژنوتیپ‌ها قرار گرفت. ژنوتیپ‌های شماره ۶ و ۱۰ نیز که در رابطه با اکثر صفات بیشترین کاهش را نشان دادند کمترین مقدار دو مولفه را داشته و تشکیل یک گروه دادند. ژنوتیپ شماره ۳ که کمترین سرعت جوانه‌زنی را داشت در فاصله دورتری از ژنوتیپ‌های دیگر قرار گرفت (شکل ۱).

به منظور تعیین فاصله ژنوتیپ‌های گلرنگ مورد بررسی و گروه‌بندی آن‌ها بر اساس صفات و شاخص‌های جوانه‌زنی، تجزیه خوشه‌ای ۱۰ ژنوتیپ گلرنگ با استفاده از ۱۷ شاخص و صفت اندازه‌گیری شده صورت گرفت (شکل ۲). با توجه متفاوت بودن واحد

اندازه‌گیری صفات و همچنین تفاوت در انحراف معیار صفات با واحد اندازه‌گیری مشابه، داده‌ها قبل از استفاده استاندارد شدند.

جدول ۵. نتایج تجزیه به عامل‌ها در صفات مختلف ژنوتیپ‌های گلرنگ تحت تنش شوری

Table 5. Results of factor analysis in various traits of safflower genotypes under salt stress

بار عامل‌های دوران یافته		بار عامل‌های اصلی		صفات Traits
The burden of circulating agents		The burden of major factors		
عامل دوم (F2)	عامل اول (F1)	عامل دوم (F2)	عامل اول (F1)	
Second factor	First factor	Second factor	First factor	
0.028	<u>0.985</u>	0.058	<u>0.984</u>	تعداد بذر جوانه زده (NSG) Number of germinated seeds
0.028	<u>0.985</u>	0.058	<u>0.984</u>	درصد جوانه‌زنی (GP) Germination percentage
<u>0.556</u>	0.243	-0.556	0.360	سرعت جوانه‌زنی (GS) Germination speed
0.104	0.904	0.131	0.900	طول ریشه‌چه (RL) Root length
0.207	<u>0.906</u>	-0.178	<u>0.966</u>	طول ساقه‌چه (SL) Stem length
-0.130	<u>0.979</u>	-0.100	<u>0.996</u>	بنیه بذر (SV) Seed vigor
0.458	-0.449	0.443	-0.513	طول ریشه‌چه به طول ساقه‌چه (RL/SL) Root length to shoot length
0.104	0.904	0.131	0.900	وزن تر ریشه‌چه (WRW) Root fresh weight
-0.207	<u>0.960</u>	-0.178	<u>0.966</u>	وزن تر ساقه‌چه (WSW) Stem fresh weight
0.607	0.694	<u>0.627</u>	0.679	وزن خشک ریشه‌چه (DRW) Root dry weight
0.448	0.812	<u>0.472</u>	0.798	وزن خشک ساقه‌چه (DSW) Stem dry weight
<u>0.881</u>	-0.904	<u>0.878</u>	-0.121	وزن خشک به وزن تر ریشه‌چه (DR/WR) Dry weight to fresh weight of root
<u>0.648</u>	0.101	<u>0.649</u>	0.082	وزن خشک به وزن تر ساقه‌چه (DS/WS) Dry weight to fresh weight of stem
0.185	0.225	0.192	0.220	کاهش جوانه‌زنی (RG) Reduction of germination
0.201	<u>0.958</u>	0.058	<u>0.964</u>	شاخص طولی بنیه بذر (SLVI) Seedling length vigor index
-0.200	<u>0.958</u>	-0.171	<u>0.964</u>	شاخص وزنی بنیه بذر (SWVI) Seedling weight vigor index

0.028	0.985	-0.171	0.984	شاخص تحمل به شوری (STI) Salinity tolerance index
-------	-------	--------	-------	---

جدول ۶. مقادیر ویژه و واریانس توجیه شده در تجزیه به مولفه‌های اصلی ژنوتیپ‌های گلرنگ تحت تنش شوری

Table 6. Eigenvalues and explained variance in principal component analysis of safflower genotypes under salt stress

مولفه اصلی (Principal component)					منبع
مولفه پنجم	مولفه چهارم	مولفه سوم	مولفه دوم	مولفه اول	Source
Fifth component	Fourth component	Third component	Second component	First component	
0.21	0.94	1.49	2.55	10.79	مقادیر ویژه Special values
1.19	5.53	8.76	15.00	63.64	واریانس توجیه شده Justified variance
93.92	92.73	87.20	78.44	63.44	واریانس توجیه شده تجمعی Cumulative justified variance

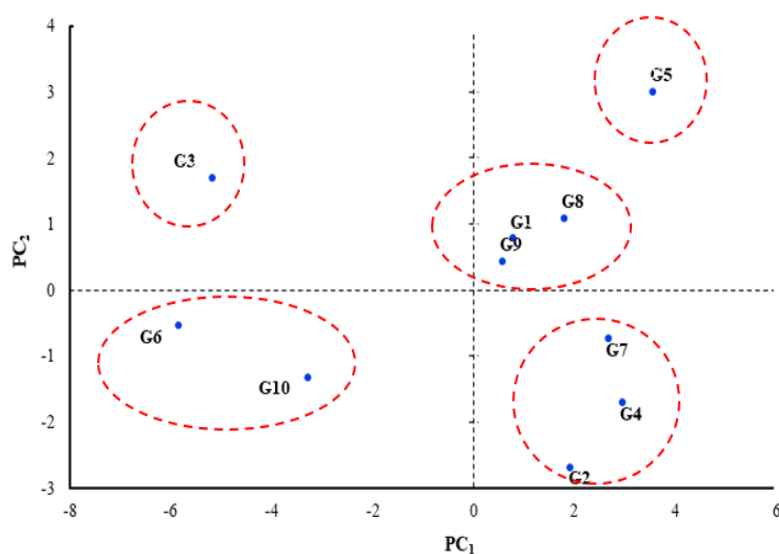
بر اساس گروه‌بندی انجام شده و دندروگرام حاصل، ژنوتیپ‌های گلرنگ در فاصله ۳۵ به ۴ گروه تقسیم شدند (شکل ۲). گروه اول شامل ژنوتیپ‌های ۱، ۹ و ۷ بود. ژنوتیپ‌های این گروه از نظر صفات مورد بررسی از کاهش بالایی در سطوح مختلف تنش شوری برخوردار بودند. ژنوتیپ شماره ۷ در این گروه نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها از بنیه بذر (۸۳۲/۷۰) و طول ساقچه (۵۸۴/۲۵) بالاتری برخوردار بود (جدول ۳).

گروه دوم شامل ژنوتیپ‌های شماره ۵ و ۸ بود. ژنوتیپ شماره ۵ از نظر بیشتر صفت نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها از مقادیر بالاتری برخوردار بود و اختلاف میانگین صفات این ژنوتیپ با سایر ژنوتیپ‌ها معنی‌دار بود. ژنوتیپ شماره ۸ نیز از نظر نسبت طول ریشه‌چه به طول ساقچه بیشترین مقدار را داشت (جدول ۳).

گروه سوم شامل دو ژنوتیپ شماره ۲ و ۴ بود. این ژنوتیپ‌ها از نظر طول ساقچه بیشترین مقدار را داشتند. ژنوتیپ شماره ۴ بالاترین شاخص تحمل به خشکی را داشت و این اختلاف از نظر آماری با سایر ژنوتیپ‌ها معنی‌دار بود. هر دو ژنوتیپ از نظر شاخص وزنی بنیه بذر بیشترین مقدار را داشتند و ژنوتیپ شماره ۲ از نظر شاخص طولی بنیه بذر در بین ژنوتیپ‌های گلرنگ مورد مطالعه در رده سوم قرار داشت (جدول ۳).

گروه چهارم شامل سه ژنوتیپ شماره ۳، ۶ و ۱۰ بود. ژنوتیپ‌های این گروه از نظر اکثر شاخص‌ها و صفات مورد بررسی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها، مقدار کاهش بیشتری را در سطوح مختلف تنش شوری نشان دادند. با این وجود ژنوتیپ شماره ۱۰ از نظر

درصد جوانه‌زنی در مقام سوم قرار داشت (جدول ۳). در پژوهش حاضر، تفاوت‌های معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های گلرنگ در شرایط تنش شوری در مراحل جوانه‌زنی مشاهده شد. شناسایی و انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش شوری برای کشاورزی بسیار مهم است. نتایج نشان داد که گلرنگ پتانسیل بالایی از نظر تنوع ژنتیکی تحت تنش شوری برخوردار است. این تفاوت‌های ژنتیکی مبنای خوبی برای ارائه اطلاعات در مورد ژنوتیپ‌های گلرنگ است که می‌تواند در مناطق تحت تاثیر نمک رشد کند و ممکن است برای تولید بهتر محصول و تعیین درجه تحمل به نمک در ژنوتیپ‌های مختلف برای استفاده بیشتر آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی مفید باشد. بنابراین شاخص‌های جوانه‌زنی می‌توانند به‌عنوان معیار معتبری برای انتخاب ژنوتیپ‌هایی با تحمل بهتر به تنش شوری استفاده شوند. از مجموع ۲۵ آغازگر مورد استفاده، تعداد ۱۱ آغازگر توانستند بین ۱۰ ژنوتیپ گلرنگ مورد مطالعه چندشکلی بیشتر و تکرارپذیر تولید نمایند (جدول ۸). این آغازگرها در مجموع ۱۱۴ باند تشکیل دادند که ۸۶ درصد (۹۸ باند) آن‌ها چندشکل بود. آغازگر SCoT30 و SCoT13 به ترتیب با ۱۴ و ۹ باند بیشترین تعداد باند را به خود اختصاص دادند. اندازه قطعات تکثیر شده توسط آغازگرهای مختلف متفاوت بود و دامنه‌ای بین ۱۵۰ تا ۱۸۰۰ جفت باز داشتند (جدول ۷).

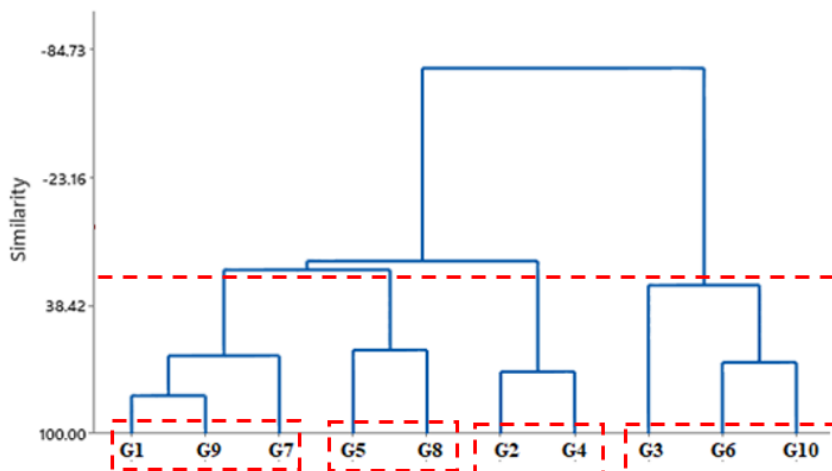


شکل ۱. گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف براساس مقادیر دو مولفه اصلی

Figure 1. Grouping of different genotypes based on the values of the two principal components

شاخص محتوای چندشکل (PIC) برای آغازگرهای مختلف بین ۳۲ تا ۵۵ درصد بود و برای تمامی آغازگرها به‌طور متوسط ۴۶ درصد برآورد شد. بیشترین (۵/۱) و کمترین (۱/۷) مقدار شاخص نشانگری (MI) به ترتیب به آغازگرهای SCoT27 و SCoT20 تعلق داشت. براساس ماتریس تشابه به‌دست آمده، بین ژنوتیپ‌های گلرنگ مورد مطالعه تنوع ژنتیکی بالایی مشاهده شد و میانگین

شباهت به دست آمده ۴۵ درصد بود. بیشترین شباهت ژنتیکی (۶۶ درصد) بین دو ژنوتیپ ۱ و ۲ و کمترین شباهت ژنتیکی (۳۳ درصد) بین دو ژنوتیپ ۳ و ۴ برآورد شد (شکل ۳).



شکل ۲. تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گلرنگ مورد مطالعه تحت تنش شوری با استفاده از صفات مختلف

Figure 2. Cluster analysis and grouping of safflower genotypes studied under salt stress using different traits

پس از تعیین ضرایب تشابه، تجزیه خوشه‌ای و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها براساس ضرایب به دست آمده اجرا گردید. پس از گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و ترسیم دندروگرام مربوطه، دندروگرام‌های به دست آمده در میانگین ضرایب تشابه به دست آمده قبل قطع شد و گروه‌های تشکیل شده براساس ژنوتیپ‌های هر گروه مورد بررسی قرار گرفتند. با قطع دندروگرام، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تشکیل ۵ گروه مجزا دادند. گروه چهارم شامل ژنوتیپ شماره ۳ و گروه پنجم شامل ژنوتیپ ۹ بود (شکل ۳).

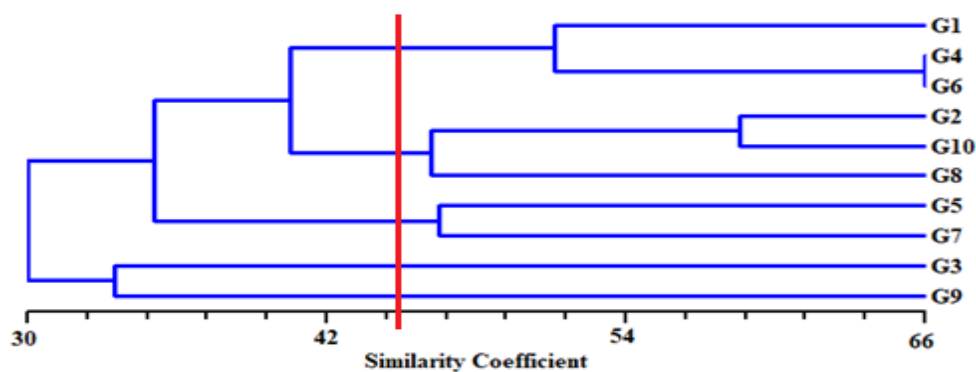
جدول ۷. اطلاعات ژنتیکی به دست آمده از آغازگرهای SCoT مورد استفاده

Table 8. Genetic information obtained from the SCoT primers used

آغازگر Primer	توالی Sequene	تعداد باند No. of band	درصد چند شکلی Polymorphism (%)	محتوای چندشکل (PIC)	شاخص نشانگری (MI)	دامنه قطعات Band rang
SCoT1	CAACAATGGCTACCACCA	9	67	32	2.2	250-1500
SCoT20	ACCATGGCTACCACCGCG	12	75	37	5.1	200-1800
SCoT13	ACGACATGGCGACCATCG	8	88	48	3.5	150-1500
SCoT3	CAACAATGGCTACCACCG	8	75	41	3.4	200-1750
SCoT18	ACCATGGCTACCACCGCC	9	67	34	2.3	300-1400
SCoT19	ACCATGGCTACCACCGGC	10	70	36	2.4	150-1200
SCoT22	AACCATGGCTACCACCAC	11	72	55	3.2	200-1700
SCoT27	ACCATGGCTACCACCGTG	9	100	39	1.7	200-1500
SCoT30	CCATGGCTACCACCGCG	14	79	42	4.4	150-1200

SCoT32	CCATGGCTACCACCGCAC	13	85	48	2.1	350-1500
SCoT35	CATGGCTACCACCGGCC	11	81	49	3.3	150-1700

اگرچه گروه‌بندی صورت گرفته با استفاده از شاخص‌های جوانه‌زنی و نشانگر مولکولی همخوانی چندانی را نشان نداد با این حال براساس آزمون مانتل، همبستگی بالایی ($R^2=0.87$) بین دو گروه‌بندی برآورد شد. در همین رابطه Ghorbanzadeh & Afzal (2015) بیان داشتند که استفاده از نشانگرهایی نظیر RAPD که نواحی غیر کد کننده را تکثیر می‌کنند، می‌تواند همبستگی کمی با نشانگرهای مورفولوژیک نشان دهد. Shahverdi et al. (2018) نیز همبستگی پایینی بین اطلاعات نشانگر ISSR و صفات مورفولوژیک در گلرنگ گزارش داده و دلیل این موضوع را تاثیر محیط بر روی صفات مورد بررسی معرفی کردند. در تحقیقی Soltani et al. (2019) نشان دادند که ارتباط معنی‌داری بین گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گلرنگ براساس نشانگرهای مولکولی AFLP و صفات مورفولوژیک و زراعی وجود دارد و از این نتایج برای انتخاب ژنوتیپ‌های مناسب در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمودند. Golkar & Mokhtari (2018) گزارش کردند که نشانگر SCoT در ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گلرنگ از کارایی بالایی برخوردار است و در گروه‌بندی این گیاه براساس ناحیه جغرافیایی موفق است. در مطالعه حاضر با توجه به نتایج به‌دست آمده و ویژگی‌های نشانگر استفاده شده، همبستگی بالای بین شاخص‌های جوانه‌زنی و نشانگر مولکولی را می‌توان به دلیل تکثیر نواحی کد کننده صفات توسط آغازگرهای نشانگر SCoT و تاثیر اندک محیط بر روی پتانسیل ژنتیکی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر دانست.



شکل ۳. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گلرنگ مورد مطالعه با استفاده از نشانگر SCoT

Figure 3. Cluster analysis of studied safflower genotypes using the SCoT marker

مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از نشانگرهای مولکولی ارزان و با کارایی بالا می‌تواند به همراه اطلاعات صفات مورفولوژیک در تشخیص تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گلرنگ بسیار موثر باشد. با استفاده همزمان از اطلاعات مولکولی و داده‌های حاصل از صفات زراعی و مورفولوژیک، کارایی انتخاب و به‌کارگیری والدین مناسب در برنامه‌های اصلاحی را افزایش داده و موفقیت

تلاقی‌ها را افزایش خواهد داد. همچنین نتایج نشان داد که نشانگر SCoT می‌تواند به‌طور موثر نواحی چندشکل ژنوم گلرنگ را شناسایی نماید و مکمل مناسبی با شاخص‌های جوانه‌زنی در مراحل ابتدایی انتخاب ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش شوری باشد. اگرچه تفاوت‌هایی بین نتایج نشانگر مولکولی و شاخص‌های جوانه‌زنی مشاهده شد که این موارد را می‌توان ناشی از برآورد متفاوت این دو تکنیک از تنوع ژنتیکی دانست ضمن اینکه تنوع ژنتیکی در سطح DNA ممکن است منعکس کننده تنوع در سطح مورفولوژیک نباشد. برای رفع این موضوع، استفاده همزمان از گروه‌های مختلف نشانگر مبتنی بر DNA برای پیدا نمودن کاراترین نشانگر با بالاترین همبستگی با صفات مورفولوژیک ضروری است.

نتیجه‌گیری کلی: اگرچه گلرنگ تحمل قابل توجهی به شوری خاک نشان می‌دهد، با این حال تولید ارقامی با تحمل بیشتر ضروری بوده و ارزیابی ژرم‌پلاسم در شرایط شور اهمیت فراوانی دارد. نتایج مطالعه حاضر بین صفت درصد جوانه‌زنی و شاخص تحمل به تنش و همچنین بنیه بذر همبستگی معنی‌داری را نشان داد و مشخص گردید که شاخص تحمل به تنش تحت تاثیر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه است. در مطالعه حاضر ژنوتیپ‌های ۴ و ۷ با تیپ رشد پاییزه بیشترین تحمل را به تنش شوری نشان دادند و از نظر شاخص‌های جوانه‌زنی از سایر ژنوتیپ‌ها کارایی بالاتری داشتند. با توجه به اهمیت تنش شوری و گستردگی آن در کشور، ارزیابی تحمل به شوری ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ به‌منظور شناسایی و انتخاب نمونه‌های مناسب برای اراضی شور از اهمیت بالایی برخوردار بوده تا راه‌حل عملی‌تری برای استفاده مؤثر از خاک‌های متأثر از نمک ارائه شود. بر همین اساس ارزیابی خصوصیات جوانه‌زنی ژنوتیپ‌های گلرنگ و پاسخ آن‌ها به شوری در مطالعات به‌نژادی و استفاده از نشانگرهای مولکولی برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر از اهمیت بالایی برخوردار است.

References

- Ali, U., Shar, T., Ahmad, R., Khatoon, M., Khaskheli, M. A., Laghari, A. H., & Leghari, A. J. (2021). Salinity stress – A threat to rice production: Breeding strategies to develop salinity tolerance in plants. *Mehrgarh Journal of Sciences and Technology*, 1(1), 13-17. <https://doi.org/10.52861/mhjst.2021.1.1.5>
- Almansouri, M., Kinet, J. M., & Lutts, S. (2010). Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil*, 231, 243-254. <https://doi.org/10.1023/A:1010378409663>
- Asgarpanah, J., & Kazemivash, N. (2013). Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 19(2), 153-159. <https://doi.org/10.1007/s11655-013-1354-5>
- Ashrafi, A., & Razmjoo, J. (2015). The effect of seed treatment under salinity and drought stress conditions on safflower seed germination. *Journal of Agriculture (Research and Construction)*, 109, 29-34. <https://doi.org/10.22092/AJ.2015.105671>. [In Persian]

- Awasthi, A. K., Nagaraja, G. M., Naik, G. V., Kanginakudru, S., Thangavelu, K., & Nagaraju, J. (2004). Genetic diversity and relationships in mulberry (*Morus* spp.) as revealed by RAPD and ISSR marker assays. *BMC Genetics*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-5-1>
- Culha, S., & Çakırlar, H. (2011). Effect of salt stress induced by NaCl on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars at early seedling stages. *Journal of Biology and Chemistry*, 39(1), 61-64.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., & Wahid, A. (2006). Priming of field-sown rice seed enhances germination, seedling establishment, allometry and yield. *Plant Growth Regulation*, 49(2-3), 285-294. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9138-y>
- Farsiani, A., & Ghobadi, M. (2009). Effects of PEG and NaCl stress on two cultivars of corn (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stages. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 57, 382-385.
- Ghorashy, S. R., Sionit, N., & Kheradnam, M. (1972). Salt tolerance of safflower varieties (*Carthamus tinctorius* L.) during germination, *Agronomy Journal*, 64, 256.
- Ghorbanzadeh Neghab, M., & Afzal, R. (2015). Evaluation of Genetic diversity of Iranian populations and foreign cultivars of safflower (*Carthamus tinctorios* L.) Using morphological traits and RAPD molecular markers. *Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology)*, 28(1), 94-106. [In Persian]
- Godoy, F., Olivos-Hernández, K., Stange, C., & Handford, M. (2021). Abiotic stress in crop species: improving tolerance by applying plant metabolites. *Plants*, 10, 186. <https://doi.org/10.3390/plants10020186>
- Golkar, P., & Mokhtari, N. (2018). Molecular diversity assessment of a world collection of safflower genotypes by SRAP and SCoT molecular markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24, 1261-1271. <https://doi.org/10.1007/s12298-018-0545-0>
- Hajibarat, Z., Saedi, A., & Talebi, R. (2016). Evaluation of field chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes based on morphological traits and CDDP and SCoT markers. *Journal of Seed and Seed Breeding*, 1(6), 201-214. <https://doi.org/10.22092/SPIJ.2017.111297>. [In Persian].
- Hans-Henning, M., Blackshaw, R. E., Byers, J. R., Huang, H. C., Johnson, D. L., Keon, R., Kubik, J., McKenzie, R., Otto, B., Roth, B., & Stanford, K. (2004). Safflower production on the Canadian prairies. Agriculture and Agri-Food Canada. Lethbridge, Alberta. 43p.
- Hussain, M. I., Lyra D. A., & Farooq M. (2016). Salt and drought stresses in safflower: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(1), 4. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0344-8>

- Kaffka, S. R., Kearney, T. E., Knowles, P. D. & Miller, M. D. (2000). Safflower production in California. Department of Agronomy and Range Science, University of California, Davis. 215P.
- Kaya, M. D., İpek, A., & Öztürk, A. (2003). Effects of different soil salinity levels on germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27(4), 221-227.
- Khayamim, S., Afshari, R., Sadeghian Motahhar, Y., & Poostini, K. (2011). The effect of salinity stress on sugar beet seed germination indices under laboratory and greenhouse conditions. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 13(1), 1-13. [In Persian]
- Laleh, S., Jami-al-Ahmadi, M., Sharifi, Z., & Eslami, V. (2011). The effect of sodium chloride salinity stress using three laboratory methods on germination and growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seedlings. *Iranian Journal of Agricultural Research*, 9(1), 19-27. <https://doi.org/10.22067/GSC.V9I1.10491>
- Marakli, S. (2018). A brief review of molecular markers to analysis medicinally important plants. *Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(1), 29-36. <https://doi.org/10.38001/ijlsb.438133>.
- Mir-Darikand, R., & Samiei, K. (2019). Investigation and comparison of the efficiency of different molecular markers in estimating genetic distance of different populations of Iranian oak (*Quercus brantii* Lindl.) in Lorestan province. *Plant Genetic Research*, 1(7), 33-46. <https://doi.org/10.52547/pgr.7.1.3>. [In Persian].
- Negrao, S., Schmockel, S. M., & Tester, M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of Botany*, 119, 1-11. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw191>
- Panahi, M., Akbari, G., Rustakhiz, J., & Golbashi, M. (2012). The response of safflower genotypes to salinity stress in terms of traits related to germination and early seedling growth. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 1(2), 211-222. [In Persian].
- Purty, R. S., Kumar, G., Singla-Pareek, S. L., & Pareek, A. (2008). Towards salinity tolerance in Brassica: An overview. *Physiology and Molecular Biology Plants*, 14, 39-49. <https://doi.org/10.1007/s12298-008-0004-4>.
- Ranjan, R. G. & Aparajita, S. (2010). Phylogenic study of twelve species of *Phyllanthus* originated from India through molecular for conservation. *American Journal of Plant Science*, 1, 32-37. <https://doi.org/10.4236/ajps.2010.11005>.
- Rao, K., Raghavendra, A., & Reddy, K., (2006). *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance* (pp. 1-14). Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/1-4020-4225-6_1
- Sadeghian, S. Y., & Yavari, N. (2004). Effect of water deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 190, 138-144.

<https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00087.x>.

- Shahvardi, M. S., Mohsenzadeh Golfzani, M., & Samizadeh Lahiji, H. (2018). Investigation of the relationship between morphological and molecular diversity in safflower genotypes. *Journal of Crop Biotechnology*, 11(4), 93-110. [In Persian]
- Siddiqi, E. H., Ashraf, M., & Akram, N. A. (2007). Variation in seed germination and seedling growth in some diverse lines of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under salt stress. *Pakistan Journal of Botany*, 39(6), 1937-1944.
- Soltani, L., Ebrahimi, F., & Mohammadinejad, Q. (2019). Marker correlation and genetic diversity of agronomic traits of safflower (*Carthamus tinctorius*) using AFLP markers. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 12(2), 44-62. <https://doi.org/10.22103/JAB.2020.14197.1139>. [In Persian].
- Thoday-Kennedy, E., Joshi, S., Daetwyler, H. D., Hayden, M., Hudson, D., Spangenberg, G., & Kant, S. (2021). Digital phenotyping to delineate salinity response in safflower genotypes. *Frontiers in Plant Science*, 12, 662498. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.662498>
- Yildiz, M., Poyraz, I., Çavdar, A., Özgen, Y., & Beyaz, R. (2020). Plant responses to salt stress. In *Plant Responses to Salinity Stress*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93920>