وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

نشریه فنی

پیش اصلاحی آفتابگردان

نگارندگان:

مسعود سلطانی نجف آبادی

عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

پریسا همتی

کارشناس بانک ژن گیاهی ملی ایران

این نشریه با شماره ۶۷۴۰۳ در تاریخ ۱۴۰۴/۳/۱ در مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع رسانی کشاورزی به ثبت رسیده است.

موضوعات | صفحه

مقدمه ۱

دلایل پیش اصلاحی ۲

فعالیت‌های مورد استفاده در برنامه‌های پیش‌اصلاحی ۲

ارقام تجاری ۵

جنبه‌های کلیدی پیش اصلاحی ٦

اهداف کلی پیش اصلاحی ۹

مسیر اصلی پیش اصلاحی ۱۱

پیش اصلاحی آفتابگردان ۱٤

پیش اصلاحی برای تحمل به تنش خشکی ۱٤

سازو کار های کلیدی دخیل در تحمل خشکی ۱٤

صفات مورد استفاده در ارزیابی پاسخ گیاهان به تنش خشکی ۱۵

مواد پیش اصلاحی برای تحمل به خشکی ۱۷

الف: توده‌های بومی ۱۷

ب: گونه های وحشی: در اصلاح افتابگردان برای بهبود تحمل به خشکی ۱۷

ج- جمعیت‌های جهش یافته ۲۰

د- لاین‌هایی که در مطالعات موردی دارای مولفه های تحمل به تنش بوده اند ۲۱

ه- لاین‌هایی که برای ژن یا ژن‌های خاصی تراریخته شده اند ۲۲

پیش اصلاحی برای ایجاد تحمل به دماهای پایین ۲۲

اصلاح برای تحمل به دماهای پایین در آخر فصل ۲۳

پیش اصلاحی برای تحمل به دماهای بالا ۲٤

پیش اصلاحی برای تحمل به شوری ۲٦

پیش اصلاحی برای مقاومت و تحمل به بیماری‌ها ۳۷

طبقه بندی سیستم‌های بیمارگر بر حسب نوع مقاومت ٤۱

سفیدک پودری ٤۲

پوسیدگی ذغالی آفتابگردان ٤۳

پوسیدگی ورتیسیلیوم ٤۳

فوماپسیس ٤٤
پوسیدگی سفید ***Sclerotinia sclerotiorum*** **(Lib.) de Bary)**..... ٤٤
زنگ آفتابگردان..... ٤٦
سفیدک کرکی **(Downy mildew)**..... ٤٧
مقاومت به گل جالیز ٥٠
روش نیل به هدف..... ٥١
هرمی کردن ژن‌ها و ساز و کارها ٥٣
سهم هر مولفه در بلوک‌های تلاقی ٥٣
ایجاد جوامع متنوع واجد خصوصیات ارقام برتر موجود به عنوان جمعیت پایه واجد انواع صفات و ژن‌های مفید برای استخراج لاین‌های اینبرد برای شرایط تغییر اقلیم..... ٥٤
گام های ضروری در اصلاح برای تحمل به تنش های محیطی..... ٥٧
منابع ٥٩

مقدمه

اصلاح نباتات به صورت علم و هنر بهبود آرایش ژنتیکی گیاهان برای ایجاد ارقام جدید با ویژگی های مطلوب تعریف می‌شود. این فرایند شامل تغییر و دستکاری ویژگی‌های گیاهی از طریق روش‌های مختلفی مانند انتخاب، دورگه‌سازی، و مهندسی ژنتیک برای بهبود صفات کمی و کیفی مانند عملکرد و خصوصیات زراعی، مقاومت به بیماری‌ها و سازگاری محیطی است.

مفاهم و تعاریف پیش اصلاحی

پیش اصلاحی شامل تمامی فعالیت‌هایی است که هدف آن شناسایی ژن‌های مطلوب از مواد ژنتیکی غیر سازگار[1] و متعاقبا انتقال آنها به یک مجموعه مواد ژنتیکی حدواسطی است که بهنژادگران برای ایجاد ارقام جدید مورد استفاده قرار میدهند (Kumar & Shukla, 2014; Shimelis & Laing, 2012). سینک و همکاران (Singh et al., 2019) خاطر نشان کردند که پیش اصلاحی شامل انواع فعالیت‌های اصلاحی است که بایستی قبل از مراحل ایجاد رقم، آزمون و ارزیابی ارقام و آزادسازی آنها انجام گیرد. در حقیقت پیش اصلاحی ارتباطی امیدبخش بین منابع ژنتیکی و برنامه‌های اصلاحی برقرار می‌کند. مواد حاصل از فعالیت‌های پیش اصلاحی بایستی آنقدر با ارزش باشند که قابلیت الحاق و ورود به برنامه‌های معمولی اصلاحی را داشته باشند. در واقع، هدایت تنوع گسترده و مواد ژنتیکی غیر سازگار به سوی مسیرهای اصلاحی و سازگار از اهداف برنامه‌های پیش اصلاحی است. هاسومن و همکاران (Haussmann et al., 2004) متذکر شدند که اهداف برنامه‌های پیش اصلاحی همانا ایجاد جمعیت‌های پایه جدید برای برنامه‌های اصلاحی از طریق استفاده از مخزن ژنی گسترده‌تر است.

[1] - Un-adapted

دلایل پیش اصلاحی

هرچند فراهم بودن تنوع ژنتیکی کافی تعیین کننده میزان موفقیت هر برنامه اصلاحی است، این تنوع بایستی به سهولت در دسترس به‌نژادگران قرار گیرد. فقدان تنوع باعث محدودیت پیشرفت برنامه‌های اصلاحی می‌شود. جایگزینی واریته‌های متنوع محلی و توده‌های بومی با ارقام مدرن و یکنواخت از نظر ژنتیکی منجر به افزایش فرسایش ژنتیکی شده است (Jain 2019). مواد ژنتیکی موجود در بانک‌های ژن، فراهم کننده بخش قابل توجهی از این تنوع است. پیش اصلاحی به عنوان بخش ضروری برنامه‌های اصلاحی و راهبردهای متنوع سازی و ایجاد تنوع در ژرم پلاسم‌ها است. هدف پیش اصلاحی در واقع کاهش یکنواختی ژنتیکی در گیاهان زراعی از طریق به‌کارگیری مخزن ژنی وسیع تر مواد ژنتیکی برای افزایش عملکرد، مقاومت به آفات و بیماری ها و سایر صفات مرتبط با کیفیت است (Shimelis & Laing, 2012). باریک بودن[2] پایه‌های ژنتیکی، کاهش تنوع زیستی (غلبه کشت و کار ارقام مدرن یکنواخت بر توده‌های بومی)، یکنواختی ژنتیکی- که باعث افزایش فرسایش ژنتیکی برای آفات و بیماری ها، اثرات تغییر اقلیم و ظهور آفات جدید می‌شود- راهبرد پیش اصلاحی را اجتناب ناپذیر نموده است.

زمانی که ژن هدف و مورد نظر به‌نژادگران فقط در نمونه‌های ژنتیکی بانک‌های ژن، گونه‌های وحشی نزدیک و یا گونه‌های وحشی دور یافت شود، پیش اصلاحی ضرورت پیدا می‌کند (Kumar & Shukla, 2014). نمونه‌های ژنتیکی موجود در بانک‌های ژن معمولا فاقد سازگاری با محیط‌های مورد نظر بهنژادگران است. به طور خلاصه، پیش اصلاحی در پاسخ به چهار هدف زیر اجرا می‌شود:

۱- کاهش یکنواختی ژنتیکی در گیاهان زراعی از طریق استفاده از مخزن ژنی وسیع‌تر، ۲- شناسایی صفات/ژن‌های مطلوب و متعاقبا انتقال آنها ، ۳- بهبود پایه‌های والدین ارقام تجاری که می‌توانند به سهولت در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند و ۴- شناسایی ژن‌های بالقوه مفید در بانک‌های اطلاعاتی بانک‌های ژن

فعالیت‌های مورد استفاده در برنامه‌های پیش‌اصلاحی

هر برنامه پیش‌اصلاحی مستلزم داشتن اطلاعات در خصوص مشکلات فراسوی گیاه مورد نظر در سطح تجاری، مواد ژنتیکی در دسترس و خصوصیات آن مواد ژنتیکی است.

مشکلات فراسوی گیاه مورد نظر در سطح تجاری

با افزایش مشکلات ناشی از کاهش آب با کیفیت زراعی، کاهش کیفیت اراضی کشت، تغییر اقلیم و به هم خوردن الگوهای رطوبتی-دمایی، ظهور و طغیان انواع آفات و بیماری‌ها، ارقام موجود زراعی، و به خصوص آنهایی که در کشورهای دیگر تولید و توسعه پیدا کرده‌اند به مرور کارآیی خود در کشور ایران را به لحاظ مولفه‌های عملکردی و کیفیتی از دست می‌دهند. از طرفی استخراج لاین‌های اینبرد از هیبریدهای تجاری، که به آن اصلاح معکوس[3] گفته می‌شود، به مرور منجر به افزایش ضریب خوش آمیزی والدین هیبریدها می‌شود که نتیجه‌ای جز کاهش عملکرد و توان هیبریدها ندارد.

استفاده از سیتوپلاسم‌های فراگیر و یکسان در سیستم‌های تولید هیبرید، خطر همه‌گیری بیماری‌ها و یا آفات را افزایش می‌دهد، در سال‌های ۱۹۶۹ و ۱۹۷۰ بیماری بلایت برگی ذرت ناشی از قارچ *Bipolaris maydis* در نواحی جنوب و مرکزی ایالات متحده

[2] - Narrow genetic base
[3] - Reverse breeding

گسترش یافت. در این هجوم ذرت‌های واجد سیتوپلاسم T شدیدا آسیب دیدند. پس از آن، استفاده از سیتوپلاسم‌های متعدد به جای یک سیتوپلاسم واحد مورد تاکید قرار گرفت(Levings 3rd, 1993). تولید تجاری هیبریدهای آفتابگردان مبتنی بر یک سیستم سیتوپلاسم نرعقیمی(PET1) است. همچنین ژن برگشت دهنده باروری مورد استفاده برای غلبه بر این سیتوپلاسم در سطح تجاری RF1 می‌باشد. بنابراین، استخراج لاین‌های والدین هیبریدها از درون هیبریدهای تجاری خارجی، خطر ایجاد همه‌گیری‌های خطرناک ناشی از شیوع یک آفت یا بیماری را اجتناب ناپذیر می‌نماید.

مواد ژنتیکی در دسترس

از آنجا که هر نوع فعالیت به‌نژادی مبتنی بر وجود تنوع می‌باشد، نخست بایستی تنوع در دسترس و یا قابل ایجاد را بررسی نمود. برای برخی گیاهان تنوع ژنتیکی بالایی در کشور وجود دارد (مانند گلرنگ و کنجد). این تنوع یا بواسطه مرکز پیدایش بودن گونه و یا مرکز تنوع بودن کشور از نظر گونه مورد نظر ایجاد می شود.

انواع ژرم‌پلاسم (خزانه‌ژنتیکی[۴])

برای هر جنس گیاهی، سه نوع ژرم‌پلاسم (خزانه ژنتیکی) تعریف می‌شود:

ژرم‌پلاسم نوع اول: این نوع ژرم‌پلاسم شامل منابع ژنتیکی بومی و وحشی است که به طور طبیعی در یک منطقه خاص وجود دارند و به راحتی با یکدیگر تلاقی می یابند. برای مثال تنوع موجود در ژرم پلاسم گلرنگ زراعی.

ژرم‌پلاسم نوع دوم: شامل گونه‌های نزدیک داخل یک جنس است. این گونه‌ها می‌توانند گونه‌های زراعی و یا وحشی باشند. همچنین مواد ژنتیکی حاصل از جهش‌ها یا تغییرات مصنوعی که ممکن است به‌طور طبیعی در طبیعت وجود نداشته باشند نیز در این دسته قرار می‌گیرند . علاوه برتنوع طبیعی، این مواد ژنتیکی از طریق تکنیک‌های مهندسی ژنتیک یا جهش‌های مصنوعی نیز ایجاد می‌شوند.

ژرم‌پلاسم ثنوع سوم: شامل گونه‌های دورتر ولی خویشاوند مانند جنس‌های مختلف است. گیاهان داخل یک خانواده اغلب در این خزانه ژنی طبقه‌بندی می‌شوند.

ژرم‌پلاسم نوع چهارم: شامل جنس‌ها و گونه‌های غیر خویشاوند، جنس‌هایی از خانواده‌های دیگر و یا سایر موجودات زنده

بسته به نوع هدف و سطح تنوع موجود در کشور برای هر گونه گیاهی، ممکن است یک و یا هر چهار نوع ژرم‌پلاسم در برنامه‌های پیش اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.

ژرم‌پلاسم وحشی[۵]

به مجموعه‌ای از منابع ژنتیکی گیاهان وحشی اشاره دارد که به‌طور طبیعی در محیط‌های مختلف رشد می‌کنند. این نوع ژرم‌پلاسم به دلیل سازگاری‌های خاصی که با شرایط محیطی دارد، بسیار ارزشمند است. این گیاهان ممکن است خویشاوندی

[4] - Gene pool
[5] - Wild Germplasm

نزدیکی با گیاه مورد نظر نداشته باشد، لیکن به دلیل آنکه در رده تکاملی در رده پایینتری قرار دارد، ممکن است واجد ژن‌های مفید برای غلبه بر شرایط نامساعد و غیر زراعی باشند.

- خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی[6]: این‌ها گونه‌های وحشی هستند که از نظر ژنتیکی جزء خویشاوندان گیاهان زراعی بوده اما اهلی نشده‌اند. این گیاهان نقش حیاتی در کشاورزی ایفا می‌کنند و تنوع ژنتیکی را فراهم می‌آورند که می‌توان از آن برای بهبود مقاومت و بهره‌وری محصولات استفاده کرد. گونه‌های وحشی خویشاوند گیاهان زراعی ژن‌های ارزشمندی را ارائه می‌دهند که ممکن است در ارقام زراعی وجود نداشته باشند، از جمله ویژگی‌هایی برای مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها، و همچنین تحمل به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی و شوری(Bohra et al., 2022) .

گونه های وحشی (خویشاوند و غیر خویشاوند) مورد استفاده در برنامه‌های پیش اصلاحی برای تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده به دو گروه تقسیم می‌شوند: گونه‌های متحمل و گونه‌هایی که الزاما متحمل نمی‌باشند ولی دارای برخی مولفه‌های تحمل (صفات مرتبط با تحمل) هستند. گروه اول را گونه وحشی متحمل[7] (TWL) و گروه دوم را گونه وحشی واجد مولفه‌های تحمل[8] (WRTC) می‌نامیم.

توده‌های بومی[9]

توده‌های بومی در گیاهان زراعی در مفهوم اکولوژیک به مجموعه‌ای از گونه‌ها و ارقام گیاهی اطلاق می‌شود که به طور طبیعی در یک منطقه خاص رشد کرده و با شرایط محیطی آن سازگار شده‌اند. این توده‌ها به دلیل ویژگی‌های خاص خود، نقش مهمی در کشاورزی و حفظ تنوع زیستی ایفا می‌کنند. از دیدگاهی دیگر، توده‌های بومی به جمعیت‌های محلی از گیاهان زراعی اطلاق می‌شود که در یک منطقه خاص به طور طبیعی رشد کرده و به شرایط محیطی آن منطقه سازگار شده‌اند. این توده‌ها معمولاً دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند و به طور سنتی توسط کشاورزان محلی پرورش داده می‌شوند. آن‌ها تحت تأثیر انتخاب طبیعی و فرهنگی قرار گرفته‌اند و دارای سازگاری بالایی نسبت به شرایط محیط خود هستند. این مواد ژنتیکی معمولاً در شرایط خاص جغرافیایی و اقلیمی رشد می‌کنند. گاهی به توده‌های بومی، لندریس یا نژاد محلی نیز گفته می‌شود. لندریس‌ها به‌عنوان گونه‌های محلی با تاکید بر روی ویژگی‌های ژنتیکی و تاریخی آن‌ها تعریف می‌شوند. این گونه‌ها معمولاً در نتیجه انتخاب طبیعی و انسانی در یک منطقه خاص توسعه یافته‌اند. بنابراین وجه تمایز لندریس‌ها با توده‌های بومی دخالت انسان در اهلی‌سازی لندریس‌ها است. نژاهای محلی در محلی که مورد جمع‌آوری قرار گرفته‌اند مدت‌ها به‌عنوان رقم زراعی بومی مورد کشت و کار قرار می‌گرفته اند. بنابراین، علاوه بر این‌که واجد تنوع ژنتیکی بالا هستند و به‌طور خاص برای سازگاری با شرایط محلی اصلاح شده‌اند، معمولاً در سیستم‌های کشاورزی سنتی حفظ می‌شوند و می‌توانند گزینه‌های مناسبی برای شرایط تغییرات اقلیم باشند(Villa et al., 2005) .

توده‌های بومی و لندریس‌ها ممکن است متحمل به تنش‌های مورد نظر[10] (TLR) و یا واجد مولفه‌ها (صفات مرتبط با تحمل) باشند که آنها را توده‌های بومی دارای مولفه‌های تحمل[11] (LRTC) می‌نامیم.

---

6 - Crop Wild Relatives
7 - Tolerant Wild Relative
8 - Wild Relatives with Tolerant Components
9 - Landraces
10 - Tolerant Landrace
11 - Landraces with Tolerance Components

تفاوت‌های توده بومی و لندریس (نژاد محلی)

۱. مفهوم: توده‌های بومی بیشتر بر روی جمعیت‌های محلی تأکید دارند، در حالی که لندریس‌ها بر ویژگی‌های تاریخی و ژنتیکی تمرکز دارند.

۲. محیط پرورش: توده‌های بومی ممکن است در شرایط خاص جغرافیایی رشد کنند، در حالی که لندریس‌ها به طور خاص برای سازگاری با شرایط محلی توسعه یافته‌اند.

۳. انتخاب: توده‌های بومی ممکن است تحت تأثیر انتخاب طبیعی یا انسانی قرار گیرند، اما لندریس‌ها بیشتر نتیجه انتخاب انسانی هستند که به منظور حفظ ویژگی‌های خاص آن‌ها انجام می‌شود.

مواد خارجی[۱۲] : در موضوع پیش اصلاحی، مواد خارجی شامل هر نوع ژرم پلاسمی است که هیچ استفاده مستقیم و بلافصلی بدون انتخاب برای سازگاری ندارند (Hallauer et al., 2010; Holland, 2004). به عبارتی، ارقام گیاهی غیرسازگار با محیط هدف مورد نظر به‌نژادگر و یا لاین‌های خالصی که تشکیل دهنده جوامع آزاد گرده افشان هستند، جوامع آزاد گرده افشان وارداتی تا قبل از ارزیابی برای سازگاری جزء این گونه مواد طبقه‌بندی می‌شوند.

ارقام تجاری

این ارقام معمولاً از طریق به‌نژادی علمی و مدرن ایجاد می‌شوند و هدف اصلی آن‌ها ارائه ویژگی‌های مطلوب مانند عملکرد بالا، مقاومت در برابر بیماری‌ها و سازگاری با شرایط محیطی است. هیبریدهای آذرگل، فرخ، قاسم و شمس نمونه‌هایی از ارقام تجاری آفتابگردان می‌باشند که توسط موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر به ترتیب با تمرکز خاص برای صفات عملکرد بالا، زودرسی، پاکوتاهی و تحمل نسبی به خشکی با انجام فرآیند های بهنژادی و بهره گیری از فن آوری نرعقیمی ژنتیکی-سیتوپلاسمی اصلاح و معرفی گردیده‌اند. همه این ارقام ضمن دارا بودن سازگاری بالا (خصوصی و یا عمومی) به شرایط محیطی کشور ایران، مقاوم به نژاد رایج سفیدک داخلی آفتابگردان هستند.

ویژگی‌های ارقام تجاری

این ارقام از طریق به‌نژادی که شامل انتخاب و اصلاح گیاهان برای دستیابی به ویژگی‌های خاص می‌باش حاصل می‌شوند. آزمون‌های تمایز و یکنواختی: برای معرفی ارقام جدید، انجام آزمون‌های تمایز، یکنواختی و پایداری (DUS) الزامی است تا اطمینان حاصل شود که این ارقام از ارقام موجود متمایز هستند.

لاین‌های حاصل از جهش

جهش‌های القایی می‌توانند باعث بروز صفات جدید از طریق فعال سازی ژن‌هایی که در طی تکامل غیر فعال شده‌اند گردد. این ژن‌ها را ژن‌های کادب[۱۳] می‌نامند. در طی تکامل موجودات زنده، هرگاه که تظاهر ژن یا ژن‌هایی برای بیولوژی موجود زنده مفید فایده

[12] - Exotic materials
[13] - Pseudogenes

نباشد، از طریق سازو کارهای اپی‌ژنتیکی و یا ساز و کارهای ژنتیکی، بروز آن ژن (ها) متوقف می‌گردد. در برخی ژن‌ها، با ایجاد کدون خاتمه زود هنگام[۱۴] ترجمه‌ای از توالی ژن کامل انجام نشده و لذا ژن عملا خاموش می‌شود. جهش‌های القایی می‌توانند با تغییر این کدون‌های خاتمه، بیان ژن را مجددا آغاز نمایند.

لاین‌های که از طریق مهندسی ژنتیک ایجاد شده اند

ژن و یا کاست‌های ژنی شامل چندین ژن را می‌توان به گیاهان مدل و یا گیاهان زراعی منتقل نمود. هر چند اغلب این ژن‌ها در گیاهان مدل پس از انتقال دارای بیان خوب و حتی هدایت شده‌ای هستند، اغلب بیان آنها باعث ایجاد فنوتیپ‌های مربوط به صفات کمی نمی‌شوند. تحمل به تنش‌ها صفتی کمی بوده و توسط همکاری و اثرات متقابل تعداد زیادی ژن ومداخله محیط کنترل می‌شود.

پیش اصلاحی یک فعالیت راهبردی کشاورزی با هدف گسترش ارقام گیاهان زراعی از طریق الحاق صفات مطلوب از خویشاوندان وحشی و یا مواد گیاهی سازش نیافته و نامناسب زراعی به داخل لاین‌های اصلاحی مناسب و مشابه ارقام مدرن می‌باشد. این فعالیت‌ها برای توسعه پایه ژنتیکی گیاهان زراعی ضروری است. گسترش پایه ژنتیگی گیاهان باعث افزایش تاب‌آوری[۱۵] در مقابل بیماری‌ها، آفات و تنش‌های محیطی می‌شود.

جنبه‌های کلیدی پیش اصلاحی

فعالیت‌های پیش اصلاحی از چندین جنبه مورد توجه قرار می‌گیرند که اهم آنها به شرح زیر هستند (Abebe & Tafa, 2021):

جداسازی صفات مطلوب

از اهداف پیش اصلاحی، شناسایی و جداسازی صفات ژنتیکی ویژه مانند مقاومت به بیماری‌ها یا تحمل به تنش خشکی از خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی و وارد کردن آنها به لاین‌های اصلاحی برتر موجود می‌باشد.

تنوع ژنتیکی

پیش اصلاحی از طریق بازیافت تنوع ژنتیکی از دست رفته و بهره‌گیری از خویشاوندان وحشی به غلبه بر محدودیت‌های ناشی از پایه باریک ژنتیکی بسیاری از گیاهان زراعی کمک می‌کند. این موضوعی بسیار حایز اهمیت در مواجهه و ایجاد سازگاری با چالش‌های در حال ظهور در عرصه کشاورزی و اطمینان از حصول امنیت غذایی است.

همکاری‌ها و ظرفیت‌سازی

برنامه‌های پیش‌اصلاحی اغلب با ایجاد همکاری بین چندین موسسه تحقیقاتی، دانشگاهی و مشارکت‌های بخش کشاورزی در سراسر جهان شکل می‌گیرد. این مشارکت‌ها باعث سهولت مبادله دانش و منابع ژنتیکی برای ایجاد مواد پیش اصلاحی جدید می‌شود.

[14] - Pre-mature stop codon
[15] - Resilience

روش های مورد استفاده

رویه‌های پیش اصلاحی می‌توانند از تلاقی‌های راهبردی، انتخاب به کمک نشانگر و سایر روش های نوین اصلاحی برای اطمینان از الحاق موفقیت‌آمیز صفت مورد نظر به پایه‌های جدید بدون حضور ژن‌های نامطلوب بهره‌مند شوند. در این رهگذر، ممکن است ناچار از به کارگیری تکنیک‌هایی مانند نجات جنین و دابل هاپلوییدی شویم.

به دلیل محدودیت روش‌های معمول در مواجهه با انواع تلاقی‌های دور و نیز تنوع بالا، و نیاز به ردیابی تغییرات در نتاج، انواع روش‌های مرسوم کارآمد و نیز روش‌های نوین در برنامه‌های پیش‌اصلاحی به کار می‌رود. روش‌هایی متکی بر بیوتکنولوژی، مانند نشانگرهای مولکولی برای شناسایی نشانگرهای پیوسته با صفات مطلوب، کاربرد گامت‌کش‌ها[۱۶] و سیستم‌های نرعقیمی سیتوپلاسمی از جمله این روش‌ها هستند (Acquaah, 2009; Lusser et al., 2012). همچنین روش‌های نجات جنین و استفاده از تکنیک میکرواینجکشن[۱۷] و دابل‌هاپلوییدی برای انجام هیریدهای بین گونه‌های دور از جمله روش‌هایی اصلاحی جدید است که در برخی برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

لاسر و همکاران (۲۰۱۲) تکنیک‌هایی مانند نوکلئازهای انگشت روی (ZFN[18])، جهش‌زایی هدایت شده توسط الیگونوکلئوتید (ODM[19])، cis -genesis and intra-genesis، متیلاسیون دی ان ای مبتنی بر آر ان ای (RdDM[20]) و ژنومیکس ساختگی synthetic genomics[۲۱] که مسیرهای به‌نژادی را تسهیل نموده‌اند مورد بررسی قرار داده اند (Lusser et al., 2012). اخیرا از تکنولوژی ویرایش ژنومی برای اصلاح و بهبود توده های محلی استفاده شده است(Lazaridi et al., 2024) .

اینتروگرشن [۲۲]صفات جدید

این فعالیت شامل انتقال یک یا چند ژن مطلوب از یک ژرم‌پلاسم غیر مرتبط، مرتبط، خارجی[۲۳]، یا نیمه خارجی[۲۴]، رقم محلی به یک واریته حدواسط با پتانسیل خوب زراعی فاقد یک صفت مطلوب خاص است (Simmonds, 1993; Suarez-Gonzalez et al., 2018). در خلال اینتروگرشن مقادیر قابل توجهی از صفات خوب و نامطلوب با هم به نتاج منتقل می‌شوند که لازم است صفات نامطلوب از طریق تلاقی‌های برگشتی متعدد و انتخاب حذف شوند (Stam, 2003).

ایجاد پلی‌پلوییدی

پلی پلویید موجوداتی هستند که بیش از دو سری کامل از هر کروموزوم دارند (Madlung, 2013). از طریق تغییر تعداد کروموزوم‌ها در یک گونه، یا با تغییر تعداد سری کروموزوم پایه یا اضافه و یا کم کردن کروموزوم(های) خاصی می‌توان ایجاد تنوع جدید نمود. برای ایجاد افراد با تعداد متفاوت سری کروموزومی (یوپلویدی) یا تعداد کروموزوم‌های فرد مورد نظر را دو برابر می‌کنند و یا گونه‌های غیر خویشاوند را با هم تلاقی می‌دهند و و آنگاه کروموزوم‌های هیبرید بین گونه‌ای حاصل را دو برابر می‌نمایند. به روش‌های مختلف

16 - Gametocides
17 - Micro-injection
18 - Zinc finger nuclease
19 - Oligonucleotide directed mutagenesis
20 - RNA dependent DNA methylation
21 - Synthetic genomics
22 - Introgerssion
23 - Exotic
24 - Semi-exotic

می‌توان ایجاد پلی‌پلویدی مصنوعی نمود مانند شوک‌های محیطی (دماهای بالا و پایین، تابش اشعه ایکس) یا به کمک مواد شیمیایی (مانند کلشی‌سین) که تقسیم نرمال کروموزوم‌ها را مختل می‌نماید (Acquaah, 2009). افزایش تعداد آلل‌های یک ژن در یک موجود پلی‌پلویید امکان پوشانده شدن موتاسیون‌های مغلوب مضر را افزایش داده و بنابراین اثر کاهش شایستگی ناشی از پلی‌پلوییدی را کم می‌کند (Gu et al., 2003).

بیرچلر و همکاران بیان داشت که امکان مشاهده هتروزیس در پلی‌پلوییدها وجود دارد که باعث بروز تفکیک متجاوز[۲۵] در نتاج نسبت به گونه‌های منشا می‌شود (Birchler et al., 2010). همچنین پلی‌پلوییدها دارای قدرت توسعه نیچ اکولوژیکی[۲۶] یا افزایش انعطاف پذیری در پاسخ فرد به تغییرات محیطی می‌شود (Adams & Wendel, 2005; Lynch & Walsh, 2007)

تلاقی‌های دور[۲۷]

تلاقی‌های دور شامل تلاقی دو فرد متعلق به گونه‌های مختلف است که معمولا یکی از والدین یک گونه وحشی است. از این نوع تلاقی‌ها معمولا برای گسترش مخزن ژنی گیاهان زراعی استفاده می‌شود، این نوع تلاقی‌ها بویژه برای انتقال ژن‌های مقاوم به تنش‌های زنده و یا غیر زنده به‌کار می‌رود (Jain, 2019). معرفی صفات جدید به زمینه ژنتیکی ارقام برتر موجود هدف اصلی برنامه‌های تلاقی‌های باز است. این نوع تلاقی‌ها برای انتقال ژن مقاومت به بلایت سیب زمینی، مقاومت به زنگ در گندم و مقاومت به آفات در برنج به طور موفقیت‌آمیزی مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

25 - Transgressive segregation
26 - Ecological niche
27 - Wide crosses

اهداف کلی پیش اصلاحی

اهداف فعالیت‌های پیش اصلاحی بر حسب گیاه زراعی مورد نظر متفاوت است. چنانچه گیاه زراعی مورد نظر دارای تنوع کافی در کشور بوده و ایران برای آن گیاه به عنوان مرکز پیدایش و یا مرکز تنوع باشد، انتخاب از توده‌های محلی و تهیه لاین‌های خالص و پیشرفته بدون نیاز به استفاده از روش‌های ایجاد تنوع مانند جهش و تلاقی‌های بین گونه‌ای، مسیر پیش اصلاحی برای این گیاهان را فراهم می‌نماید. در این خصوص علاوه بر روش‌های مرسوم انتخاب از درون توده‌های بومی، استفاده از روش‌های نوین مانند ویرایش ژنومی و ژنی راهکار موثری برای اصلاح در جهت اهداف مورد نظر است. مثال بارز این گونه گیاهان جو، نخود، یونجه، گلرنگ و کنجد است. چنانچه گیاهان مورد نظر دارای گونه‌های با سطوح پلوییدی متنوع باشد و فرم زراعی فعلی آن خود گیاهی پلی‌پلویید (آلوپلوئید و یا اتوپلوئید) باشد، ایجاد فرم‌های ساختگی[۲۸] می‌تواند راهکاری خارق‌العاده برای پیش اصلاحی و اصلاح فراسوی محققین قرار دهد. گندم مثال بارز گیاه بومی با سطح پلوییدی متنوع است. ایجاد فرم‌های متنوع با سطوح پلوییدی متفاوت را تکامل پلی‌پلوئیدی می‌نامند.

زمانی که پایه ژنتیکی گیاهی باریک باشد، و به عبارتی سطح تنوع آن در کشور کم باشد، از تمامی امکانات در دسترس برای ایجاد تنوع و سپس انتخاب استفاده می شود. اینتروگرسیون یکی از اجزای متداول در پیش اصلاحی این گونه گیاهان است. همچنین از تکامل پلی‌پلویئدی برای ایجاد و بهره‌برداری از تنوع برای گونه‌های گیاهی پلی پلوئیدی می‌توان بهره برداری نمود. کلزا نمونه بارز گیاه غیر بومی با پایه ژنتیکی باریک و آلوتترا پلوئید است.

فعالیت‌های اصلاحی معطوف به استفاده از تنوع موجود در بین لاین‌ها و یا ارقام برتر موجود برای برطرف نمودن نقیصه‌های ارقام و یا لاین‌های اصلاحی است. اما فعالیت‌های پیش اصلاحی به‌منظور استفاده از تمامی تنوع موجود در انواع ژرم‌پلاسم گیاهان زراعی برای انتقال ژن‌ها، صفات و یا ساز و کارهای بیولوژیک و آماده نمودن جمعیت‌های متنوع واجد ژن‌های مطلوب برای وارد شدن به چرخه‌های اصلاحی، ایجاد لاین‌های اینبرد به‌عنوان والدین هیبریدها و یا لاین‌های دارای صفات مطلوب و نزدیک به لاین های زراعی می‌باشد.

- **افزایش تنوع ژنتیکی**

فعالیت‌های پیش‌اصلاحی از طریق معرفی ژن‌هایی از خویشاوندان وحشی و توده‌های بومی، که می‌توانند تاب‌آوری در برابر بیماری‌ها، آفات و تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری را بهبود بخشند، به گسترش پایه ژنتیکی محصولات کشاورزی کمک می‌کنند.

- **توسعه مواد واسطه[۲۹]**

محصولات نهایی پیش‌اصلاحی، لاین‌های اصلاحی حد واسط یا ژرم‌پلاسم‌هایی هستند که ویژگی‌های مطلوب را در خود دارند. این مواد به عنوان پایه‌ای برای تلاش‌های بیشتر در زمینه اصلاح نباتات که هدف آن توسعه ارقام جدید است، عمل می‌کنند.

- **ایجاد جوامع با پایه ژنتیکی قوی و متنوع**

[28] - Synthetic
[29] - Intermediate

محصول نهایی پیش اصلاحی می تواند مخازن ژنی متنوع حامل انواع صفات برای سناریوهای مختلف باشد.

- **شناسایی صفات مطلوب**

پیش‌اصلاحی بر روی جداسازی ویژگی‌های خاص، مانند مقاومت در برابر بیماری یا تحمل به تنش‌های غیرزیستی و یا وجود ژن‌های خاص مانند ژن‌های برگشت دهنده باروری از مواد غیرسازگار تمرکز دارد. این فرآیند به به‌نژادگران این امکان را می‌دهد که ویژگی‌هایی که ممکن است در ارقام زراعی موجود وجود نداشته باشد را مورد هدف قرار دهند.

- **تسهیل برنامه‌های اصلاح نباتات**

با ارائه مواد آماده به استفاده با ویژگی‌های خاص، پیش‌اصلاحی به عنوان پلی بین منابع ژنتیکی و برنامه‌های اصلاح نباتات رسمی عمل می‌کند. این امر باعث افزایش کارایی تلاش‌های اصلاحی می‌شود و اطمینان حاصل می‌کند که به‌نژادگران به مواد ژنتیکی متنوع دسترسی دارند.

- **افزایش پتانسیل عملکرد**

پیش‌اصلاحی به ایجاد ارقام پر محصول کمک می‌کند با ادغام ویژگی‌های مفید از زمینه‌های ژنتیکی متنوع در مواد سازگار، و به این ترتیب عملکرد کلی محصول را بهبود می‌بخشد. همچنین با توجه به اینکه لاین‌های حاصله از مواد متنوع و با زمینه های ژنتیکی بعضا دور حاصل می شوند، وقوع هتروزیس بالاتر محتمل تر است.

لیو و همکاران (۲۰۲۰) خاطر نشان کردند که به‌نژادگران گیاهی بایستی دسترسی مداوم به تنوعات ژنتیکی برای ایجاد واریته‌های گیاهان زراعی سازگار با اقلیم در حال تغییر داشته باشند (Liu et al., 2020). بنابراین، نیاز به تجزیه و تحلیل تنوع یا تعیین خصوصیات و حفاظت ارقام محلی برای بهره‌گیری در اصلاح نباتات در آینده وجود دارد.

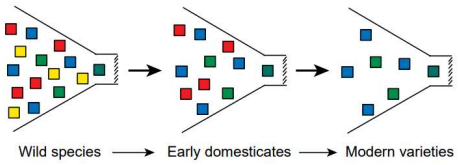
- **پایداری سیستم های کشاورزی**

با افزایش تنوع ژنتیکی و کاهش یکنواختی ژنتیکی در محصولات کشاورزی، پیش‌اصلاحی نقش حیاتی در شیوه‌های کشاورزی پایدار ایفا می‌کند و به کاهش ریسک‌های مرتبط با تغییرات اقلیمی و جمعیت‌های در حال تکامل آفات کمک می‌کند.

مسیر اصلی پیش اصلاحی

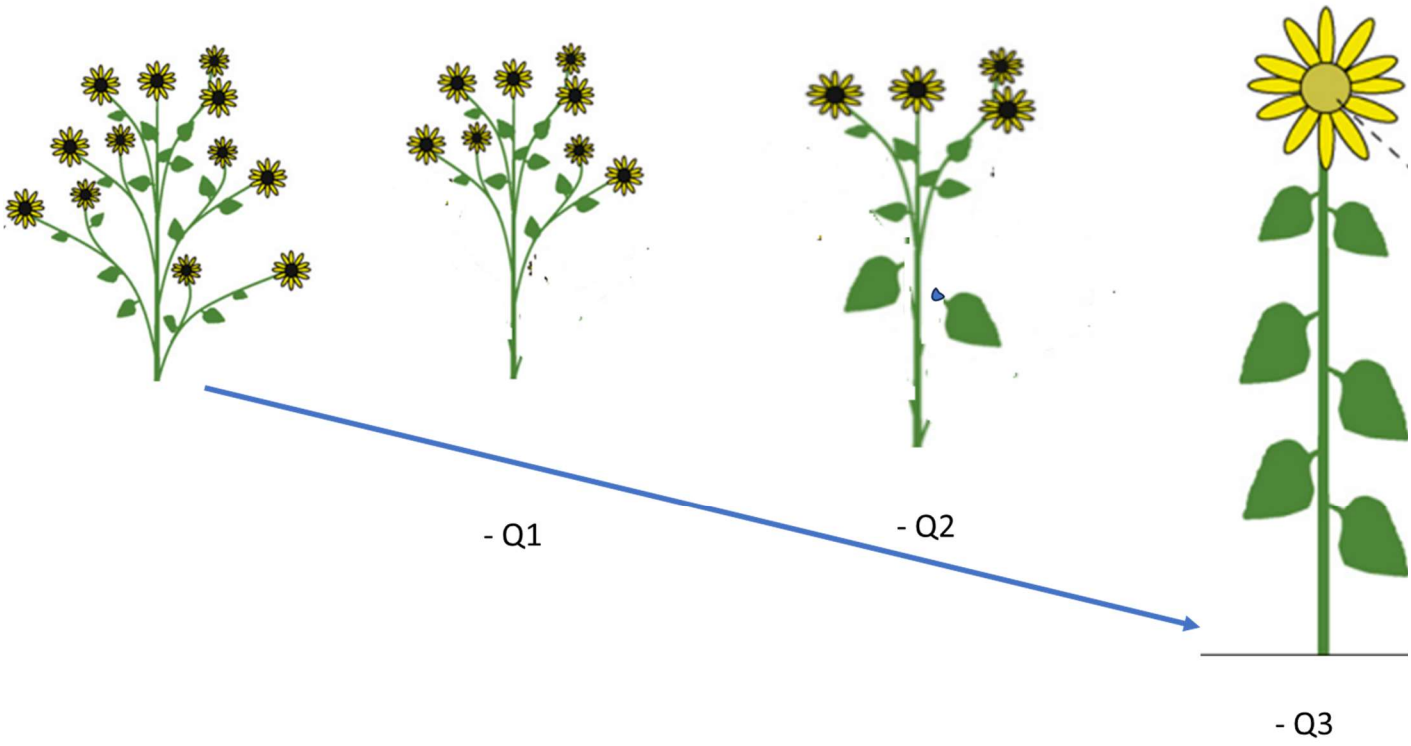
پیش اصلاحی در واقع نوعی تکامل معکوس محسوب می‌شود. تفکیک هایی که در طی تکامل از ریشه های اصلی درختچه حیات انجام شده و منجر به ایجاد انواع جنس، گونه، زیر گونه و بعدا بواسطه دخالت انسان انواع ارقام شده است، در فعالیت‌های پیش‌اصلاحی تا حدی معکوس می‌شود. به عبارتی گاهی اوقات برای تجمیع صفاتی که در طی تکامل در قالب انواع گونه ها تفکیک و جدا شده‌اند، حرکت در خلاف جهت تکامل صورت می‌گیرد.

تکامل و گونه‌زایی دو فرایند مستمر در طی زمان هستند. در طی تکامل، هرگاه که گیاهان برای مدتی طولانی در شرایط نامساعد قرار گرفته‌اند، پاسخ‌های گوناگونی را برای ایجاد سازش به شرایط نامساعد بروز می‌دهند که پس از مدتی و رسیدن به حالت تعادل و تعامل با محیط، حالت پلاستیک پیدا کرده و به عنوان ساز و کار تحمل از آنها یاد می شود. در طی گونه‌زایی ، انشقاق گونه‌ها و اهلی‌سازی توسط انسان (شکل ۱)، اجزای ایجاد کننده تحمل دچار تفرقه شده و هر جزء و گروه اجزا در یک پیش زمینه ژنتیکی پراکنده می‌شود. بنابراین، تعداد زیاد ژن به صورت ارتولوگ در طی تکامل در بین جنس‌ها و گونه‌های مختلف توزیع شده است و هر سری از آنها بخشی از ساز و کار تحمل را ایجاد می‌کنند. که بازیافت مجدد این سازوکارها، مسلزم بازترکیب این اجزا م باشد. بازترکیبی در واقع حرکت در خلاف مسیر تکامل است.



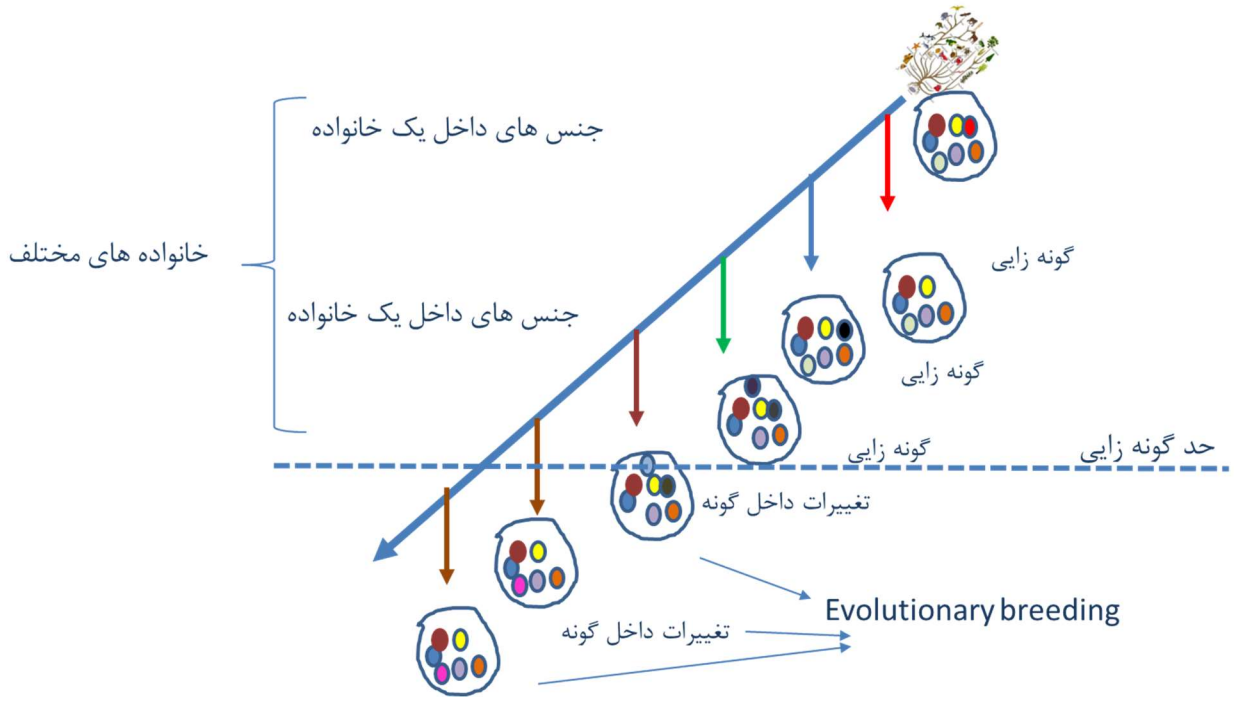
شکل ۱. گلوگاه‌های موجود طی اهلی‌سازی گیاهان زراعی و ایجاد ارقام مدرن اصلاحی. مربع‌های رنگی نشان دهنده تنوع آللی ژن‌های با منشاء وحشی است که به تدریج طی فرایند اهلی‌سازی و اصلاح مفقود گردیده‌اند. این آلل‌های گمشده می‌توانند فقط از طریق برگشت به اجداد وحشی گیاهان زراعی فعلی بازیافت شوند (Tanksley & McCouch, 1997).

اهلی سازی گیاهان فرایندی است که طی آن گیاهان وحشی از طریق انتخاب مصنوعی (و نه طبیعی) به گیاهان زراعی تکامل پیدا می‌کنند. کشاورزی در واقع با فراهم نمودن احتیاجات اکولوژیک گیاهان زراعی نظیر فراهم کردن آب کافی، مبارزه با آفات و بیماری‌ها شرایط مناسب خاک از نظر شور نبودن و فراهمی عناصر معدنی (کود ها) توسعه یافت. طی اهلی‌سازی، اقوام محلی، گیاهانی که دارای مطلوبیت بوده‌اند را کشت و توسعه داده‌اند. اهلی‌سازی و کشاورزی منجر به از دست رفتن صفاتی شده است که گیاهان را در شرایط سخت یاری می‌دهند. از این رو گیاهان غیر اهلی، همواره بایستی بخشی از انرژی خود را صرف بر غلبه با شرایط سخت و نامطلوب (تنش‌ها) نمایند. در عوض در کشاورزی، با فراهم نمودن شرایط مطلوب، انرژی که گیاه بایستی صرف غلبه بر شرایط دشوار نماید، به تولید اختصاص می‌یابد و به همین دلیل گیاهان اهلی شده و کشت شده در نظام های کشاورزی دارای عملکرد بالاتر و از سوی دیگر تامین نیازهای کمکی هستند (شکل ۲).



شکل ۲. سیر اهلی سازی گیاه آفتابگردان. در طی اهلی‌سازی آفتابگردان، از آفتابگردان های چندشاخه، به آفتابگردان‌های تک‌شاخه رسیده‌ایم. به مرور تعداد طبق‌ها کم و اندازه آنها افزایش یافته است. همچنین تعداد برگ‌ها کمتر و اندازه آنها بزرگ‌تر شده است. آرایش برگ از حالت نامنظم در فرم‌های وحشی به متناوب در فرم زراعی رسیده است. در هر مرحله اهلی سازی، وقتی گیاه از سیستم متنوع وحشی به سیستم فشرده زراعی منتقل می‌شود، بخشی از سیتم بافری که بواسطه هتروژن بودن جوامع مانع حمله گستره بیماری‌ها به بوته‌ها می شوند از بین رفته و بایستی با صرف انرژی، مانند تیمار با آفت‌کش، علف‌کش و یا قارچ‌کش سیستم را پایدار نمود. علایم Q هر مرحله از کاهش این سیستم بافری را نشان می‌دهند.

اصلاح گیاهان برای شرایط سخت، خشکی، شوری، گرما، سرما و بیماری ها، مستلزم تجمیع اجزای تحمل در یک جمعیت و سپس استخراج لاین‌های اینبرد برای ایجاد و توسعه ارقام متحمل است. از آنجا که در طی تکامل و اهلی‌سازی تعداد زیادی از ژن‌ها غیر فعال شده و یا انتخاب در جهت حفظ آنها انجام نشده است، ایجاد تحمل مستلزم فراهم آوردن اجزای و مولفه‌های تحمل در کنار یکدیگر می‌باشد. این تجمیع از طریق تلاقی‌های مختلف صورت می‌گیرد. چنانچه از خویشاوندان وحشی، گونه‌های وحشی و یا مواد جهش یافته در ترکیب تلاقی‌ها استفاده گردد، حرکتی در خلاف جهت تکامل انجام گرفته است. بدیهی است که تداوم حرکت معکوس در خلاف شیب تکامل و اهلی‌سازی تا جایی مثمر ثمر خواهد بود که مواد ژنتیکی حاصله قابلیت تولید غذا از منظر کشاورز را داشته باشد. حرکت زیاد در خلاف شیب تکامل منجر به ایجاد موجوداتی با مقاومت محیطی بالا می شود اما از نظر اقتصاد کشاورزی فاقد ارزش هستند. بنابراین، بایستی حد و مرزی در جهت تکامل معکوس قایل شویم.



شکل ۳. مسیر تکاملی گونه‌زایی. از بالا به پایین در طی زمان در اثر نوترکیبی‌هایی که در داخل ساختار ژنوم و نیز جمعیت صورت می‌گیرد و نیز تغییرات شرایط محیطی، گونه‌های جدید ایجاد می‌شوند. با ثابت ماندن شرایط محیطی (از خط مقطع افقی به پایین)، احتمال ایجاد گونه جدید کاهش یافته و بیشتر تغییرات درون گونه‌ای اتفاق می‌افتد. در برنامه‌های پیش اصلاحی از تنوع درون گونه‌ای بهره‌های فراوانی برده می‌شود. این بهره‌گیری از طریق تلاقی‌های بین گونه‌ای انجام می‌شود. مشارکت مواد ژنتیکی بالاتر از خط افقی، مستلزم تلاقی بین جنس‌های نزدیک (متعلق به یک خانواده) بوده که اغلب دارای صفات بسیار متفاوت با گونه مورد نظر هستند و تلاقی با آنها منجر به ورود صفات نامطلوب و ناخواسته زیادی می‌شود.

پیش اصلاحی آفتابگردان

آفتابگردان گیاهی بومی ایران نبوده و دارای تنوع ژرم پلاسم کمی در ایران است بنابراین تمامی ارقام هیرید و آزاد گرده افشان آفتابگردان در ایران وارداتی هستند. همین امر موجب کاهش روز افزون پایه ژنتیکی آفتابگردان در ایران شده است. تمامی فعالیت های اصلاحی آفتابگردان در ایران مبتنی بر استخراج لاین های اینبرد از طریق خود گشنی هیبرید های تجاری خارجی، روش تهیه همزمان لاین نر عقیم و نگه دارنده و در نهایت استخراج لاین های اینبرد از جوامع آزاد گرده افشان است. برنامه های پیش اصلاحی در آفتابگردان بطور عمده برای اهداف ایجاد تحمل به تنش های محیطی نظیر خشکی، شوری، دماهای بالا و پایین و نیز تنش‌های زیستی، نظیر بیماری‌ها و گل جالیز انجام می‌گیرد که در ادامه به شرح آن خواهیم پرداخت.

پیش اصلاحی برای تحمل به تنش خشکی

تحمل به تنش خشکی صفتی پیچیده با دخالت تعداد زیادی مکانیسم است که از سطح مولکولی و سلولی تا سطح کل گیاه و از لحظه های اولیه درک تنش تا زمان های طولانی بعد از بروز تنش بروز می نماید(Takahashi et al., 2020) . مولفه های مختلفی در بروز تحمل به تنش خشکی در گیاهان گزارش شده اند که از آن جمله می توان به تنظیم پتانسیل اسمزی، حذف و روبش[۳۰] رادیکال های آزاد، مدیریت روزنه، مدیریت رشد و توسعه ریشه، تشکیل نوار کاسپارین در اندودرم و هیپودرم، ساخت مواد حفاظت کننده اسمزی پایدار و تشکیل لایه مومی بر روی پهنک برگ، گسترش سیستم ریشه، توزیع روزنه ها در دو سطح برگ و قرار گیری روزنه ها درون غارها در پشت برگ اشاره نمود.

سازو کار های کلیدی دخیل در تحمل خشکی

۱- یا تنظیم اسمزی[۳۱]: تجمع مواد محلول سازگار با بیولوژی سلول مانند پرولین، قندها، پلی‌اول‌ها[۳۲]، ترکیبات آمونیومی چهار ظرفیتی مانند گلایسین بتایین و ترکیباتی نظیر تره‌هالوزها که باعث حفظ فشار تورژسانس سلول در طی فرایند اب‌کشیدگی می‌شود (Oliver et al., 2010) را تنظیم اسمزی می‌نامند. گلایسین بتایین ماده‌ای است که باعث ثبات ساختار پروتیئن‌ها و نیز ثبات فتوسیستم II در دستگاه فتوسنتزی شده و نیز در تنظیم اسمزی نقش دارد (Yeo, 1998). این ترکیبات فشار اسمزی داخل سلول را نسبت به خارج سلول کاهش داده و موجبات حفظ آب سلولی حتی در شرایط کمبود آب در محیط سلولی می‌شود.

۲- تنظیم روزنه‌ها: در طی تنش اسمزی، گیاهان اغلب روزنه‌های خود را می‌بندند. این فرایند توسط عمل هورمون اسید ابسیزیک کنترل می‌شود که پیام کمبود آب را به سلول‌های محافظ روزنه ارسال می‌کند(Fang & Xiong, 2015; Liu et al., 2019).

۳- سیستم دفاع آنتی اکسیدانی

گیاهان برای مقابله با شرایط تنش، اقدام به افزایش تنفس می‌نمایند تا انرژی کافی در دسترس گیاه قرار گیرد (تنفس نگه‌داری). این امر باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد شده که به نوبه خود ساختار سلولی، DNA و اندامک های

30 - Scavenging
31 - Osmotic adjustment
32 - Polyoles

واجد غشا را تخریب می‌نماید. سیستم انتی اکسدانی شامل سیستم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی است که باعث حذف و روبش رادیکال‌های آزاد می‌شود. این سیستم در سلول‌های تنش دیده فعال می‌شود. سیستم‌های آنزیمی شامل آنزیم‌های سوپر اکسید دیسمیوتاز، کاتالاز، اسکوربات پروکسیدار و سیستم‌های غیر آنزیمی شامل اسید اسکوربیک، گلوتاتیون، توکوفرول‌ها، کارتنوییدها، فلاوونوییدها، پرولین و گلایسین بتائی است(Yeo, 1998).

۴- حفظ پایداری غشاء: در شرایط تنش، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابند که موجب تخریب ساختار های غشایی می‌شوند. عمل سیستم آنتی اکسیدانی در واقع در راستای روبش این رادیکال‌ها و در نتیجه حفظ پایداری غشاء است. پایداری غشاء از جمله صفاتی است که در غربالگری گیاهان مختلف به‌عنوان یک مولفه تحمل به انواع تنش‌ها، از جمله تنش اسمزی و تنش سرما مورد استفاده قرار گرفته است (Feeney & Berman, 1976; Najafabadi, 2008) .

۵- ساخت پروتین‌های دخیل در حفاظت در شرایط آب کشیدگی

چندین گروه پروتئینی از سلولهای گیاهی و آنزیم‌های حیاتی در شرایط آب کشیدگی محافظت می‌نمایند:

الف- پروتین‌های LEA[33] (Hincha & Thalhammer, 2012) :این پروتین‌ها نقش اثبات شده‌ای در حفظ و ثبات ساختارهای سلولی و سایر پروتین‌ها ایفا می‌نمایند.

ب- دهیدرین‌ها: زیر مجموعه‌ای از پروتین‌های LEA هستند که در شرایط آبکشیدگی تجمع پیدا می‌کنند و باعث پایداری غشاء و حفاظت در برابر آب‌کشیدگی می‌شوند(Yang et al., 2021) .

ج- آنزیم های آنتی شامل آنزیم‌های اکسیدو-ردوکتاز[34] مانند گروه کاتالازها[35]، پلی فنل اکسیدازها[36]، پراکسیدازها[37] نام برد. عمل این آنزیم‌ها، روبش[38] رادیکال‌های آزاد[39] هستند که در شرایط تنش‌های زیستی به وفور تولید می شوند و بیولوژی سلول را تهدید می‌نمایند.

د- پروتین‌های تنظیم کننده: این پروتیئن‌ها شامل فسفاتاز ها، کیناز ها و عامل رو نویسی هستند که نقش تنظیم کننده در فعالیت مولکول های زیستی و نیز بیان ژن ها دارند.

صفات مورد استفاده در ارزیابی پاسخ گیاهان به تنش خشکی

صفاتی که معمولا در ارزیابی‌های تحمل به خشکی مورد استفاده قرار می گیرند بسته به مرحله رشدی گیاه، متفاوت هستند. برخی صفات در همه مراحل قابل ارزیابی و دارای مفهوم مرتبط با پاسخ تحملی گیاه هستند و برخی دیگر برای مرحله خاصی از نمو قابل سنجش هستند.

[33] -Late embryogenesis abundant
[34] -Oxido-reductaces
[35] -Catalases
[36]- Poly-phenol oxidases
[37] - Peroxisades
[38] - Scavenging
[39] - Free radicals

مرحله گیاهچه

وزن ریشه‌های جانبی و سطحی، تعداد ریشه‌های جانبی، نسبت ریشه به ساقه(Rauf, 2008) و درصد بازیافت[40] بوته‌ها بعد از اعمال تنش از جمله صفاتی هستند که برای ارزیابی تحمل به تنش خشکی در آفتابگردان توصیه شده است(Rauf & Sadaqat, 2008) . ابتدایی ترین روش ارزیابی تحمل به خشکی، زنده‌مانی نمونه‌های مورد ارزیابی در شرایط قطع اب رسانی و تعیین زمانی است که نمونه‌ها زنده می‌مانند و یا تعیین درصد زنده‌مانی بعد از یک زمان فرضی (مثلا دو هفته) در شرایط تنش است(Soltani, 2012) . همچنین می‌توان از زمان رسیدن گیاهچه‌ها به نقطه پرمردگی دایم تا زمانی که گیاه زنده‌مانی دارد را نیز به‌عنوان معیاری برای تحمل در نظر گرفت. شرایط اجرای آزمایش و سنجس تحمل نیز مهم است. چنانچه تعداد افراد بعد از اعمال تنش مورد شمارش و سنجش قرار گیرد، برای ارزیابی صحیح، بایستی تعداد افراد زنده مانده نسبت به تعداد افراد قبل از اعمال تیمار تنش تصحیح گردد. این موضوع به خصوص برای نمونه های ژنتیکی بانک ژن که بعضا از نظر قوه نامیه با مشکل مواجه هستند مصداق پیدا می‌کند (Levitt, 1980).

مرحله گیاه کامل

علاوه بر سنجش زنده مانی و زنده‌مانی در شرایط تنش، صفات دیگری نیز وجوددارند که در مرحله گیاه کامل برای سنجش پاسخ تحملی گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرند که در زیر توضیح داده می‌شوند:

شاخص برداشت:

بر اساس مطالعات بالدینی و ونوزی (۱۹۹۸)، ژنوتیپ‌های متحمل آفتابگردان به تنش خشکی دارای پایداری شاخص برداشت و حتی پایداری این شاخص تحت شرایط تنش خشکی می‌باشند(Baldini & Vannozzi, 1998) . موضوع جالب توجه وجود وراثت‌پذیری خصوصی بالا برای این صفت است که کارآیی انتخاب را افزایش می‌دهد(Alza & Fernandez-Martinez, 1997) . همچنین ارتباط قوی بین تنظیم اسمزی و شاخص برداشت توسط محققین گزارش شده است(Rauf et al., 2008)

روابط آب برگ

صفات زیر برای غربالگری گیاهان تحت شرایط تنش خشکی مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرند: محتوی نسبی آب[41] (RWC)، پتانسیل آب برگ[42] (LWP)، فشار تورژسانس[43] ، پتانسیل اسمزی[44] و هدایت روزنه‌ای(Rauf, 2008) [45]. مهمترین صفت در این بین محتوی نسبی آب است(Sinclair & Ludlow, 1985) . مطالعات متعدد در آفتابگردان حاکی از این است که پرولین اسمولیت مهمی در شرایط تنش خشکی است. نشان داده شده که محتوی پرولین در برگ‌های جوان آفتابگردان در پاسخ به تنش خشکی افزایش می‌یابد Badr)

[40] - Recovery
[41] - Relative water content
[42] - Leaf water potential
[43] - Turgor pressure
[44] - Osmotic potential
[45] - Stomatal conductance

et al., 2004; Cechin et al., 2006; Terbea et al., 1995). سرعت از دست رفتن آب برگ[46] (رابطه۱) صفت دیگری است که در غربالگری برای تحمل به خشکی مورد استفاده قرار گرفته است(Hussain et al., 2019) :

$$ELWC = \frac{FM-L6}{FM-DM} \times 100$$ رابطه ۱

کهELWC دلالت بر سرعت از دست رفتن آب برگ، FM، وزن برگ تازه، L6 وزن برگ بعد از ۶ ساعت جدا شدن از بونه و DM وزن خشک برگ است. این شاخص بدون واحد بوده و نشان دهنده قابلیت برگ در نگه داری آب برگ است مقدار آبی است که از کل موجودی آب برگ در مدت زمان ۶ ساعت از برگ هدر می‌رود. مقادیر کمتر این شاخص معیاری از وجود ساز و کار های فیزیولوژیک نظیر وجود اسمولیت ها برای محبوس کردن آب داخل برگ و کاهش تبخیر از آن و نیز وجود موانع فیزیکی سد راه تیخیر مانند کوتیکول واکسی است.

برای تخمین ELWC از شیوه زیر استفاده می شود:

نخست برگ مورد نظر (معمولا شماره برگ یکسان در همه زنوتیپ های مورد ارزیابی) از بوته جداشده، با ترازو وزن تر آن اندازه‌گیری خواهد شد. سپس وزن تر برگ در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۶ ساعت انکوباته اندازه گیری می شود. پس از آن وزن خشک برگ به کمک اون تعیین و با استفاده از رابطه ۱، معیاری از قدرت نگه داری آب در برگ حاصل می‌شود.

مواد پیش اصلاحی برای تحمل به خشکی

الف: توده‌های بومی

منشاء پیدایش و تنوع آفتابگردان آمریکای مرکزی است. در ایران آفتابگردان به دو صورت آجیلی و روغنی کشت می‌شود. انواع آجیلی برای سالیان مختلف در مناطق گوناگون کشت و توسط کشاورزان بومی مورد انتخاب قرار گرفته که منجر به شکل گیری لندریس‌هایی شده است، لیکن برای آفتابگردان روغنی توده بومی وجود ندارد. اصلاح آفتابگردان در ایران مبتنی بر اصلاح معکوس و استخراج لاین‌های اینبرد از هیبریدی‌های تجاری بوده است، هرچند تلاش‌هایی برای استخراج لاین‌های اینبرد از داخل جوامع آزاد گرده‌افشان انجام گرفته ، هنوز رقم هیبریدی که منشاء والدین آن از این جوامع باشد ایجاد نشده است. از سوی دیگر، به‌واسطه سالیان متمادی اصلاح جوامع آزاد گردهافشان موجود در ایران، تنوع این جوامع کاهش یافته است. عدم پیوستن ایران به UPOV نیز مانع از ورود جوامع آزاد گرده افشان شده است. این عوامل منجر به باریک شدن پایه ژنتیکی آفتابگردان روغنی در کشور شده است. بنابراین، نیاز به اجرای برنامه پیش‌اصلاحی با حضور مواد ژنتیکی متنوع بیش از پیش احساس می‌شود.

ب: گونه های وحشی: در اصلاح افتابگردان برای بهبود تحمل به خشکی

در خلال انتخاب برای تولید گیاهان با عملکرد بالا، به‌نژادگران به طور ناخواسته صفات مرتبط با ساز وکارهای زنده‌مانی گیاه به خشکی را که در خویشاوندان وحشی آنها وجود دارند حذف نموده‌اند. آفتابگردان‌های وحشی معمولاً در زیستگاه‌های خشک و شنی رشد می‌کنند. برای مثال *H. anomalus*، *H. niveus* ssp. *tephrodes* و *H. niveus* ssp. *niveus* (شکل ۴) در مناطق حاوی تپه‌های شنی رشد می‌کنند؛ *H. neglectus* در مناطق عمیق شنی و *H. petiolaris* ssp. *canescens*، *H. deserticola* و *H. petiolaris* ssp. *fallax* در محیط‌های بیابانی رشد می‌کنند. همچنین، یک اکوتیپ سازگار با تپه‌های شنی در زیر گونه *H. petiolaris* ssp. *fallax* شناخته شده است (Andrew et al., 2013). خشکی یک ویژگی غیرزیستی پیچیده است و تعریف ویژگی‌ها و پارامترهای اندازه‌گیری

[46] - Excise leaf water content

مناسب دشوار است (Škorić, 2016). بخشی از این دشواری به دلیل این است که گونه‌های مختلف آفتابگردان وحشی از راهبردهای زنده‌مانی متفاوتی استفاده می‌کنند (به عنوان مثال (Rosenthal et al., 2010).

مطالعه خویشاوندان وحشی فرصت شناسایی ساز و کارهای زنده‌مانی در گونه‌های ساکن بیابان را فراهم می‌نماید. برای مثال مطالعه‌ای که توسط باوشر و همکاران (۲۰۱۶) روی *Helianthus niveus* (Benth.) Brandegee ssp. *tephrodes* (A. Gray) انجام شده است اطلاعات ذی‌قیمتی در خصوص این ساز و کارها فراهم نموده است (Bowsher et al., 2016) . این گونه بومی تپه‌های الگودون در کالیفرنیا، بخشی از بیابان سونوران است.

شکل ۴. *Helianthus anomalus*، (راست) و *Helianthus niveus* (Benth.) Brandegee ssp. *tephrodes* (چپ) گونه‌های وحشی با قابلیت رشد در شن‌زارها

Helianthus anomalus به‌عنوان گونه‌ای متحمل خشکی شناخته شده است، دانه‌های این گونه در مقایسه با همه گونه‌های وحشی بزرگتر بوده و پتانسیل نسبتا بالایی از نظر درصد روغن دانه دارد. (Seiler, 2007)، و بنابراین کاندیدای مناسبی برای اصلاح آفتابگردان‌های زراعی برای تحمل به خشکی است (Nabhan & Reichhardt, 1983; Seiler et al., 2006).

H. argophyllus به‌طور گسترده‌ای توسط به‌نژادگران برای اصلاح تحمل به خشکی مورد استفاده قرار گرفته است (Baldani et al., 1993; Baldini & Vannozzi, 1998; Baldini & Vannozzi, 1999); لاین‌های حاصل از هیبریداسیون بین گونه‌ای آفتابگردان زراعی با *H. argophyllus*. که برای صفات گونه وحشی انتخاب شده بودند، کارایی مصرف آب بالاتر، شاخص حساسیت به خشکی بهتر و شاخص برداشت بالاتری تحت شرایط خشکی داشتند (Baldini & Vannozzi, 1998; Martin et al., 1992). برگ‌های گونه *H. argophyllus* دارای پرزهای نقره ای رنگ (شکل ۵) و واکس کوتیکولی ضخیم بوده که منجر به بازتاب تابش های خورشیدی شده و لذا تحمل از نوع اجتناب را ایجاد می‌کند. همچنین این خصوصیات باعث افزایش تحمل به گرما نیز می‌شود. برگ‌های این گونه

کوچک هستند. برگ‌های کوچکتر به سبب داشتن لایه مرزی محکم‌تر، دارای تعرق کوتیکولی کمتر هستند. انتقال این صفت در تلاقی‌ها با گونه‌های زراعی مشاهده شده است.

ایجاد لاین‌های متحمل به خشکی از طریق تلاقی بین گونه‌ای- مطالعه موردی

تلاقی بین گونه‌ای دو لاین برتر موجود آفتابگردان با گونه زراعی *H. argoplyllus* و سپس خود گشنی تا شش نسل برای ایجاد لاین‌های متحمل به خشکی انجام شده است (Hussain et al., 2019).

در این شیوه، به منظور انجام تلاقی بین گونه‌ای، دو ردیف اول گلچه‌های لوله‌ای گونه زراعی با پنس اخته گردید و باقی اجزای طبق به سمت مرکز طبق تخلیه شدند. گرده از گونه وحشی در صبح‌گاهان جمع آوری و صبح روز بعد به روی کلاله گل‌های اخته شده منتقل گردید. پس از آن طبق‌ها به منظور ممانعت از ورود گرده‌های ناخواسته بر روی همین کلاله‌ها با کیسه‌های شفاف سوراخدار مخصوص خودگشتی پوشیده شدند. بذور تشکیل شده از روی طبق‌ها (بذور F_1) برداشت شده و برای کشت بعدی آماده شدند.

شکل ۵ . تصاویر گونه *Helianthus argophyllus* وجود کرک‌های نقره‌ای روی برگ‌های این گونه مشهود است.

بوته‌های F_1 همگی چندشاخه و دارای برگ‌های کوچکتر نسبت به والد زراعی بودند و همچنین ویژگی نقره‌ای بودن سطح برگ را نشان دادند. بوته‌های F_1 پس از گلدهی خودگشن شده و ایجاد بذور F_2 نمودند.

انتخاب تک بوته‌های F_2 بر مبنای وجود تک طبق، قطر طبق، باروری بالا، اندازه برگ کوچکتر نسبت به والدین الیت و وجود رنگ نقره‌ای کانوپی در زمان شروع گرده افشانی انجام گرفت. نسل F_3 با پوشاندن طبق تک بوته های F_2 ایجاد گردید. معیار انتخاب در نسل F_3، زودرسی، وجود تک طبق در بوته و وجود کانوپی نقره‌ای رنگ بود. بوته‌های انتخاب شده F3 خود گشن شده و بذر آنها برداشت شد. در نسل F_4 انتخاب بر مبنای قطر طبق بزرگتر، زودرسی، اندازه برگ کوچکتر از والدین زراعی، درصد روغن بالاتر، سرعت

کمتر از دست رفتن آب برگ و کانوپی نقره‌ای انتخاب صورت گرفت. نتاج انتخابی خود گشن شدند تا نسل F_5به‌دست آید. انتخاب در این نسل مشابه انتخاب نسل F_4 بود و بوته‌های این نسل خودگشن شدند تا نسل F_6به دست آید.

لاین‌های امید بخش (F_6) حاصل از تلاقی بین‌گونه‌ای که واجد صفات مرتبط با تحمل به خشکی مانند کانوپی نقره‌ای و کوتیکول مومی زیاد و برگ کوچک و در عین حال دارای قطر طبق زیاد بودند با دو والد زراعی اولیه به عنوان تستر تلاقی داده شدند. با توجه به اینکه لاین‌های امید بخش حاصل از تلاقی بین گونه ای دیر گل‌تر بودند، تسترها زودتر (۱۴ روز زودتر) کشت شدند.

نتاج حاصل از تلاقی لاین در تستر در مزرعه تحت دو تیمار آبیاری کامل و کم آبیاری کشت شدند و صفات زیر در زمان شروع گرده افشانی ثبت و مورد تجزیه قرار گرفت:

روز تا گل دهی، زمان رسیدن ۵۰ درصد بوته‌های هر خانواده به مرحله R1، کوتیکول مومی (۵ گیاه در هر خانواده در هر تکرار) توسط گاز کروماتوگرافی، رنگ کانوپی نقره ای (کانوپی به صورت سبز یا نقره ای به صورت چشمی درجه بندی شدند)، سطح برگ توسط دستگاه سنجش سطح برگ، سرعت از دست رفتن آب برگ (ELWC) (رابطه ۱)

صفات زیر در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک ثبت شد:

قطر طبق، وزن هزار دانه در حالت رطوبت بذر ۱۲ درصد، وزن خشک دانه در هر طبق، درصد روغن دانه.

نتایج این برنامه اصلاحی، ایجاد چهار لاین امیدبخش متحمل به خشکی حاصل از اینتروگرشن بود. از این بین، یک لاین (با نام D-22) بواسطه داشتن ظرفیت بالای تولید دانه، قطر طبق بزرگتر، زودرسی و تحمل به خشکی (دارای کانوپی نقره ای، محتوی بالای واکس کوتیکولی، کرکهای متراکم و سرعت کمتر از دست دادن آب برگ) انتخاب گردید که برای برنامه‌های تولید تجاری هیبرید آفتابگردان به کار خواهد رفت.

ج- جمعیت‌های جهش یافته

با توجه به تنوع پایین آفتابگردان در ایران، ایجاد تنوع از روش های غیر از تلاقی های بین گونه ای مثمر ثمر است.

جمعیت جهش یافته را می‌توان برای اهداف پیش اصلاحی به چند صورت مدیریت نمود:

۱- غربال جمعیت برای تحمل به نش شدید خشکی:

رویه‌های زیر برای غربال این نوع جوامع توصیه می‌شود:

الف: اعمال شدید تنش و انتخاب افراد زنده‌مانده. این افراد تشکیل دهنده بلوک تلاقی خواهند بود. این افراد احتمالا دچار جهش در عوامل رو نویسی و ژن‌های تنظیم کننده شده‌اند که تغییر بیان آنها باعث راه افتادن بیان و یا سرکوب آبشاری از ژن‌ها گردیده که پاسخ تحملی را سبب شده است(Najafabadi, 2008) . در این نوع غربالگری بوته‌هایی که دیرتر پژمرده و یا لبه‌های برگ آنها لوله‌ای می‌شود نیز انتخاب خواهد شد (Yavas et al., 2024). بررسی موروفولوژیک- بیوشیمایی و مولکولی بوته‌های زنده‌مانده کمک به درک مکانیسم مولکولی دخیل در پاسخ می‌نماید و در نسل‌های بعدی، امکان ردیابی تحمل را تسهیل می‌نماید. بوته‌هایی که سریعتر پژمرده شده و لیکن در آبیاری بازیافت، به خوبی رشد و نمو نمایند دارای قدرت خوبی برای مدیریت تنش هستند و انتخاب خواهند شد (Yavas et al., 2024). افزایش نسبت وزن به سطح برگ‌ها (ایجاد برگ‌های ضخیم‌تر)، پاسخی تحملی در شرایط کم آبی است. گاهی ممکن است فنوتیپ جدیدی بروز نماید مانند تشکیل کرک‌های غیر غده‌ای سطح برگ که باعث بازتابش نور خوشید شده و

تعرق را کاهش می‌دهند (Chen et al., 2022). همچنین تشکیل لایه مومی بر روی سطح برگ مانع تعرق کوتیکولی می‌شود و منجر به حفظ آب بوته در شرایط آب کم در خاک می‌شود.

ب: آبیاری مجدد مزرعه بعد از آنکه بیش از ۹۰ درصد مزرعه دچار پژمردگی شدند و انتخاب بوته‌هایی که قدرت بازیافت دارند، محقق را در شناسایی انواع متحمل به تنش از طریق سیستم‌های محافظت کننده‌ی سلولی یاری می‌نماید.

۲- اعمال تنش با شدت ملایم تا کم برای شناسایی افرادی که دارای مولفه‌هایی از تحمل هستند و لیکن کاملا متحمل نیستند. در این جوامع، بررسی صفاتی مانند سطح برگ کوچکتر، وجود آنتوسیانین روی دمبرگ و یا ساقه، برگ‌های عمودی‌تر، برگ‌های تیره‌تر انجام می‌گیرد و این بوته‌ها کاندیدای ورود به بلوک‌های تلاقی هستند. هرچه زاویه دمبرگ با ساقه کمتر باشد، برگ‌ها کمتر گرم شده و بنابراین با درجه گشادگی رونه[۴۷] یکسان، آب کمتری هدر می‌رود. برگ‌های کوچکتر و مواج، دارای لایه مرزی قوی‌تر و لذا شیب تبادلات آب آنها با اتمسفر کمتر است، بدون انکه اثری بر تبادلات دی‌اکسید کربن گذاشته شود. همچنین برگ‌های بزرگتر نور بیشتری جذب می‌نمایند و در نتیجه زودتر و بیشتر از برگ‌های کوچکتر گرم می‌شوند که نتیجه بلافصل آن تعرق بیشتر است (Yavas et al., 2024). همچنین با ابزاری هایی نظیر Green Seeker می‌توان با سرعت بالاتری اقدام به غربالگری نمود. سنجش دمای کانوپی یکی از ابزارهای موثر در انتخاب بوته‌هایی با جنبه هایی از تحمل است. بوته‌هایی که دمای برگ کمتری دارند و در عین حال پژمردگی نشان نمی‌دهند دارای قابلیت توسعه بیشتر ریشه برای جذب بیشتر آب از خاک هستند.

معمولا افراد منتخب از هر یک از دو رویه فوق (M1) را یک نسل خودگشن می‌نمایند تا افراد M2 حاصل شوند. غربالگری مجدد در نسل M2 با درنظر گرفتن صفات فوق انجام می‌گیرد.

د- لاین‌هایی که در مطالعات موردی دارای مولفه های تحمل به تنش بوده اند

تحقیقات مبتنی بر تجزیه مقایسه‌ای لاین‌های مختلف تحت شرایط تنش خشکی و شرایط نرمال می‌تواند به‌نژاد گران را در انتخاب مواد ژتیکی متحمل با عملکرد بالا و وارد نمودن آنها در بلوک‌های تلاقی کمک نماید (منصوری و نجف‌آبادی، ۱۴۰۰). همچنین انجام مطالعات بیومتریک بر روی داده های جمع آوری شده روی مواد ژنتیکی در دو شرایط تنش خشکی و نرمال امکان شناسایی مواد ژنتیکی متحمل به خشکی را فراهم می‌نماید (Mansouri et al., 2014).

از طریق ردیابی مطالعات دانشجویی، دانشگاهی و پروژه‌های تحقیقاتی موردی روی مواد ژنتیکی موجود در کشور می‌توان مواد ژنتیکی کاندیدای واجد تحمل یا مولفه‌ای از تحمل را شناسایی نمود. برای مثال میان‌لنگه و همکاران با اعمال تنش اسمتیک روی لاین اینبرد آفتابگردان AF81-112 دریافتند که این لاین حساس به این تنش است. همچنین این محققین دریافتند که برخی عوامل رو نویسی از خانواده bZIP با پاسخ حساسیت به تنش اسمزی در ارتباط است (Mianlengeh et al., 2018). بنابراین، در هنگام انتخاب مواد ژنتیکی گیاهی برای بلوک‌های تلاقی و ردیابی در نسل‌های بعدی، می‌توان سطح بیان اعضایی از این خانواده ژنی را اندازه گیری و مورد توجه قرار داد. همچنین سلطانی و همکاران (۱۴۰۲) با بررسی چند لاین اینبرد آفتابگردان، رابطه معنی‌داری بین پایداری غشاء و قابلیت پرشدن دانه در دماهای پایین گزارش نمود. از انجا که ارتباط فیزیولوژیکی بالایی بین سازو و کار های تحمل به

[47] - Stomatal aperture

خشکی و سرما وجود دارد (Kim et al., 2024) به احتمال زیاد می‌توان از لاین‌های کاندیدای تحمل به دماهای پایین در آخر فصل برای ورود به برنامه پیش اصلاحی آفتابگردان برای تحمل به خشکی نیز استفاده نمود.

ه- لاین‌هایی که برای ژن یا ژن‌های خاصی تراریخته شده اند

اگرچه بیش بیانی ژن‌های خاصی از آفتابگردان در گونه‌های گیاهی دیگر منجر به افزایش تحمل به برخی تنش‌ها شده است. برای مثال، بیش بیانی عامل رونویسی *HaHB11* از خانواده Homeodomain-leucine zipper (HD-Zip) در آرابیدوپسیس و یونجه باعث ایجاد سطوحی از تحمل به شوری و خشکی گردید (Cabello et al., 2017). بیش بیانی عامل رونویسی Hahb-4 در آفتابگردان باعث تحمل به آبکشیدگی گردیده است (Manavella et al., 2006).

مطالعات مختلفی در خصوص شناسایی ژن‌های کلیدی[۴۸] پاسخ تحملی به تنش های مختلف در گیاهان مختلف انجام شده است (Yu et al., 2020; Zhou et al., 2023). درصورت انتقال ژن از منشاء دیگر و یا بیش بیانی ژن‌های خود موجود در آفتابگردان، که سبب تحمل به تنش‌ها می‌شوند، امکان استفاده از این لاین‌های تراریخته در برنامه‌های پیش اصلاحی تحمل به تنش‌های محیطی در آفتابگردان وجود خواهد داشت. این موضوع به جهت باریک بودن پایه ژنتیکی آفتابگردان در ایران می‌تواند حائز اهمیت باشد. مزیت این روش نسبت به استفاده از ژرم‌پلاسم وحشی، عدم انتقال صفات نامطلوب گونه‌های وحشی به زمینه ژنتیکی زراعی است. اما با توجه به ماهیت پیچیده و چند ژنی تحمل به تنش خشکی، احتمال حصول نتاج متحمل به تنش خشکی در تلاقی های بین گونه ای بسیار بیشتر از مهندسی ژنتیک است.

پس از شناسایی روش های غربالگری برای شناسایی و انتخاب مواد ژنتیکی آفتابگردان متحمل به خشکی، جهت ورود به مراحل پیش اصلاحی، بایستی بسته به هدف پروژه پیش اصلاحی، اقدام به ترکیب بهینه مواد ژنتیکی متحمل نمود که در مبحث روش تیل به هدف مورد تشریح قرار خواهد گرفت.

پیش اصلاحی برای ایجاد تحمل به دماهای پایین

موضوع تحمل دماهای پایین در کشت زود هنگام بهاره، برای استفاده بیشتر از نزولات جوی اول فصل، دارای اهمیت است. گیاهانی که در شرایط طبیعی در محیط‌های پر تنش (سرد و یا خشک) زودتر از سایر گیاهان شروع به رشد نمایند احتمالا تحمل به دمای پایین در مرحله جوانه‌زنی دارند. گیاهان دارای ساز و کارهای القایی تحمل هستند که تنها در شرایط بروز تنش، فعال می‌شوند.

سنجش پایداری غشاء، سنجش فتوسنتز، محتوی کلروفیل و فلورسنس آن از روش های متداول سنجش تحمل آفتابگردان به دماهای پایین است (Allinne et al., 2009). محتوی کلروفیل با SPAD-502 سنجیده می شود (Gutierrez et al., 2016). سنجش محتوی هیدروکربن بافت رویشی (Guy, 1990) که از طریق سنجش تنظیم اسمزی برآورد می‌شود یکی از روش‌های مشهور سنجش تحمل به سرما است (Saadatmand et al., 2024; Soualiou et al., 2022) .این پارامتر شاخصی از وجود مواد تنظیم کننده اسمزی است که باعث تغلیظ شیره سلولی می‌شود. در دماهای پایین فعالیت آب آپوپلاستی کم شده و تمایل به خروج آب درون سلولی به سمت

[48] - Hub genes

آپوپلاست وجود دارد. غلیظ‌تر بودن شیره سلولی ضمن کاهش پتانسیل اسمزی و ممانعت از خروج آب، باعث کاهش فعالیت آب در داخل سلول شده و بنابراین شیب خروج آب از سلول را از بین می‌رود.

گونه چند ساله ,*Helianthus maximiliani* تحمل بالایی به دماهای پایین و حتی یخزدگی دارد(Tetreault et al., 2016). نمونه‌هایی از آفتابگردان وحشی گونه *H. annuus* که از مناطق آرژانتین، ,Adolfo Alsina (AAL),Colonia Barón (BAR) Barrow (BRW) Diamante (DIA),Las Malvinas (LMA), and Rio Cuarto (RCU) آرژانتین و Indiana (IN) , Illinois (IL) آمریکا و جمع‌آوری شده بود صفات تحمل به یخزدگی و همچنین دماهای بالا را نشان دادند(Hernández et al., 2020).

در استفاده از گونه‌های وحشی به‌عنوان منبع تحمل به تنش‌ها بایستی توجه ویژه به محل جمع‌آوری نمونه ژنتیکی مورد استفاده نمود. برای مثال همه نمونه‌های ژنتیکی *H. maximiliani* (شکل ۶) دارای تحمل به دماهای بالا و یا یخزدگی نمی‌باشند (Hernández et al., 2020).

شکل ۶ .تصاویری از گونه چند ساله *H. maximiliani*

اصلاح برای تحمل به دماهای پایین در آخر فصل

کشت آفتابگردان در اواخر خرداد و یا اوایل تیر ماه را کشت دوم می‌نامند. اینگونه کشت‌ها در مناطق معتدل تا سرد باعث مواجه شدن مراحل انتهایی رشد گیاه، یعنی پرشدن دانه شده و می‌تواند افت عملکرد را به دنبال داشته باشد.

دماهای پایین از طریق کاهش سرعت فتوسنتز و نقل و انتقالات مواد اسیمیلاتی ممکن است باعث کاهش عملکرد شود. دماهای پایین از طریق کاهش فعالیت آب، باعث بروز علایم تنش کم آبی نیز می‌شوند. همچنین در برخی گونه‌های زراعی، مواجه شدن با دماهای پایین ممکن است از طریق اختلال در گرده افشانی، نقصان عملکرد را به دنبال داشته باشند. مولفه‌های مهم دخیل در پاسخ تحملی گیاهان به دماهای پایین شامل پایداری غشاء، (Gutierrez et al., 2016؛ سلطانی و همکاران، ۱۴۰۲) محتوای کلروفیل، تنظیم اسمزی، روبش رادیکال‌های آزاد، تنظیم متابولیسم و ایجاد انرژی، افزایش سطح بیان آنزیم‌های دخیل در انتقال مواد اسیمیلاتی

به دانه‌ها و یا منابع حد واسط[۴۹] می‌باشد. سعادتمند و همکاران (؟) از شاخص پایداری غشاء برای سنجش تحمل به دماهای پایین در آخر فصل استفاده نمودند و این شاخص را معیاری مناسب برای انتخاب لاین‌های آفتابگردان متحمل به دماهای پایین آخر فصل معرفی کردند. سلطانی (۱۴۰۳) در بررسی چند لاین اینبرد آفتابگردان در شرایطی که پر شدن دانه با دماهای ۱۵ درجه مواجه می‌شود به نقش آنزیم اینورتاز در کف طبق برای برقراری جریان شیره پرورده به سوی منبع اشاره نمود

مشاهدات حاکی مصادف بودن رشد زایشی گونه *H. tuberous* (شکل ۷) در پاییز در شرایط سرد کرج است (شکل). بنابراین وجود ساز و کار تحمل به دماهای پایین در این گونه محتمل است. تلاقی *H. tuberous* به عنوان والد پدری با گونه زراعی به عنوان والد مادری موفقیت آمیز بود و منجر به تولید نتاج با ویژگی‌های سطح برگ کوچک، رنگ سبز تیره بوته، تعداد گل زیاد با اندازه کوچک، تیپ پرشاخه و تشکیل ژوخه در زیر خاک، به عنوان شاخصی از والد پدری(*H. tuberosus*) شد (منصوری و سلطانی، ۱۳۸۵). این گونه دارای 2n=6X=102 است ولی تلاقی‌های موفقیت آمیزی بین این گونه و گونه زراعی مشاهده شده است. هیبرید بین گونه‌ای تتراپلوییدبا تعداد ۶۸ کروموزوم است (Kantar et al., 2014). با این حال، تغییرات در اندازه ژنوم برخی نتایج این تلاقی ها مشاهده شده است (Kantar et al., 2014).

شکل۷. شکل برگ (چپ)، پیکره کلی گیاه (وسط) و ژوخه‌های(راست) *Helianthus tuberous* برگ‌های این گونه زبرتر و کشیده‌تر از گونه‌های زراعی است.

علاوه بر این، غربالگری مواد ژنتیکی دارای سطوحی از تحمل به دماهای پایین در آخر فصل نیز می‌تواند به غنای برنامه های پیش‌اصلاحی کمک نماید. برای مثال سلطانی نجف آبادی و تشکری میمند (۱۳۹۵) با ارزیابی چندین لاین اینبرد آفتابگردان در شرایط دمایی ۱۵ درجه سانتی‌گراد در آخر فصل، لاین Bline 1221 را به‌عنوان لاین متحمل در شرایط ذکر شده شناسایی نمودند که می‌تواند در برنامه‌های پیش اصلاحی برای تحمل به دماهای پایین در آخر فصل مورد استفاده قرار گیرد.

پیش اصلاحی برای تحمل به دماهای بالا

بروز دماهای بالاتر از حد تحمل گیاه می‌تواند عوارض غیر قابل جبرانی را به بار بیاورد. اثرات گرما در مراحل مختلف رشد گیاه متفاوت است، در دوره رشد رویشی، دماهای بالا باعث افزایش تنفس نگه‌داری و بنابراین کاهش حجم مواد اسیمیلاتی لازم برای ورود به مرحله رشد زایشی (تشکیل گلچه‌ها) و نیز انتقال به دانه‌ها می‌شود. بروز دماهای بالا در زمان گرده افشانی می‌تواند باعث کاهش فعالیت و حتی مرگ دانه‌های گرده شود و در مراحل پر شدن دانه، از طریق اثر منفی بر فعالیت اینورتازها، جریان شیره پرورده به

[49] - Temporary sink

مخازن را کند یا متوقف نماید. همچنین غلبه تنفس بر فتوسنتز جاری از جمله اثراتی است که در دماهای بالا در زمان پر شدن دانه‌ها ممکن است اتفاق افتد. افزایش تنفس نیز از طریق افزایش تولید و تجمع رادیکال‌های آزاد می‌تواند بر زیست شناسی سلول و دستگاه‌های فتوسنتز کننده اثرات زیانباری داشته باشد. در دماهای بالا، بواسطه گرمتر شدن سطح برگ‌ها، سرعت تعرق افزایش یافته که منجر به هدر روی بیشتر آب و بروز تنش خشکی می‌شود.

از جمله مولفه‌های مهم دخیل در پاسخ تحملی گیاهان به دماهای بالا دز رمان گرده افشانی می‌توان به محتوی نشاسته دانه گرده، فعالیت اینورتاز در مخازن و یا مخازن موقت، قدرت آنتی اکسیدانی گیاه، وضعیت گسترش ریشه‌ها برای جذب بیشتر آب، توزیع پراکنش روزنه هادر دو سطح برگ می‌توان اشاره نمود.

بیان ژن‌های متعددی تحت شرایط دمای بالا فعال و یا سرکوب می‌شود. همچنین برخی ژن‌ها به عنوان مارکز تحمل تنشهای بالا شناسایی شده‌اند (Hasanuzzaman et al., 2013). ژن‌های کد کننده برخی ترنسپورترها[50]، تنظیم کننده‌های اسمزی، و آنتی اکسیدان‌ها از ژن‌های عمومی پاسخ به تنش هستند که در مورد تنش دهاهای بالا نیز عمل می‌کنند (Hasanuzzaman et al., 2013). برای سنجش بیان ژن‌ها تحت شرایط دمای بالا بایستی از ژن‌های رفرنس مناسب که تحت تاثیر دمای بالا قرار نمی‌گیرند استفاده نمود(Najafabadi & Amirbakhtiar, 2023) تنش‌های گرمایی از آنجا که با افزایش تنفس و تعرق از سطح گیاه در ارتباط هستند به ترتیب ایجاد تنش‌های اکسیداتیو و آبی می‌نمایند. سنجش سطح کلروفیل و مقدار فلورسانس کلروفیل از زوش‌های مزرعه‌ای موثر برای غربالگری برای ژنوتیپ متحمل به تنش هستند (Cossani & Reynolds, 2012).

تنش گرما از چند جنبه می تواند به رشد و عملکرد آسیب برساند:

الف-ایجاد تنش اکسیداتیو، از دست رفتن آب گیاه بواسطه تعریق کوتیکولی، کاهش تولید از طریق بسته شدن روزنه‌ها، افزایش تنفس نگه داری و کاهش توان رشدی گیاه، اختلال در انتقال و توزیع مواد فتوسنتزی در گیاه

ب- اثر روی باروری گرده‌ها: چنانچه تنش گرمایی با زمان گرده افشانی مصادف گردد، تنها ژنوتیپ‌هایی که دارای گرده‌های قوی‌تر به لحاظ مواد پر انرژی (مثل نشاسته) هستند می‌توانند شرایط دمایی بالا را تحمل کنند. شاخص مقدار نشاسته موجود در دانه گرده که از طریق رنگ آمیزی دانه گرده با معرف ید تعیین می‌شود از روش های غربالگری می‌باشد (Pacini et al., 2006; Sheoran & Saini, 1996). همچنین آزمون زنده‌مانی و جوانه‌زنی دانه‌های گرده روی محیط کشت ساده آب و آگار از دیگر روش‌های غربالگری می‌باشد (Sunderland & Roberts, 1977). بر اساس نتایج چن (۲۰۲۲) محتوی نشاسته بالا در دانه‌های گرده با تحمل این دانه‌ها به دماهای بالا در ارتباط است. (Chen, 2023).

[50] - Transporters

پیش اصلاحی برای تحمل به شوری

۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی جهان، معادل ۶درصد کل اراضی، تحت تاثیر شوری قرار دارند که بر بیش از بیست درصد کشت و زرع در سراسر دنیا در حال حاضر اثرات سوء خود را اعمال می نماید(Yang & Wang, 2015) . یکی از بهترین روش‌ها در استفاده از اراضی شور، غربالگری در ژرم‌پلاسم‌های موجود و ایجاد واریته‌های با مقاومت بیشتر به تنش شوری است(Ashraf et al., 2012) . آفتابگردان تا حدی دارای تحمل به شوری است و شوری تا حد ۴/۸ دسی زیمینس بر متر را به خوبی تحمل می‌نماید (Hardwick, 1978)، لیکن برای کاشت آن در نواحی شور و بی‌کیفیتی که سایر گیاهان قادر به رشد و تولید نیستند، بایستی اقدام به افزایش سطح تحمل ژرم پلاسم زراعی موجود نمود. به طور کلی، توانایی یک گیاه برای زنده ماندن و رشد در شرایط شور به تحمل آن به شوری بستگی دارد که بین گیاهان مختلف و مراحل رشدی آنها متفاوت است.

شوری از سه طریق تجمع یون‌های سمی، ایجاد تنش اسمزی و به هم زدن هموستازی یونی در پیکره گیاه ایجاد اثرات نامطلوب در گیاه می‌کند. گیاهان از طریق ساز و کارهای سازگاری مانند حجره بندی یون‌های سدیم در واکوئل‌ها و برگ‌های پیر پایینی، ترشح نمک جذب شده در خاک و یا تشکیل غده‌های نمکی بر روی سطح برگ، ساز و کارهای روبش رادیکال‌های آزاد، تنظیم اسمزی و نیز تحمل بافتی وجود شوری در آب و خاک را تحمل می‌کنند(Guo et al., 2022) . برای این ساز و کارها، تنوع ژنتیکی بالایی وجود دارد .تنوع ژنتیکی را می‌توان داخل گونه‌ها و بین‌گونه پیدا کرد که هر دو این‌ها برای مقاصد پیش اصلاحی مفید هستند.

گیاهان شورپسند (هالوفیت) با انتقال سدیم به واکوئل و تبدیل آن به فرم غیر فعال[51] مانع از حضور این یون در سیتوپلاسم می‌شوند و بنابراین غلظت سدیم در برگ‌های فعال آنها بیشتر از گلایکوفیت‌ها است(Greenway & Munns, 1980). سیتوپلاسم گیاهان دارای نسبت پایین سدیم به پتاسیم است زیرا سدیم باعث تخریب آنزیم‌های سیتوپلاسمی و به خصوص آنزیم‌های فعال شونده توسط پتاسیم و ممانعت از بیوسنتز پروتین‌ها می‌شود(Tester & Davenport, 2003; Wilson et al., 2002) .

اولین تاثیر شوری بر گیاهان کاهش رشد است (Munns 1993). این کاهش رشد در دو مرحله اتفاق می‌افتد: ا- پاسخ سریع به افزایش فشار اسمزی خارج محیط سلولی یا گیاه (مرحله اسمتیک). این مرحله به محض افزایش غلظت نمک در اطراف ریشه‌ها تا حد آستانه (حدود ۴۰ میلی مولار NaCl برای اغلب گیاهان) شروع می‌شود. ۲- پاسخ آهسته‌تر که طی آن یون‌های سمی و مضر در برگ‌ها (مرحله یونی) تجمع می‌یابند. هنگامی که سرعت مرگ و میر برگ‌های پیرتر بیشتر از ایجاد و ظهور برگ‌های جدید باشد، ظرفیت فتوسنتزی گیاه در حد مطلوب نبوده و رشد به تعویق می افتد(Munns and Tester 2008). پاسخ گیاهان به شوری با مرحله رشدی گیاه تغییر می‌کند: مراحل حیاتی حساس به شوری عبارتند از: جوانه زنی، مرحله استقرار گیاهچه و مرحله گلدهی (Ashraf & Waheed, 1990; Flowers, 2004) معیارهای ارزیابی و غربال‌گری تحمل به شوری در گیاهان زراعی به سطح تنش شوری، تداوم آن، و مرحله نموی گیاه بستگی دارد(Neumann, 1997; Shannon, 1985). اغلب ارتباطی بین جوانه‌زنی در شرایط شور با تحمل به شوری در مراحل بعدی رشد وجود ندارد(Dewey, 1962; Flowers, 2004; Shannon, 1985) .

تحمل تنش شوری بر حسب تولید بیوماس یا عملکرد در شرایط تنش نسبت به شرایط تنش بیان می‌شود. در شرایط شوری کم تا متوسط، ظرفیت عملکردی ژنوتایپ اغلب مهم‌ترین معیار است، درحالی که، توانایی زنده ماندن اغلب در سطوح شوری نسبتاً بالا

[51] - Sequestration

استفاده می‌شود (Epstein et al. 1980) و ساز و کارهای فیزیولوژیکی که نقش اصلی در حفظ ظرفیت تولید یک ژنوتایپ ایفا می‌کنند، با ساز و کارهایی که به تحمل در غلظت‌های بسیار بالای نمک کمک می‌کنند، یکسان نیستند.

معیارهای غربالگری برای تحمل به شوری

- زنده‌مانی گیاه

انتخاب بر مبنای زنده‌مانی گیاه در غلظت‌های بالا برای برخی گیاهان پیشنهاد شده است. توانایی یک ژنوتایپ برای زنده‌مانی و تکمیل دوره زندگی در شوری‌های بسیار بالا، صرف نظر از پتانسیل عملکرد تحت شرایط شوری متوسط، را تحمل به معنای مطلق می نامند. این تحمل با تحمل اقتصادی که به ظرفیت تولید اقتصادی گیاه می‌پردازد متفاوت است.

- آسیب به برگ

از انجا که اغلب گیاهان زراعی گلایکوفیت هستند، قادر به محدود کردن فضایی یون‌های نمکی که از ریشه به سمت اندام‌های هوایی و برگ‌ها می‌آیند نیستند. خسارت برگ را به راحتی می‌توان از روی علایم برگی رنگ رفتگی و نکروز مشاهده نمود. معمولا از غربالگری برای تحمل به شوری با تکیه به خسارت برگی استفاده می‌شود (Gregoria et al., 1997; Richards et al., 1987).

- بیوماس و عملکرد

برای به‌نژاد گران، عملکرد و بیوماس پارامترهای مشخصی در ارزیابی تحمل به شوری هستند (Richards et al., 1987). با این حال این پارامتر ها، اطلاعاتی در خصوص سازو کار های دخیل در پاسخ تحمل نمی‌دهند. در گذشته، به‌نژادگران گیاهی علاقه چندانی به شناسایی ساز و کار فیزیولوژیکی تحمل نداشتند و همین که ژنوتیپی متحمل بود کافی بود و شناسایی ساز و کار فیزیولوژیکی تحمل موضوعی اکادمیک محسوب می‌شد.

- ساز و کارهای فیزیولوژیک

اخیرا ساز و کارهای فیزیولوژیکی ایجاد کننده تحمل به شوری برای غربالگری مورد استفاده قرار گرفته است. این ساز و کارها شامل محتوی سدیم بافت، عدم جذب یکسان بین یون‌ها[52] و تنظیم اسمزی هستند. روش‌هایی مانند تفویض ایزوتوپ کربن ($\delta^{13}C$) که شاخصی عمومی در ارزیابی‌های تنش در گیاهان است را نیز می‌توان برای غربالگری برای شوری به کار برد (Flowers & Yeo, 1981; Pakniyat et al., 1997).

برای غربالگری سطح تحمل به تنش شوری از پارامترهای زیر استفاده می‌شود:

- نرخ رشد ارتفاع: به صورت خارج قسمت تفاضل ارتفاع پس از اعمال تیمار شوری از ارتفاع در زمان برداشت بر تعداد روز .
- بیوماس کل گیاه: با جمع کردن مجموع وژن خشک برگ‌ها، ساقه و ریشه (در آزمایشات گلدانی)
- نسبت وزن خشک ریشه به کل بیوماس گیاه (در آزمایشات گلدانی)
- درجه گوشتی شدن برگ: مقدار آب بافت به ازای سطح برگ (وزن خشک برگ- وزن بافت تازه) تقسیم بر سطح برگ
- محتوی یونی بر حسب میلی مول بر گرم وژن خشک بافت

[52] - Ion discrimination

- خاکستر کل گیاه
- غلظت یون‌های سدیم، پتاسیم و گوگرد در عصاره استخراجی از برگ(میلی مول بر لیتر)
- رجحان نسبی سدیم و پتاسیم برای انتقال به برگ (نسبت سدیم به پتاسیم در برگ)

تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم وحشی آفتابگردان برای تحمل به شوری

چندین گونه از جنس *Helianthus* بومی زیستگاه‌های تحت تأثیر شوری هستند و ممکن است دارای ژن‌هایی برای تحمل به شوری باشند. آفتابگردان پیکوس (*H. paradoxus*) دارای سازگاری خوبی به خاک‌های شور بوده و قادر است در باتلاق‌های نمکی نیومکزیکو و تگزاس غربی بر سایر گونه‌های وحشی آفتابگردان غلبه کند، که این امر نشان می‌دهد این گونه می‌تواند کاندیدای مناسبی برای ژن‌های تحمل به شوری باشد(Seiler et al., 1981). *Helianthus paradoxus* یک گونه منحصر به فرد با منشاء هموپلوئید است که در شرایط باتلاق‌های شور زندگی می‌کند و زیستگاه آن به طور قابل توجهی با زیستگاه‌های والدینش، *H. annuus* (خاک‌های رسی) یا *H. petiolaris*(خاک‌های شنی) متفاوت است (Gross & Rieseberg, 2005). برای استفاده از گونه‌های وحشی در برنامه‌های پیش اصلاحی بایستی به اطلاعات جغرافیایی، مورفولوژیکی، ادافیکی و مولکولی توجه ویژه نمود (González Castro et al., 2013)، زیرا اکوتیپ‌های مختلف داخل یک گونه حسب شرایطی که در آن سازش پیدا کرده‌اند، واجد صفات مرتبط با سازگاری و تحمل هستند. هاجر و هاجکین (۲۰۰۷) پیشنهاد کردند که گونه *H. paradoxus* پتانسیل بالایی برای کمک به اصلاح آفتابگردان‌های زراعی با تحمل بیشتر به شوری دارد، به طوری که هیبریدهای مشتق شده از این گونه ممکن است ٪۲۵ افزایش عملکرد در خاک‌های شور نسبت به هیبریدهای معمولی از خود نشان دهند (Hajjar & Hodgkin, 2007). چاندلر و جان (۱۹۸۴) سه گونه وحشی *Helianthus* را از نظر تحمل به شوری ارزیابی کردند:*H. paradoxus*، *H. debilis* و جمعیت‌های وحشی *H. annuus*بومی مناطق بیابانی شور. *Helianthus debilis* (شکل ۸) قادر به تحمل شوری تا حد همان آفتابگردان زراعی بود. در حالی که جمعیت‌های وحشی انتخاب شده از *H. annuus* تحمل نمک بیشتری نسبت به *H. debilis* و آفتابگردان زراعی داشتند. جمعیت‌های *H. paradoxus* (شکل ۹) بسیار مقاوم به شوری بودند، به طوری که برخی از بوته‌های این جمعیت در غلظت ۱۳۰۰ میلی‌مولار NaCl زنده ماندند (Chandler & Jan, 1984).

شکل۸. تصویری از *Helianthus debilis* که به آفتابگردان ساحلی *(Beach sunflower)* نیز معروف است.

شکل ۹. تصویری از رویش‌گاه و بوته‌های گونه *H. paradoxus* در منطقه تگزاس آمریکا

به نظر می‌رسد که تحمل به شوری دارای ویژگی غالبی باشد زیرا سطح تحمل به شوری در هیبریدهای بین *H. paradoxus* و *H. annuus* زراعی در حد والد وحشی است. میلر (۱۹۹۵) ژرم‌پلاسم‌های بین‌گونه‌ای مبتنی بر *H. paradoxus*، شامل PAR-1084–1، PAR 1673–1و PAR-1673–2 از تگزاس (Miller, 1995) و PAR-1671–1 و PAR-1671–2 از نیومکزیکو (Seiler, 1991) را ارزیابی کرد وگزارش نمود که قادر به تحمل غلظت‌های نمک تا هدایت الکتریکی ۲.۴۷ $S\ m^{-1}$ هستند (G. J. Seiler, 1991). او نتیجه‌گیری کرد که کنترل تحمل به شوری توسط یک ژن اصلی انجام می‌گیرد، هرچند ممکن است ژن(های) تنظیم‌کننده مغلوب نیز در بروز این پاسخ وجود داشته باشند. دو لاین والد روغنی با تحمل به شوری، HA 429 وHA 430 ، که از این ژرم‌پلاسم‌های بین‌گونه‌ای توسعه یافته بودند، توسط میلر و سیلر (۲۰۰۳) معرفی شدند (Miller & Seiler, 2003). ولچ و ریسبرگ (۲۰۰۲) گیاهان *H. paradoxus* را در غلظت‌های مختلف NaCl رشد دادند و دریافتند که تحمل به شوری این گیاهان پنج برابر بیشتر از گونه‌های اجدادی خود، *H. annuus* و *H. petiolaris*است (Welch & Rieseberg, 2002).

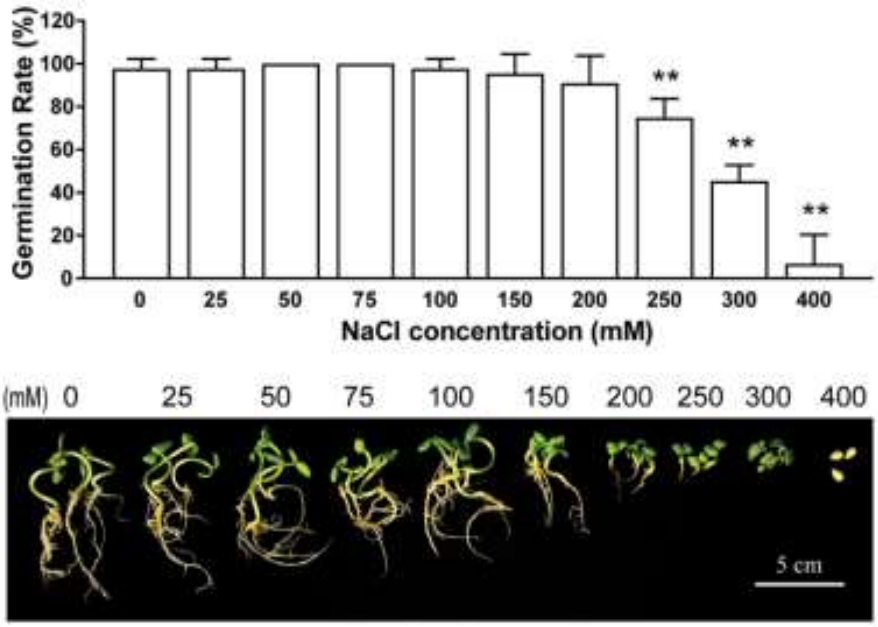
ژن کاندیدای مقاوم به شوری در آفتابگردان در کتابخانه توالی بیان شده (EST) و بر اساس همولوژی با ژن‌های با عملکرد شناخته شده و نیز QTLهایی که قبلا برای تحمل به شوری شناخته شده بودند، شناسایی شد و مشخص شد که رمز کننده پروتین کیناز پروتئین وابسته به کلسیم (CDPK3) است. این ژن بر روی گروه لینکاژی LG4 مکان‌یابی شده است (Lexer et al., 2004) . بیان ژن‌های مرتبط با حمل و نقل پتاسیم و کلسیم به طور دایم در گونه *Helianthus paradoxus* به صورت بیان افزایش یافته و یا کاهش یافته نسبت به والدین حساس به شوری خود مشاهده می‌شود، که نشان می‌دهد این ژن‌ها ممکن است در سازگاری این گونه به شوری دخیل باشند(Edelist et al., 2009) .

غربال گری نسبت به شوری در مرحله جوانه زنی

جوانه‌زنی بذر اولین مرحله از رشد و نمو گیاه در طول چرخه زندگی خود است. بنابراین، توانایی بالای جوانه‌زنی گیاهان در خاک‌های شور برای رشد و نمو بعدی ضروری است. گزارش شده است که تنش ناشی از نمک می‌تواند منجر به کاهش قابل توجهی در نرخ جوانه‌ژنی شود، زیرا این تنش توانایی گیاهان را برای جذب آب از خاک کاهش می‌دهد و در نتیجه منجر به مهار رشد و کاهش عملکرد می‌شود. روش‌های ارزیابی تحمل به شوری در مرحله جوانه‌زنی برای گیاهان محتلف تهیه شده است که اغلب منحصر به گونه گیاهی بوده و برای تمامی گیاهان قابل کاربرد نیست.

دستور العمل ارزیابی استاندارد سنجش پاسخ آفتابگردان به شوری در مرحله جوانه زنی (Li et al., 2020)

برای ارزیابی تحمل به شوری آفتابگردان در مرحله جوانه‌زنی لازم است که بذرها در پتری دیش و انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی گراد روز و ۱۸ درجه سانتی گراد شب نگه‌داری شوند. بذر وقتی جوانه زده در نظر گرفته می‌شود که طول ریشه‌چه به اندازه نصف طول بذر برسد. معمولا غلظت نمک ۳۰۰ میلی مولار برای غربال‌گری جوانه‌زنی بذور آفتابگردان در نظر گرفته می شود زیرا در این غلظت نیمی از بذور اغلب ژنوتیپ‌های آفتابگردان قادر به جوانه‌زنی نیستند (شکل ۱۰).



شکل ۱۰. تعیین غلظت مناسب نمک طعام برای غربالگری جوانه‌زنی بذور آفتابگردان با در نظر گرفتن دو شاخص نرخ جوانه‌زنی و فوتیپ جوانه‌زنی. ارزیابی‌ها تا هفت روز به طول انجامید. ** نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ($p<0.01$) با تیمار بدون شوری است(Li et al., 2020) .

صفات متفاوتی به شرح زیر اندازه گیری شد:

$$GR = \frac{G_7}{N} \times 100$$

$$GI = \sum \frac{G_t}{T}$$

$$GE = \frac{G_1}{N} \times 100$$

$$GVI = \sum \frac{G_t}{T} \times AFW$$

$$WC = \frac{FW - DW}{FW} \times 100$$

که GR: نرخ جوانه زنی، GI: شاخص جوانه زنی، GE: انرژی جوانه زنی، RL: طول ریشه، GVI: شاخص قدرت جوانه زنی، FW: وزن تازه، WC: محتوی آب گیاهچه مورد ارزیابی است. DW وزن خشک گیاهچه است که از طریق خشک کردن در آون با دمای ۱۵۰ درجه سانتی گراد و رسیدن به وزن ثابت تعیین می گردد.

در این روابط T تعداد روز بعد از کاشت، Gt تعداد کل بذور جوانه زده در روز tام، G1 و G7تعداد کل بذر های جوانه زده در روز اول و روز هفتم ام بعد از کاشت، N تعداد کل بذر ها و AFW میانگین FW گیاهچه‌ها است.

برای توصیف اختلاف در تحمل به شوری در بین لاین های آفتابگردان، برای هر صفت، شاخص تحمل شوری (STI) به شرح زیر محاسبه می شود:

$$STI_i = \frac{V_{is}}{V_{ic}}$$

که STIi نشاندهنده شاخص تحمل به شوری برای صفت iام بوده و V_{is} و V_{ic} به‌ترتیب مقدار صفت iام در شرایط تنش شوری و کنترل هستند.

ارزش STI می تواند برای ارزیابی اثر نمک روی پارامتر های تحمل به شوری لاین های آفتابگردان مورد استفاده قرار گیرد. مقادیر بیشتر STI مبین اثرات کمتر شوری و مقادیر کمتر مبین اثرات بیشتر آن است.

برای ارزیابی سطح تحمل به تنش شوری از روش ارزیابی جامع فازی[۵۳] با استفاده از ارزش تابع عضویت (MFV[54]) به شرح استفاده می‌شود.

$$X_i = \frac{X - X_{min}}{X_{max} - X_{min}} \times 100$$

که X_i، X، X_{max} و X_{min} به ترتیب نشانگر ارزش تابع عضویت برای صفت iام (MFV_i)، STI برای صفت iام، حداکثر و حداقل STI برای صفت iام در کل جمعیت مورد بررسی است. مقدار X_i بین صفر و یک تغییر می‌کند.

سپس سطوح تحمل نمونه‌های ژنتیکی آفتابگردان به شوری به پنج گروه بر اساس میانگین ($\bar{X}$) و انحراف استاندارد (SD) برای MFV به شرح زیر تقسیم می‌شود:

(1) $Xi \geq \bar{X} + 0.64SD$ بسیار متحمل به شوری

(2) $\bar{X} + 1.64\ SD > Xi \geq \bar{X} + 1\ SD$ متحمل به شوری

(3) ($\bar{X} + 1\ SD\ X > Xi \geq \bar{X} - 1\ SD$ تحمل متوسط به شوری

(4) $\bar{X} - 1\ SD > Xi \geq \bar{X} - 1.64\ SD$, حساس به شوری

[53] - Fuzzy comprehensive evaluation method
[54] - Membership function value

$\bar{X}$ -1.64 SD > Xi (5) بسیار حساس به شوری

لیو و همکاران به بررسی ۵۵۲ لاین از ژرم‌پلاسم آفتابگردان در شوری ۳۰۰ میلی‌مولار در مرحله جوانه زنی پرداخته و اندازه‌گیری‌های STI برای صفات نرخ جوانه‌زنی، شاخص جوانه‌زنی، انرژی جوانه‌زنی، طول ریشه، شاخص قدرت جوانه زنی، وزن تازه و محتوی آب گیاهچه را انجام دادند (شکل ۱۱).

Germplasm	STI_{GR}	STI_{GI}	STI_{GE}	STI_{RL}	STI_{GVI}	STI_{FW}	STI_{WC}
151003	0.545454545	0.329193299	0.03030303	0.159129759	0.05238445	0.207847724	0.771185614
151005	0.757575758	0.250565736	0	0.1579669	0.039581093	0.287242492	0.822911001
151006	0.484848485	0.253053956	0	0.18848509	0.047696898	0.345676727	0.815203797
151007	0.818181818	0.496786042	0	0.136170596	0.067647651	0.309161514	0.853230314
151009	0.424242424	0.260622756	0	0.225770925	0.058841041	0.108001685	0.800890975
151010	0.409090909	0.25499459	0	0.154537963	0.039406344	0.19141359	0.866425887
151013	0.424242424	0.239196371	0	0.114197784	0.027315696	0.071850859	0.759626767
151016	0.6	0.410084314	0.124242424	0.294923794	0.120943622	0.578087982	0.941652535
151017	0.454545455	0.141720233	0	0.160024907	0.022678767	0.145722559	0.655862614
151019	0.332323232	0.234990124	0.075	0.142857143	0.033570018	0	0
151020	0.46969697	0.291928699	0	0.246241947	0.071885091	0.058294006	0.673400118
151021	0.606060606	0.34216214	0	0.197492163	0.067574341	0.316223695	0.880965745
151022	0.515151515	0.142057906	0	0.115507615	0.01640877	0.164591382	0.800208731
151025	0.787878788	0.508337337	0.090909091	0.181230408	0.092126183	0.394584838	0.818295986
151026	0.696969697	0.422322398	0	0.149387965	0.063089884	0.310439852	0.858440718
151027	0.212121212	0.075771489	0	0.170857988	0.012946164	0.060618292	0.763601596
151028	0.181818182	0.07663411	0	0.068576948	0.005255333	0.205904	0.690835228
151032	0.606060606	0.346996132	0	0.134320864	0.04660882	0.251779138	0.830338345
151034	0.718181818	0.452884214	0.03030303	0.166514101	0.075411608	0.402539208	0.480495537
151035	0.066666667	0.024456688	0	0.109470026	0.002677274	0.050659779	0.786587742
151036	0.636363636	0.542866683	0.393939394	0.156013138	0.084694335	0.27538389	0.852762691
151037	0.727272727	0.401981245	0.03030303	0.257889154	0.103666603	0.332262084	0.810345362
151038	0.090909091	0.008904472	0	0.05604531	0.000499054	0.033624045	0.753821466
151039	0.212121212	0.115312909	0.03030303	0.109075232	0.012577782	0.147268264	0.794316641
151040	0.633333333	0.620477502	0.6	0.588369441	0.365070001	0.312437276	0.940401223
151041	0.481818182	0.360077358	0.193939394	0.19622544	0.070656338	0.270431838	0.794891215
151046	0.909090909	0.679828589	0.342424242	0.114841663	0.078072646	0.216917234	0.834010057
151049	0.848484848	0.384701005	0	0.167349472	0.06437951	0.584802085	0.825143726
151051	0.939393939	0.453014998	0	0.20693415	0.093744274	0.581668383	0.853536904

شکل ۱۱. نمونه‌ای از نتایج به دست آمده در بررسی STI برای صفات مختلف بر روی ۵۵۲ لاین از ژرم پلاسم آفتابگردان تحت شوری ۳۰۰ میلی مولار اعمال شده در مرحله جوانه زنی. GR: نرخ جوانه زنی، GI: شاخص جوانه زنی، GE: انرژی جوانه زنی، RL: طول ریشه، GVI: شاخص قدرت جوانه زنی، FW: وزن تازه، WC: محتوی آب گیاهچه مورد ارزیابی.

در این بررسی نرخ جوانه زنی برای چهار لاین به طور معنی‌داری بازداشته شد[55] در حالیکه برای ۱۰ لاین دیگر تقریبا تغییری در این شاخص نشان ندادند.

همچنین MFV برای هریک از پارامتر ها برای هر کدام از لاین ها و نیز میانگین MFV محاسبه گردید (شکل ۱۲)

[55] - Inhibited

	Germplasms	MFV of GR	MFV of GI	MFV of GE	MFV of RL	MFV of GVI	MFV of FW	MFV of MC	Mean MFV	Grades
2	151003	0.54545455	0.3370721	0.03225806	0.23684429	0.13269088	0.17308537	0.47573002	0.27616218	MST
3	151005	0.75757576	0.25656269	0	0.23511353	0.10025972	0.23920143	0.50763845	0.2994788	MST
4	151006	0.48484848	0.25911047	0	0.28053595	0.12081722	0.28786259	0.50288402	0.27657982	MST
5	151007	0.81818182	0.50867596	0	0.20267251	0.17135288	0.25745452	0.52634187	0.35495422	MST
6	151009	0.42424242	0.26686042	0	0.33603114	0.14904556	0.0899385	0.49405471	0.25145325	MST
7	151010	0.40909091	0.26109755	0	0.23000999	0.09981708	0.15939983	0.53448197	0.24198533	MST
8	151013	0.42424242	0.24492122	0	0.1699688	0.06919122	0.05983386	0.46859959	0.20525101	MST
9	151016	0.6	0.41989914	0.13225806	0.43895634	0.30635267	0.48140326	0.58088789	0.42282248	MST
10	151017	0.45454545	0.14511212	0	0.23817661	0.05744578	0.12135059	0.40458942	0.20303142	MST
11	151019	0.33232323	0.2406143	0.07983871	0.21262458	0.08503354	0	0	0.13577634	SS
12	151020	0.46969697	0.29891562	0	0.36649964	0.18208641	0.04854438	0.41540797	0.25445014	MST
13	151021	0.60606061	0.35035134	0	0.29394182	0.17116719	0.26333555	0.54345134	0.31832969	MST
14	151022	0.51515152	0.14545787	0	0.17191831	0.04156375	0.13706362	0.49363384	0.21496984	MST
15	151025	0.78787879	0.52050371	0.09677419	0.26973828	0.2333575	0.32859086	0.50479153	0.39166213	MST
16	151026	0.6969697	0.43243012	0	0.22234488	0.15980797	0.25851905	0.52955607	0.32851826	MST
17	151027	0.21212121	0.07758498	0	0.25430026	0.0327929	0.05047993	0.47105158	0.15690441	MST
18	151028	0.18181818	0.07846825	0	0.10206802	0.01331187	0.17146673	0.42616337	0.13904234	SS
19	151032	0.60606061	0.35530102	0	0.19991942	0.11806109	0.20966929	0.51222024	0.28589024	MST
20	151034	0.71818182	0.4637234	0.03225806	0.24783494	0.19101914	0.33521487	0.29640874	0.32637728	MST

شکل ۱۲- نمونه‌ای از نتایج به دست آمده برای محاسبه MFV برای هر شاخص و نیز میانگین MFV برای هر لاین از ژرم پلاسم آفتابگردان تحت شوری ۳۰۰ میلی مولار اعمال شده در مرحله جوانه زنی. GR: نرخ جوانه زنی، GI: شاخص جوانه زنی، GE: انرژی جوانه زنی، RL: طول ریشه، GVI: شاخص قدرت جوانه زنی، FW: وزن تازه، WC: محتوی آب گیاهچه مورد ارزیابی، MST: تحمل نسبی به شوری، SS: حساس به شوری

توزیع میانگین MFV برای لاین های مختلف در شکل ۱۳-A نشان داده شده است. میانگین MFV برای لاین های مورد ارزیابی بین ۰/۱۵۲ و ۰/۷۱۵ با میانگین ۰/۱۴۳±۰/۲۸۷ بود. همچنین یک لاین (لاین ۵۰۵) دارای بیشترین مقدار MFV بود و چهار لاین ۱۵۶۰۸۴، ۱۵۲۰۲۱، ۱۵۲۰۹۴ و ۱۵۶۰۹۶ دارای کمترین مقدار MFV (مقدار صفر) بودند.

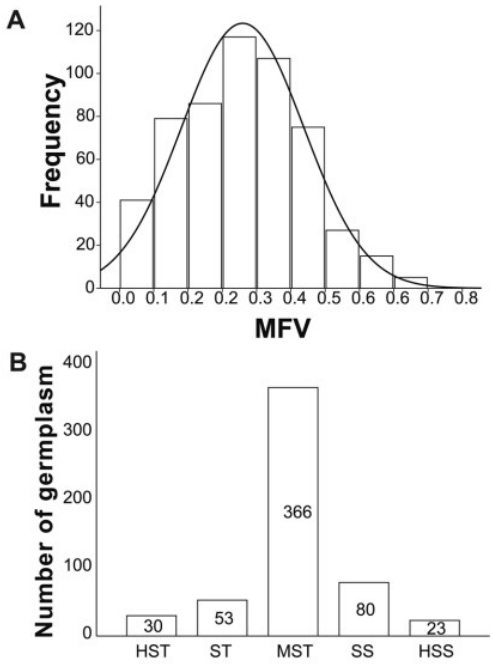
بر اساس پاسخ به شوری و تحمل شوری، ۵۵۲ لاین آفتابگردان ارزیابی شده به ۵ گروه طبقه بندی شدند: ۳۰ لاین بسیار متحمل به شوری با $\overline{MFV} \geq 0.5216$، ۵۳ لاین متحمل $0.5216 > \overline{MFV} \geq 0.4302$، ۳۶۶ لاین لاین نسبتا متحمل به شوری $0.4302 > \overline{MFV} \geq 0.1446$، ۸۰ لاین حساس به شوری $0.1446 > \overline{MFV} \geq 0.0532$ و ۲۳ لاین بسیار حساس به شوری $0.0532 > \overline{MFV}$ (شکل۱۲ و ۱۳-B). پنج لاین متحمل تر و پنج لاین حساستر در جدول ۱ ارایه شده است.

جدول ۱- پنج لاین متحمل تر و پنج لاین حساس تر به تنش شوری در بین ۵۵۲ لاین بررسی شده آفتابگردان

Germplasms	GR of MFV	GI of MFV	GE of MFV	RL of MFV	GVI of MFV	FW of MFV	WC of MFV	Mean MFV	Tolerance
152505	0.936	0.856	0.719	0.343	0.488	0.905	0.758	0.715	HST
156004	0.933	0.681	0.323	0.602	0.681	0.841	0.756	0.688	HST
156017	0.913	0.652	0.340	0.672	0.728	0.751	0.685	0.677	HST
151082	1.000	1.000	1.000	0.177	0.294	0.660	0.539	0.667	HST
151040	0.633	0.635	0.639	0.876	0.925	0.260	0.580	0.650	HST
152012	0.030	0.002	0.000	0.085	0.000	0.000	0.000	0.017	HSS
152021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	HSS
152094	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	HSS
156084	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	HSS
156096	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	HSS

GR: نرخ جوانه زنی، GI: شاخص جوانه زنی، GE: انرژی جوانه زنی، RL: طول ریشه، GVI: شخص قدرت جوانه زنی، FW: وزن تازه، WC: محتوی آب، HST: بسیار متحمل به شوری

بنابراین، اغلب لاین‌های مورد بررسی در مطالعه لی و همکاران (۲۰۲۰) دارای پاسخ نسبتا متحمل و فقط درصد کمی بسیار متحمل و یا بسیار حساس بودند.



شکل ۱۳ . طبقه بندی ۵۲۲ لاین آفتابگردان بر اساس مقادیر میانگین تابع عضویت (میانگین MFV). (A) توزیع میانگین MFVs. (B) طبقه بندی ۵۲۲ لاین آفتابگردان بر اساس تحمل به شوری مبتنی بر میانگین MFVs. HST: بسیار متحمل به شوری، ST: متحمل به شوری، MST: تحمل متوسط به شوری، SS: حساس به شوری، HSS: بسیار حساس به شوری

مرحله رشد زایشی و رویشی

گونه *H. paradoxus* Heiser در شوره‌زارهای ایالت نیومکزیکو و تگزاس آمریکا به طور طبیعی رشد می‌نماید. این گونه که آمفی‌دیپلوییدی از *H.annuus* L. و *H. petiolaris* Nutt. است به عنوان آفتابگردان متحمل به شوری شناسایی شده است.

در آزمایشی که برای بررسی مقایسه‌ای تحمل به شوری انجام گرفت، گونه *H. paradoxus* در شرایط شوری متوسط به‌طور میانگین ۱۷ درصد بیشتر نسبت به شرایط غیر شور تولید بایوماس نمود. در حالی‌که والدین آن، *H.annuus* L. و *H. petiolaris* Nutt.، به ترتیب ۱۹ درصد و ۳۳ درصد در شرایط نیمه شور دچار نقصان تولید بیوماس شدند(Karrenberg et al., 2006) . بنابراین، مانند همه هالوفیت ها، حضور نمک برای رشد مطلوب *H. paradoxus* ضروری است. با توجه به اینکه هر دو گونه والدینی از مناطق شور جمع‌آوری شده بودند، برهمکنش دو ژنوم ترکیب شده باعث ایجاد ویژگی هالوفیتی شده اند. این موضوع به نقش اثرات متقابل ژنی در تکامل اشاره دارد. بیوماس ریشه و درجه گوشتی بودن[۵۶] برگ‌های گونه *H. paradoxus* بیشتر از دو گونه والدی بود که مانند بسیاری دیگر از هالوفیت‌ها، باعث افزایش کارآیی مصرف آب در شرایط شوری و امکان تجمع مقادیر زیادی سدیم در برگها را فراهم می‌آورد(Welch & Rieseberg, 2002) . در مقایسه سه گونه *H.annuus*، *H. petiolaris* و *H. paradoxus* هر سه گونه دارای جذب رجحانی پتاسیم در شرایط شور بودند.

[56] - succulence

پیش اصلاحی برای مقاومت و تحمل به بیماری‌ها

پیش اصلاحی در عصر حاضر به یک بخش اساسی و برنامه‌ریزی شده از تمام فعالیت‌های اصلاح نباتات تبدیل شده است (Ortiz et al., 2007). اهداف اصلی برنامه‌های پیش‌اصلاحی برای مقاومت به بیماری‌های گیاهی شامل افزایش کارایی روش‌های اصلاحی با بکارگیری نشانگرهای مولکولی مرتبط با ژن‌های موثر مقاومت در برابر بیماری، استفاده از ژرم‌پلاسم اصلاح شده و بکارگیری دانش ژنتیکی مرتبط به منظور افزایش بیان مقاومت، بهبود ژن‌های استوک[۵۷] والدینی به منظور استفاده در برنامه‌های اصلاحی و استفاده از روش‌های اصلاح شده انتخاب ژنوتیپ‌ها است (Shanker et al., 2012). برای موفقیت در اصلاح نژاد برای مقاومت به بیماری، به نژادگران آفتابگردان باید به طور کامل با اصول کلی اصلاح نژاد مقاومت، رویکردهای اصلی مدیریت ژن‌های مقاومت، پایداری مقاومت آفتابگردان در برابر پاتوژن‌های خاص، آشنایی با برهمکنش بین میزبان (آفتابگردان)، پاتوژن و شرایط محیطی، محیط و انواع مقاومت (عمودی و افقی) آشنا باشد.

مقاومت مناسب‌ترین روش برای کنترل بیماری‌ها است زیرا استفاده از ارقام مقاوم به بیماری آسان و مقرون به صرفه است و نیاز به روش‌های دیگر کنترل از جمله استفاده از مواد شیمیایی را کاهش می دهد (Shanker et al., 2012). مقاومت ژنتیکی در ژرم‌پلاسم بومی محلی به دلیل فقدان تنوع ژنتیکی محدود است. در مقابل، عوامل بیماری‌زا، به‌ویژه زنگ‌ها، در طول زمان تکامل می‌یابند و در مقابل ژن‌های مقاومت مؤثر قبلی، بیماری‌زایی کسب می‌کنند. در نتیجه، ژن‌های مقاوم موجود و مؤثر به بیماری را کاهش می‌دهند. بنابراین، پیش‌اصلاحی برای مقاومت به بیماری نه تنها برای افزایش کارایی اصلاح نژاد برای مقاومت، بلکه برای گسترش اصل ژنتیکی مقاومت ضروری است.

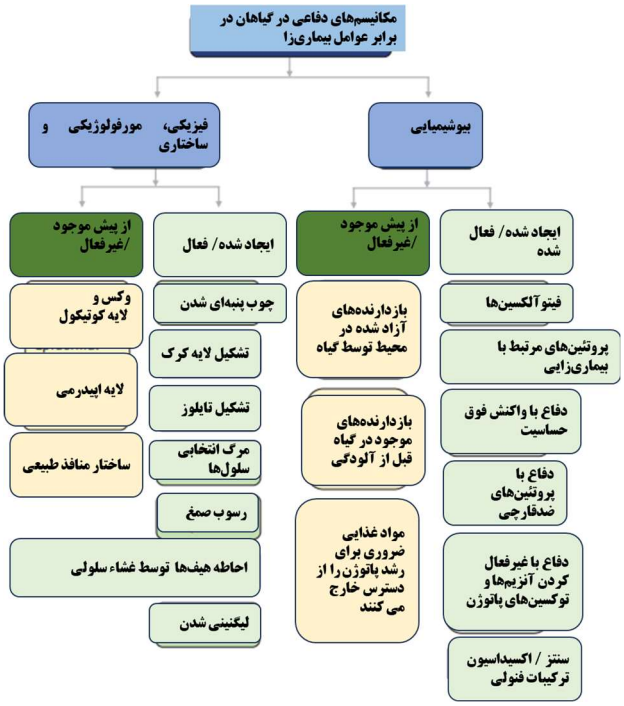
گیاهان با تکامل ساز و کارهای دفاعی پیچیده، در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی واکنش نشان می‌دهند و در مقابل سیستم‌های طبیعی، فشار متضاد بیشتری را برای مقابله با مقاومت ایجاد شده، اعمال می‌کنند. یکی از این تنش‌ها حمله مکرر حشرات و عوامل بیماری‌زای میکروبی به گیاهان است. برهمکنش بین گیاهان و عوامل بیماری‌زای[۵۸] گیاهی یا بیمارگرها شامل مجموعه‌ای از ساز و کارهاست که نتیجه تعامل را تعیین می‌کند، به این معنا که واکنش سازگاری[۵۹] موجب حساسیت[۶۰] گیاه به عامل بیماری‌زا و واکنش ناسازگاری[۶۱] منجر به مقاومت[۶۲] می‌شود. در طی این برهمکنش، ساز و کار های دفاعی متعددی در میزبان‌های حساس و مقاوم فعال می‌شوند. با این حال، در صورت وقوع یک تعامل سازگار شامل میزبان حساس و عامل بیماری‌زای مهاجم، پیروزی نهایی از آن عامل بیماری‌زا بوده و بیماری اتفاق می‌افتد.

گیاهان در طول رشد خود توسط انواع میکروارگانیسم‌های با ساز و کارهای مختلف آلوده‌سازی از جمله بیوتروف‌ها[۶۳]، نکروتروف‌ها[۶۴] یا همی‌بیوتروف‌ها[۶۵] تهدید می‌شوند (Glazebrook, 2005). میکروارگانیسم‌های مختلف از راهبردهای مختلفی برای آلوده کردن و آسیب رساندن به گیاهان استفاده می‌کنند. همه قارچ‌های بیماری‌زا، علی‌رغم ساز و کارهای مختلف آلودگی و جذب مواد مغذی، می‌توانند توسط سیستم دفاعی گیاه شناسایی شوند و در نتیجه سیستم دفاعی میزبان علیه آنها فعال شود. پاسخ کارآمد

---

[57] - Stock
[58]- Pathogen
[59] - Compatible
[60]- Susceptibility
[61] - Imcompatible
[62]-Resistance
[63] - Biotrophs
[64] - Necrotrophs
[65] - Hemibiotrophs

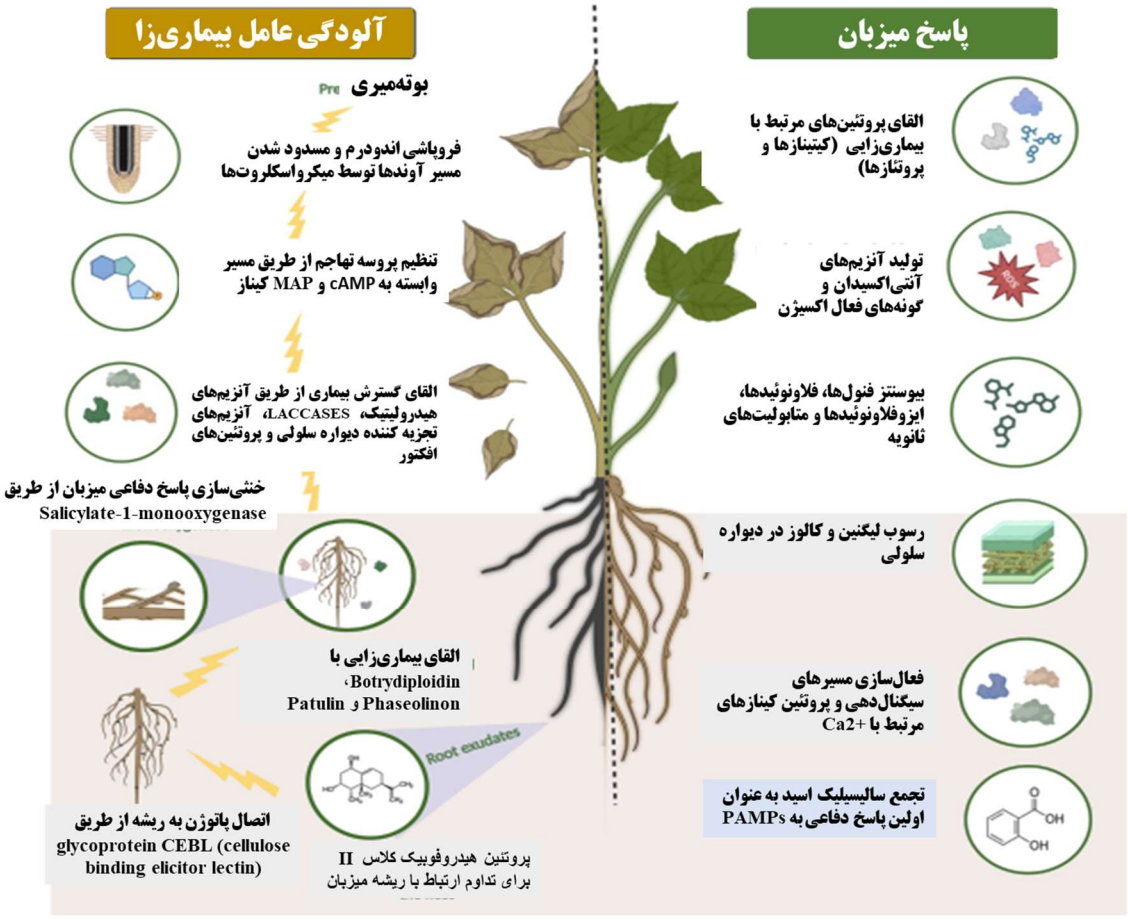
میزبان به عفونت قارچی با فعال شدن پاسخ‌های موضعی و سیستمیک به دلیل ایمنی ذاتی[66] در یک دوره زمانی مشخص تسهیل می‌شود(Mapuranga et al., 2022) . توانایی گیاهان برای پاسخگویی مؤثر به آلودگی ناشی از عامل بیماری‌زا، ابتدا به ساز و کارهای دفاعی از پیش موجود در ساختار گیاه بستگی دارد، که شامل موانع از پیش تشکیل‌شده مانند کوتیکول و فیتوآنتی‌سیپین‌ها می‌شود (شکل ۱۴). کوتیکول یک مانع مهم برای نفوذ بیمارگر به داخل گیاه است که عواملی از قبیل سختی دیواره سلولی و ضخامت کوتیکول بر مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا تأثیر می گذارد. فیتوآنتی‌سیپین‌ها به‌عنوان موانع شیمیایی از پیش موجود در گیاه در برابر حمله میکروبی عمل می‌کنند. برخی از فیتوآنتی‌سیپین‌ها مانند گلوکوزینولات‌ها و گلیکوزیدهای سیانوژنیک به‌عنوان پیش‌سازهای غیرفعال در بافت‌های سالم وجود دارند و فقط در نتیجه آسیب بافتی فعال می‌شوند(Tiku, 2020) .



شکل۱۴- ساز و کارهای دفاعی موثر گیاه در برابر حمله عامل بیماری‌زا (Soni et al., 2022)

گیاهان در طول تکامل خود، ساز و کارهای متنوعی را برای غلبه بر قارچ‌های بیماری‌زا تولید کرده‌اند، ولی به دلیل ماهیت دینامیک و در حال تکامل برهمکنش‌های گیاه-عامل بیماری‌زا، جمعیت‌های بیماری‌زای پاتوژن می‌توانند بر مقاومت ایجاد شده توسط گیاهان غلبه کنند (شکل ۱۵). مقاومت به بیماری یک ویژگی مهم در هر برنامه اصلاحی است. اصلاح نژاد برای مقاومت به بیماری، یک پروسه پویا است و مقاومت به بیماری باید بلند مدت و پویا مدیریت شود (Nelson et al., 2018).

[66] - Innate immune system



شکل ۱۵. پاسخ های متقابل میزبان و عامل بیماری‌زا. میزبان و بیمارگر در مواجه با یکدیگر و در طی تکامل انواع ساز و کارها در سطوح سلولی، مولکولی و بیوشیمایی را ایجاد می کنند. هرگاه ساز و کاری در میزبان و یا عامل بیمارگر کارآیی خود را بواسطه عمل متقابل از دست داد، عاملی دیگر ایجاد خواهد شد (Nelson et al., 2018).

مقاومت‌ها بسته به نوع سیستم میزبان- بیمارگر، گاهی به‌صورت عمودی، مقاومت کامل (مقاومت کیفی)[۶۷] و گاهی افقی، مقاومت جزئی (مقاومت کمی)[۶۸] تظاهر می یابند. به طور کلی، مقاومت عمودی به صورت بر همکنش ژنوتیپ‌های مختلف میزبان با نژاد های فیزیولوژیک مختلف بیمارگر تعریف می شود و اغلب ناشی از عمل تک ژن‌ها است (Vanderplank, 2012). این نوع مقاومت که مقاومت اختصاصی نژاد نیز نامیده می‌شود، توسط ژن‌های مقاومت (R) کنترل می‌شود که گیرنده‌های ایمنی سطح سلول را کد می‌کنند. ماحصل این فرایند توانایی شناسایی مولکول‌های حفاظت شده یا پروتئین‌های (*AVR*) [۶۹]پاتوژن را دارند که در نهایت منجر به پاسخ فوق حساسیت [70](HR) می‌شود. این نوع مقاومت اغلب با مقاومت کامل به بیماری همراه است و در کل چرخه زندگی گیاهان میزبان بسیار مؤثر هستند (مقاومت در تمام مراحل)، اما دوام پایینی دارند(Miedaner, 2016) . مقاومت‌های عمودی اغلب

[67] - Complete resistance (qualitative resistance)
[68] - Partial resistance (quantitative resistance)
[69] - Avirulence (*Avr*) proteins
[70] - Hypersensitive response

تک‌ژنی بوده و معمولاً در اثر یک پاسخ فوق حساسیت (HR) ایجاد می‌شوند. ژن‌های (*Avr*) در بسیاری از قارچ‌ها وجود دارند که یک رابطه ژن در مقابل ژن با گیاه میزبان خود دارند. مرگ سریع سلول‌های آلوده میزبان پس از شناسایی محصول ژنی یک بیمارگر که توسط یک ژن غیربیماری‌زا (*Avr*) تولید می‌شود، توسط یک محصول ژنی از گیاه که توسط ژن مقاومت مربوطه (*R*) تولید شده است، القا می‌شود و منجر به واکنش ناسازگار یا مقاومت می‌شود. اگر گیاه فقط آلل‌های حساس در این مکان (r) داشته باشد، واکنش همیشه مستقل از ژنوتیپ عامل بیماری به صورت سازگار (حساسیت) است (Miedaner 2016). در سیستم مقاومت عمودی، برای ایجاد مقاومت به طیف وسیعی از نژادهای فیزیولوژیک، اقدام به هرمی‌سازی ژن‌ها[۷۱] می‌نمایند. در این روش، لاین‌ها و یا مواد ژنتیکی واجد انواع ژن‌های مقاومت با یکدیگر به‌طور متوالی و متقارب تلاقی یافته و در نهایت یک جمعیت و یا لاین نهایی واجد تقریبا تمامی ژن‌های مقاومت موجود در مواد اولیه تلاقی‌ها به دست می‌آید. همچنین ممکن است منابع مقاومت به انواع بیماری‌ها نیز به این طریق در یک جمعیت و یا لاین پیشرفته توسط تلاقی‌های متقارب تجمیع گردد. با توجه به امکان بالای شکسته شدن مقاومت‌های عمودی، ضروری است که تشکیل چنین جمعیت‌هایی به طور مداوم و با دخالت گونه‌های وحشی خویشاوند (به عنوان منابع مقاومت) انجام پذیرد. مقاومت عمودی در سطح تک بوته و یا لاین خالص دارای مفهوم است.

در مقابل، مقاومت افقی یا کمی به بیماری، یک فنوتیپ مقاومتی ناقص یا جزئی را نشان می‌دهد و توسط چندین ژن با اثر کوچک کنترل می‌شود. ژن‌های موثر در مقاومت کمی به عنوان ژن‌های فرعی شناخته می‌شوند و به صورت جایگاه‌های کمی صفت (QTL) نقشه‌یابی می‌شوند(Nelson et al., 2018) . از انجا که مقاومت‌های افقی معمولا توسط تعداد زیادی ژن ایجاد می‌شودو هر بوته و یا لاین واجد همه این ژن‌ها نمی‌باشد، مقاومت کامل در سطح تک بوته و یا جمعیت مشاهده نمی‌شود، اما میانگین کلی مقابله با بیمارگر در جوامع واجد این ژن‌ها بیشتر از جوامع فاقد آن‌ها است. در این نوع مقاومت، سطح متوسطی از ممانعت از گسترش بیماری در سطح جمعیت وجود دارد. بنابراین مفهوم جمعیتی دارد. مقاومت های کمی معمولاً به طور جزئی بیان می شوند و پایداری بالاتری دارند. این نوع مقاومت، از طریق کاهش تناوب آلودگی، افزایش دوره کمون بیماری و همچنین کاهش حجم و اندازه اسپورها، میزان بیماری تولید شده را کاهش می‌دهد. مقاومت‌های کمی توسط چندین ژن به ارث می رسد معمولا با یکدیگر اثر متقابل (اپیستازیس[۷۲]) داشته و بیان آنها تحت تاثیر محیط قرار دارند. در حالی که یک مقاومت کامل و کیفی را فقط می‌توان در پایان اپیدمی رتبه بندی کرد، برای مقاومت های کمی زمان بهینه برای تمایز ژنوتیپی وجود دارد.

آفتابگردان مستعد ابتلا به بسیاری از بیماری‌های محدودکننده عملکرد است که عمدتاً توسط پاتوژن‌هایی ایجاد می‌شوند که برای هزاران سال با آفتابگردان تکامل یافته‌اند (Gontcharov et al., 2023). در این میان بیماری‌های ناشی از قارچ‌های مختلف، بیشترین خسارت را به محصول تولیدی وارد می‌کنند که شایع‌ترین آنها در مناطق کشت آفتابگردان شامل زنگ (*Puccinia helianthin* Schwein.)، سفیدک داخلی (*Plasmopara halstedii* (Farl.)Berl. & de Toni)، پژمردگی ورتیسیلیومی (*Verticillium dahlia* Kleb.)، پوسیدگی ساقه و طبق اسکلروتینیایی ((*Sclerotinia sclerotiorum* Lib. (de Bary))، ساق سیاه (*Phoma macdonaldii* Boerema)، پوسیدگی رایزوپوسی طبق (*Rhizopus* spp.)، پوسیدگی ذغالی ساقه (*Macrophomina phaseolina* Tassi Goid.) و شانکر فوموپسیس ساقه (*Diaporthe* spp.) اشاره کرد.

برنامه‌های اصلاحی با هدف تولید واریته‌هایی با مقاومت بالا و پایدار در برابر بیماری باید جایگاه‌های مقاومت متنوع (کمی و کیفی) را با کمترین اثرات نامطلوب بر سایر صفات مورد نظر با هم ترکیب کنند. با توجه به عدم ثبات ژن‌های مقاومت منفرد در مقاومت

[71] - Gene pyramiding
[72] - Epistasis

کیفی، ترکیب آنها با ژن‌های مقاومت کمی می‌تواند به محافظت از محصول کمک کند. اگرچه ایجاد اشکال پیچیده مقاومت به طور کلی دشوارتر از ایجاد اشکال ساده تر و شکننده‌تر است، اما امکان جمع آوری مقاومت چند ژنی از طریق انتخاب فنوتیپی و/یا ژنوتیپی وجود دارد. با توجه به مطالب بالا، لزوم توجه به تجمیع انواع سازو کار ها و مولفه‌های تحمل نسبت به عوامل بیمارگر نکروتروف آشکار می‌گردد.

طبقه بندی سیستم‌های بیمارگر بر حسب نوع مقاومت

همانگونه که قبلا ذکر گردید، بر اساس نوع رفتار میزبان و بیمارگر در شکل‌گیری و بروز مقاومت‌ها، دو نوع مقاومت عمودی و افقی قابل مشاهده است. از آنجا که نوع راهبرد انتخابی برای پیش اصلاحی و اصلاح برای این دو نوع مقاومت متفاوت است، بیمارگرها را بر همین مبنا در دو گروه طبقه بندی می‌نماییم. بیمارگرانی که مقاومت افقی برای آنها مشاهده شده و بیمارگرانی که با مقاومت عمودی گیاه مواجه می‌شوند.

الف- بیمارگرانی که با مقاومت افقی میزبان مواجه می‌شوند

این گروه بیمارگران اغلب در دسته بیمارگران هتروتروف و یا همی-بیوتروف طبقه بندی می‌شوند که در زیر به شرح مختصر آنها پرداخته می‌شود.

آلودگی آلترناریایی

بیماری سوختگی برگی آفتابگردان، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برگی آفتابگردان در نتیجه بیماری‌زایی *Alternaria helianthi* است که تقریبا از تمامی مزارع کشت این محصول در دنیا گزارش شده است. در میان تنش‌های زیستی، بلایت (سوختگی) برگی ایجاد شده توسط *A. helianthi* به تنهایی می‌تواند میزان محصول تولیدی را بین ۱۱/۵ تا ۷۳ درصد کاهش دهد بنابراین چالش بزرگی در زمینه بهره‌وری محصول آفتابگردان به شمار می‌آید (Asish et al., 2023). بلایت آلترناریایی آفتابگردان، عملکرد دانه را از طریق کاهش تعداد دانه در طبق، اختلال در پر شدن دانه‌ها و در نهایت کاهش وزن دانه‌ها بین ۲۷ تا ۸۰ درصد و میزان روغن تولیدی محصول را بین ۱۷ تا ۳۳ درصد کاهش می‌دهد (Kgatle et al., 2020).

اگرچه، توسعه ارقام مقاوم، اقتصادی‌ترین گزینه مدیریتی موجود برای کاهش خسارت‌های بیماری است، مقاومت در برابر سوختگی برگی آلترناریایی در بیشتر هیبریدهای تجاری موجود، مشاهده نمی‌شود. گونه‌های چند ساله وحشی مانند *H. mollis* Lam.، *H. maximiliani* Schrad.، *H. divaricatus* L.، *H. occidentalis* Riddell و *H. decapetalus* L. حامل ژن‌های ایجاد کننده مقاومت در برابر بلایت آلترناریایی آفتابگردان هستند. انتخاب ارقام تجاری مقاوم به *A. helianthi* به دلیل ناسازگاری شدید آفتابگردان کشت شده و گونه های وحشی به دلیل سطوح مختلف پلوئیدی و عقیم بودن هیبریدهای تولید شده محدود است (Prabakaran & Sujatha, 2000).

سفیدک پودری

سفیدک پودری توسط قارچ *Golovinomyces latisporus* comb. nov. در مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر جهان شیوع بالایی دارد. تنها یک پاتوار از قارچ عامل بیماری وجود دارد و تا به امروز گزارشی مبنی بر وجود نژادهای فیزیولوژیکی پاتوژن وجود ندارد. بیماری در طول مرحله گل‌دهی و مراحل پس از گل‌دهی ظاهر می‌شود. منابعی از مقاومت به بیماری در گونه‌های وحشی *Helianthus* و گونه‌های زراعی آفتابگردان گزارش شده است. در گونه‌های یک‌ساله و چندساله هلیانتوس وحشی، مقاومت به عامل بیماری‌زا گزارش شده است، اما استفاده از گونه‌های دیپلوئید یک‌ساله در مطالعات اصلاحی به دلیل سازگاری متقابل آنها با آفتابگردان زراعی سودمند خواهد بود(Mulpuri et al., 2024) . قارچ عامل سفیدک پودری (*G. latisporus*) یک پارازیت وابسته و اجباری است و بنابراین مقابله با بیماری و تولید ارقام مقاوم، یک چالش بزرگ برای اصلاح‌گران آفتابگردان است.

گونه‌های *H. debilis* ssp. *silvestris*، *H. praecox* ssp. *praecox* و *Helianthus bolanderi* A. Gray و ۱۴ گونه چندساله در آزمایش‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای نسبت به سفیدک پودری تحمل نشان دادند (Saliman et al., 1982) . جان و چاندلر (۱۹۸۵) منبعی از مقاومت به پودرک mildew را در *H. debilis* ssp. *debilis* شناسایی کردند. آنها ژن‌هایی از این گونه را به زمینه زراعی وارد کردند و ایجاد یک خزانه ژنی متحمل به سفیدک پودری کردند(Jan & Chandler, 1985) . روخاس باروس و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که دو زیرگونه، *H. debilis* ssp. *debilis* (با شماره دسترسی متفاوت از آنچه جان و چاندلر استفاده کرده بودند) و *H. debilis* ssp. *vestitus* (E.E. Walton) Heiser، و *H. argophyllus* کاملاً مقاوم بودند (Rojas-Barros et al., 2005).اسکوریچ گزارش داد که هیبریدهای بین‌گونه‌ای با گونه‌های چند ساله مانند *Helianthus giganteus* L.، *H. hirsutus*، *H. divaricatus* و *H. salicifolius* هیچ نشانه‌ای از سفیدک پودری در آزمایش‌های مزرعه‌ای نداشتند(Škorić 1984) . کریستوف و ولاسکو (۲۰۰۸) اشاره کردند که دو نوع مقاومت به این پاتوژن وجود دارد: یکی توسط یک ژن غالب با منشاء گونه چند ساله *H. decapetalus* و دیگری توسط چندین ژن موجود در *Helianthus glaucophyllus* D.M. Smith، *H. ciliaris*، *Helianthus laevigatus* T. & G. و *H. tuberosus* کنترل می‌شود(Christov & Velasco, 2008)

پوسیدگی ذغالی آفتابگردان

قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid عامل بیماری‌زای خاک‌زاد و بذرزاد با توزیع جغرافیایی گسترده و عامل بوته‌میری، سوختگی گیاهچه و پوسیدگی ذغالی ساقه در بیش از ۷۰۰ میزبان گیاهی است که توانایی آلوده‌سازی تمامی اندام‌های گیاه میزبان را در تمامی مراحل رشدی گیاه، از مرحله جوانه زدن بذر تا انتهای مرحله رسیدگی فیزیولوژیک گیاه دارا می‌باشد ((Kumar & Dubey, 2023). قارچ *M. phaseolina* یکی از خسارت‌زاترین عوامل بیماری‌زای قارچی در گیاه آفتابگردان است که خسارت‌های قابل ملاحظه‌ای به محصول وارد می‌کند. در صورت شدید بودن بیماری در مزرعه و کشت ارقام حساس به بیماری، خطر از دست رفتن کل محصول وجود دارد (Cotuna et al., 2022) . کاهش قطر طبق آفتابگردان، کاهش وزن هزار دانه، کاهش کیفیت روغن تولید شده در دانه‌ها و گاهی مرگ کامل گیاه به علت وجود آلودگی شدید در مزرعه از جمله عوامل کاهش اقتصادی محصول آفتابگردان در نتیجه آلودگی به پوسیدگی ذغالی ناشی از قارچ *M. phaseolina* است. عملکرد محصول آفتابگردان در مزارع آلوده به ماکروفومینا، بین ۲۰ تا ۳۶ درصد(Jimenez-Diaz et al., 1983) و گاهی تا ۶۰ درصد (Srivastava et al., 1996) کاهش می‌یابد. در سال‌هایی که شرایط محیطی برای بیماری مناسب باشد (دمای ۲۸ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و کم بودن محتوای رطوبتی خاک) کل محصول آفتابگردان از بین می‌رود (Jimenez-Diaz et al., 1983) . شیوع بیماری در مناطق خشک و گرم (مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری) بسیار بیشتر است و با توجه به تغییرات اقلیمی ایجاد شده در کل کشورها، اهمیت این بیماری در حال افزایش است.

تحمل آفتابگردان به *M. phaseolina* افقی بوده و توسط چندین ژن کنترل می‌شود و ژن‌های کاملاً مقاوم به قارچ وجود ندارد. همه ارقام تجاری آفتابگردان به ویژه هیبریدهای با پوشش گیاهی کوتاه و ژنوتیپ‌هایی که برای کشت در مناطق خشک مناسب هستند به بیماری حساس هستند (Cvejić et al., 2024). دیواره سلولی در گیاهان، اولین خط دفاعی در گیاهان و یک سد فیزیکی است که همزمان به عنوان یک اندام حسی هم عمل می‌کند. یکی از ویژگی‌های قابل توجه در قارچ *M. phaseolina* فراوانی ژن‌های دخیل در تخریب دیواره سلولی میزبان است. در پاسخ به آلودگی ناشی از قارچ ماکروفومینا، پروفایل بیان ژن‌های مرتبط با دیواره سلولی، سطح بیان قابل توجهی را نشان می‌دهند که بیانگر نقش حیاتی این ساختار در دفاع سلولی است(Najar & Gangophadhay, 2024).

پستوویت و گوبین (۱۹۷۴) منابعی از مقاومت را در نسل‌های F_{14} هیبرید بین‌گونه‌ای *VNIIMK8931* و *H. tuberosus* یافتند(Pustovoit & Gubin, 1975) . گونه‌های وحشی مانند *Helianthus mollis* Lam.، *H. maximiliani*، *H. resinosus*، *H. tuberosus* و *H. pauciflorus* نیز در آزمایش‌های مزرعه ای مقاومت به این بیمارگر را از خود نشان دادند(Škorić, 2016).

پوسیدگی ورتیسیلیوم

پوسیدگی ورتیسیلیوم باعث ایجاد پوسیدگی ریشه‌های آفتابگردان، پژمردگی و لکه‌دار شدن برگ‌ها می شود. پوت (۱۹۶۴) منبعی از مقاومت به *V. dahliae* را در لاین CM144 کشف کرد که از یک هیبرید بین‌گونه‌ای از *H. annuus* وحشی به دست آمده بود(Putt, 1964) . *Helianthus annuus* ،. *H. petiolaris* و *H. praecox* منابع اصلی ژن V-1 برای مقاومت به پوسیدگی ورتیسیلیوم هستند (Hoes et al., 1973) . در آزمایش‌های میدانی، تنها علائم خفیف بیماری در *Helianthus*، *H. hirsutus* *occidentalis* Riddell و *H. tuberosus* گزارش شد.(Hoes et al., 1973)

سویه جدیدی از *V. dahliae* که در سال ۲۰۰۴ در داکوتای شمالی و مینه‌سوتا یافت شد، قادر به غلبه بر ژن مقاومت غالب V-1است که در آفتابگردان‌های روغنی و آجیلی مورد استفاده قرار گرفته است(Gulya, 2004) . با توجه به موفقیت‌های قبلی در یافتن ژن مقاومت V-1 در یک جمعیت وحشی *H. annuus*، منطقی است که انتظار داشته باشیم خویشاوندان وحشی آفتابگردان منبعی از ژن‌های مقاومت برای سویه جدید باشند.(Gulya, 2004)

فوماپسیس

در سه دهه گذشته، پوسیدگی قهوه‌ای ساقه فوماپسس به ویرانگرترین بیماری در سطح جهانی تبدیل شده است (Škorić, 1987) .چوک (۱۹۸۲) گزارش داد که گونه‌های وحشی یک ساله *H. debilis* و چند ساله *H. pauciflorus* منابع بالقوه‌ای از مقاومت به *P. helianthi* بودند (Cuk, 1982). اسکوریچ همچنین تحمل را در چهار لاین اینبرد گزارش کرد: دو لاین استخراج شده از *H. tuberosus* و دو لاین هر کدام استخراج شده از *H. annuus* و *H. argophyllus*. (Škorić, 1985). مقاومت به پوسیدگی قهوه‌ای ساقه فوماپسس در گونه‌های دائمی *H. maximiliani*، *H. pauciflorus*، *H. hirsutus*، *H. resinosus*، *H. mollis* و *H. tuberosus* یافت شده است (Dozet, 1990) . هیبریدهای زراعی که از *H. tuberosus* و *H. argophyllus* ایجاد شده بودند، تحمل بالایی به پوسیدگی قهوه‌ای ساقه فوموپسس در آزمایشات مزرعه ای دارند (Škorić, 1985) .

نیکولوا و همکاران (۲۰۰۴) مقاومت مزرعه ای به پوسیدگی ساقه را در نسل‌های هیبریدهای بین‌گونه‌ای از *Helianthus pumilus* Nutt مشاهده کردند(Nikolova et al., 2004) . مقاومت مزرعه ای به فوموپسس در هیبریدهای بین‌گونه‌ای مشتق شده از *H. argophyllus*، *Helianthus deserticola* Heiser، *H. tuberosus* و *Helianthus laetiflorus* Pers گزارش شده است(Degener et al., 1999) . کریستوف و ولاسکو (۲۰۰۸) گونه‌های یک ساله وحشی *H. annuus*، *H. argophyllus* و *H. debilis* و گونه‌های چند ساله *H. pauciflorus*، *H. laevigatus*، *H. glaucophyllus* و *Helianthus eggertii* Small را به عنوان منابع بالقوه مقاومت به پوسیدگی قهوه‌ای ساقه فوموپسس شناسایی کرد (Christov & Velasco, 2008) . در میان آفتابگردان‌های وحشی چند ساله، گونه دیپلوئید *H. divaricatus* به عنوان منبعی از تحمل به فوموپسس شناسایی شده است (Korell et al., 1996). مقاومت کامل به فوموپسس در هیبریدهای بین‌گونه‌ای از *H. salicifolius* توسط اسکوریچ Škorić (1987) انچوا (Encheva et al., 2006) گزارش شد.

پوسیدگی سفید (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)

پوسیدگی ساقه و طبق آفتابگردان که در نتیجه بیماری‌زایی قارچ (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) یکی از خسارت‌زاترین بیماری‌های آفتابگردان در مناطق مرطوب و یا مناطق دارای تابستان‌های بارانی است(Škorić, 2016). در تمام طول فصل رشد، آفتابگردان از سه شکل اصلی بیماری ناشی از قارچ، یعنی پژمردگی اسکلروتینیایی ساقه آفتابگردان، پوسیدگی میانی ساقه و پوسیدگی طبق خسارت می‌بینند. در شرایط آب و هوایی مساعد، اسکلروت‌ها (توده فشرده میسلیوم قارچی سخت شده) در زیر خاک جوانه می‌زند و میسلیوم‌های در حال رشد به ریشه‌های آفتابگردان حمله می‌کنند و بیماری پوسیدگی اسکلروتینیایی ساقه (که منحصر به آفتابگردان است) را تولید می‌کنند، در مقابل، پوسیدگی میانی ساقه و پوسیدگی طبق، در نتیجه تماس آسکوسپورهای قارچ با برگ‌ها و طبق گل دارای قطرات آزاد آب ایجاد می‌شود (Gulya et al., 1997). مشکل اصلی اصلاح‌گران آفتابگردان برای مقاومت به این بیماری، امکان ایجاد بیماری در روی ریشه، ساقه و طبق آفتابگردان به وسیله این قارچ است که با ساز و کارهای مختلف مقاومت کنترل می‌شوند

اسکلروتینیا به عنوان سه بیماری بر روی آفتابگردان ظاهر می‌شود و ریشه‌ها، ساقه‌ها و طبق را مورد حمله قرار می‌دهد، بنابراین نیاز به یک راهبرد پیچیده بهنژادی با شمول تعداد زیادی ژن با اثرات کوچک برای هر بیماری (پوسیدگی ریشه، ساقه و طبق) داریم. . گزارشی دال بر وجود تحمل بالایی به به اسکلروتینیا مسبب پوسیدگی طبق در نسل F1 حاصل از تلاقی بین گونه ای آفتابگردان زراعی با *H. argophyllus* وجود دارد (Christov et al., 2004) .

هان (۲۰۰۲) گزارش داد که مقاومت بالایی در بین لاین های بین‌گونه‌ای مشتق شده از *H. argophyllus* و *H. praecox* ssp. *runyonii* برای مقاومت به HR وجود دارد(Hahn, 2002) .. بلاک و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که *H. argophyllus* ، *H. praecox*، *H. debilis* و *H. neglectus*در آزمایش‌های گلخانه‌ای مقاومت برتری به BSR داشتند، به طوری که یک نمونه ژنتیکی از *H. argophyllus* (PI 649863) دارای ۹۴٪ زنده‌مانی در آزمایش‌هایی که در مزرعه آلوده انجام شده بود، بود(Block et al., 2009). سطوح بالایی از مقاومت به اسکلروتینیا در خویشاوندان وحشی *H. argophyllus*، *Helianthus niveus* (Benth) Brandegee، *H. neglectus*، *H. debilis* و *H. petiolaris*که در مؤسسه آفتابگردان ویدلواکا، روسیه غربالگری شدند، مشاهده شد(Tikhomirov & Chiryaev, 2005) . در آزمایش‌های گلخانه‌ای، کی و همکاران (۲۰۱۱) سطوح بالایی از مقاومت BSR را در نسل‌های F1 بین‌گونه‌ای از *H. argophyllus* ، *H. praecox* ssp. *runyonii* و *H. petiolaris* ssp. *fallax*گزارش کردند.(Qi et al., 2011)

گونه‌های چند ساله *Helianthus*نیز به عنوان منبعی امید بخش از مقاومت برای این مجموعه بیماری‌ها امتحان خود را پس داده اند. رشید و سیلر (۲۰۰۴) ۱۲ نمونه ژنتیکی از *H. maximiliani* و ۸ نمونه ژنتیکی از *H. nuttallii*را از کانادا شناسایی کردند که دارای مصونیت در برابر HR بودند(Rashid & Seiler, 2004) . سرابونچینی و همکاران (۲۰۰۲) ۱۴ گونه وحشی چند ساله از *Helianthus*را مورد ارزیابی قرار دادند و *H. maximiliani* AC7را به عنوان گونه‌ای با تحمل بالا به MSR شناسایی کردند (Cerboncini et al., 2002). در ادامه، در میان نسل‌های بین‌گونه‌ای شامل نمونه ژنتیکیAC7 ، مواد مقاوم به سکلروتینیا HR که امتیاز بالاتری نسبت به شاهد مقاوم داشتند، انتخاب شدند(Rönicke et al., 2004) . مقاومت به پوسیدگی میانی ساقه توسط میسیچ و همکاران (۲۰۰۵) در یک تلاقی بین‌گونه‌ای با شرکت *H. tuberosus*گزارش شد(Micic et al., 2005) هیبریدهای بین‌گونه‌ای مشتق شده از گونه های چند ساله مانند *H. nuttallii* چند ساله، *H. giganteus* و *H. maximiliani*که نشان‌دهنده مقاومت به عفونت ساقه سکلروتینیا بودند، توسط(Henn et al., 1997) گزارش شده‌اند.

ارزیابی گسترده‌ای در خصوص پوسیدگی پایه ساقه (BSR) در گلخانه توسط بلاک و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد، در این بررسی سطوح قابل توجهی از مقاومت را در تمام گونه‌های چند ساله آزمایش شده شناسایی شد، از جمله زنده‌مانی بیش از ۹۰٪ برای ۱۳ جمعیت *H. decapetalus*، ۴۲ جمعیت *H. maximiliani*، ۳۰ جمعیت *H. nuttallii* و ۱۴ جمعیت *H. giganteus*، در حالی که ۷ نمونه ژنتیکی از *Helianthus californicus* DC، ۷ نمونه ژنتیکی از *H. salicifolius*، ۹ نمونه ژنتیکی از *H. tuberosus* و ۱۳ نمونه ژنتیکی از *H. grosseserratus*دارای زنده‌مانی بودند (Block et al., 2012) . *H. resinosus* چند ساله به عنوان منبعی برای مقاومت به سکلروتینیا HR توسط موندولوت-کوسون و آنداری (۱۹۹۴) شناسایی شده است (Mondolot-Cosson & Andary, 1993). بلاک و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که دو جمعیت از *H. resinosus*، PI 650079 وPI 650082 ، دارای گیاهان مقاوم به BSR با درصد زنده‌مانی ۱۰۰٪ در غربالگری گلخانه‌ای بودند (Block et al., 2009).

مقاومت به پوسیدگی اسکلروتینیایی ساقه در آفتابگردان یک صفت چند ژنی است که توسط چندین ژن کوچک اثر کنترل می شود (Talukder et al., 2021)) و پنج ناحیه ژنومی مرتبط با مقاومت به بیماری شناسایی شد که دو تا در گروه‌های لینکاژی ۱۱ و ۱۵ و یکی در گروه لینکاژی ۱۴ قرار دارد (Paknia et al., 2020).

پیشرفت‌هایی در افزایش مقاومت به پوسیدگی پایه ساقه سکلروتینیا (BSR) در آفتابگردان زراعی حاصل شده است. میلر و گولیا (۱۹۹۹) چهار لاین نگهدارنده و چهار لاین رستورر روغنی دارای تحمل به پوسیدگی ساقه اسکلروتینیا تولید نمودند. لاین اینبرد HA 410که توسط میلر و گولیا (۱۹۹۹) معرفی شد و از یک گونه وحشی چند ساله هگزاپلوئید *H. pauciflorus* (= rigidus) به دست آمده بود، تحمل متوسطی به BSR داشت (Miller & Gulya, 1999). تلاش‌ها بر روی انتقال مقاومت BSR از گونه‌های وحشی *Helianthus* با سطوح مختلف پلوئیدی 2X، 4X و 6X به ژرم پلاسم سازگار آفتابگردان از طریق هیبریداسیون بین‌گونه‌ای متمرکز شده است (Jan et al., 2008) *H. californicus* هگزاپلوئید چند ساله که به عنوان گونه‌ای با مقاومت بالا به BSR شناسایی شده بود، با لاین HA 410 که تحمل متوسطی داشت، تلاقی داده شد (Miller & Gulya, 1999)، و سپس به طور مداوم با HA 410 تا BC4 F1 تلاقی برگشتی داده شد و تعداد کروموزوم نسل BC به2n=34 کاهش یافت (Feng et al., 2007). منابع مقاوم به اسکلروتینیا شامل خویشاوندان وحشی چند ساله دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید و آمفی‌پلوئیدهای بین‌گونه‌ای هگزاپلوئید و تتراپلوئید مشتق شده از *H. divaricatus*، *H. grosseserratus*، *H. maximiliani*، *H. nuttallii* و *H. strumosus*شناسایی شده‌اند که برای سطوح بالایی از مقاومت به BSR جداسازی شده‌اند و تنوع ژن‌های مقاومت را گسترش خواهند داد (Feng, Seiler, Gulya, et al., 2007; Liu et al., 2010).

ب- بیمارگرانی که با مقاومت افقی مواجه می‌شوند

این گروه بیمارگران اغلب در دسته بیمارگران بیوتروف طبقه بندی می‌شوند که در زیر به شرح مختصر آنها پرداخته می‌شود.

زنگ آفتابگردان

زنگ آفتابگردان، یک بیماری برگی است که در تقریباً تمام مناطق کشت آفتابگردان شیوع دارد و به دلیل ظهور نژادهای جدید و بیماری‌زا، تهدیدی دائمی به شمار می‌آید. ژن‌های مقاومت به زنگ از خویشاوندان وحشی به طور مکرر به عنوان ژن‌های غالب اختصاصی نژاد استفاده شده‌اند و به همین دلیل، عمر تجاری هیبریدها به سرعت با ظهور نژادهای جدید با بیماری‌زایی بیشتر به چالش کشیده می‌شود. خویشاوندان وحشی سال‌ها منبع مهمی از ژن‌های مقاومت به زنگ برای آفتابگردان زراعی بوده‌اند. ژن‌های مقاومت R1 و R2 که به طور گسترده‌ای در برنامه‌های اصلاحی استفاده شده‌اند، از تلاقی‌ها با خویشاوندان وحشی در تگزاس به دست آمده‌اند و اعتقاد بر این است که از اولین ژن‌های مقاومتی هستند که به طور ژنتیکی یک پاتوژن آفتابگردان را کنترل می‌کنند (Putt & Sackston, 1963).

زیمر و رهدر (۱۹۷۶) یک بررسی گسترده از بیش از ۲۰۰ جمعیت از دو گونه وحشی یک ساله (*H. annuus* و *H. petiolaris*) و پنج گونه چند ساله *H. maximiliani* ، *H. nuttallii*، *Helianthus grosseserratus* Martens، *H. pauciflorus* (rigidus) و *H. tuberosus*] از شمال مرکزی ایالات متحده انجام دادند. در ۱۹۰ جمعیت، گیاهانی که عاری از زنگ مشاهده شدند و مقاومت گسترده‌ای در جمعیت‌های وحشی سالانه از نبراسکا و کانزاس وجود داشت(Zimmer & Rehder, 1976) . قریش و جان (۱۹۹۳)

مشاهده کردند که فراوانی گیاهان مقاوم به نژادهای زنگ ۱ (نژاد فعلی ۱۰۰)، ۲ (۲۰۰)، ۳ (۵۰۰) و ۴ (۷۰۰) در ۷۸ جمعیت *H. annuus*، *H. argophyllus* و *H. petiolaris* به ترتیب ۲۵، ۲۸، ۱۵ و ۲۶ درصد بود. تنها ۱۰ درصد از گیاهان به همه چهار نژاد زنگ مقاوم بودند(Quresh & Jan, 1993) . ایمنی نسبت به زنگ در لاین هایی که از *H. tuberosus* به دست آمده‌اند گزارش شده است (Pogorletsky & Geshele, 1976). مقاومت به نژادهای غالب زنگ در آمریکای شمالی در سه گونه وحشی سالانه، *H. annuus*، *H. petiolaris* و *H. argophyllus* شناسایی شد که منجر به آزاد سازی هفت مجموعه ژنتیکی PH1 تا PH7 گردید (Jan et al., 2004).

به نظر می‌رسد که جمعیت‌های چند ساله خویشاوندان وحشی معمولاً شامل گیاهان مقاوم به زنگ هستند، اما یافتن مقاومت کامل یا حساسیت کامل در جمعیت‌ها به ندرت اتفاق می‌افتد(Quresh et al., 1993) . از آنجا که نژادهای *P. helianthi* برای هرمیزبان اختصاصی عمل می‌نمایند، گونه‌های وحشی *Helianthus* که حساس هستند، میزبان‌های انتخابی را فراهم می‌کنند که منجر به ایجاد و توسعه نژاد های جدید بیماری زا می شوند. با توجه به اینکه نژادهای زنگ به طور مداوم در حال تکامل هستند، لازم است که منابع جدیدی از مقاومت در دسترس باشد. بیمارگر زنگ می‌تواند به طور مؤثر برای مدت طولانی در آفتابگردان با استفاده از ژن‌های مقاومتی که در گونه‌های وحشی خویشاوند یافت می‌شوند کنترل شود. جالب است که هیچ آفتابگردان چند ساله‌ای بین خویشاندان وحشی شناسایی نشده است که دارای مقاومت به زنگ باشد.

سفیدک کرکی (Downy mildew)

شبه قارچ *Plasmopara halstedi* یک اوومیست بیوتروف اجباری است که به گونه‌های یک‌ساله *Helianthus* و ارقام تجاری آفتابگردان زراعی *Helianthus annuus* خسارت وارد می‌کند. علائم مشخصه بیماری بسته به مرحله رشدی آفتابگردان که آلودگی در آن اتفاق می‌افتد، از مرگ گیاهچه، کاهش رشد یا گوتولگی گیاه، سفید شدن برگ‌ها و تولید گل‌های عقیم متغیر است. خسارت سفیدک کرکی تا ۳/۵ درصد موجب کاهش عملکرد محصول می‌شود(Gascuel et al., 2015) . چهل نژاد فیزیولوژیک *P. halstedii* توصیف شده است که پنج مورد از آن‌ها (۳۳۰، ۷۱۰، ۷۳۰ و ۷۷۰) در سطح جهان توزیع شده‌اند (Viranyi & Gulya, 2015) (ویرانی و همکاران، ۲۰۱۵). مقاومت در برابر سفیدک کرکی در آفتابگردان، در بیشتر موارد، توسط یک تک‌ژن غالب (که با عنوان *Pl* مشخص شده است) کنترل می‌شود. تا به امروز، در مجموع ۴۰ ژن *Pl*، (*Plv–Plz*, Pl_1–Pl_{35} and Pl_{Arg}) از آفتابگردان زراعی و خویشاوندان وحشی آن گزارش شده است (Bhuiyan et al., 2023) . بیشتر ژن‌های *Pl* در آفتابگردان زراعی، از گونه‌های یکساله وحشی هلیانتوس از قبیل *H. annuus* L.، *H. praecox* ssp. *runyonii* و *H. argophyllus* منشا گرفته‌اند. گونه چند ساله *H. tuberosus* L. در ابتدا به عنوان حامل ژن Pl_5 گزارش شد(Miller et al., 1992) ، زیرا از واریته آزاد گرده‌افشان روسی، پروگرس، به دست آمده از این گونه ایجاد شده است.

نوع مقاومت به این بیمارگر به صورت مقاومت عمودی است. گونه‌های وحشی یک ساله آفتابگردان منبع غنی از ژن‌های *Pl* برای مقاومت به سفیدک کرکی هستند. جان و همکاران (2004b) ژرم‌پلاسم PLH1 تا PLH4 را معرفی کردند که به نژاد ۷۳۰ سفیدک کرکی مقاوم بودند و از جمعیت‌های وحشی H. annuus (Jan et al., 2004) لاین‌های ژنتیکی HA 335 و HA336 (واجد ژن Pl6) که از *H. annuus* وحشی مشتق شده اند، HA 337 تا HA 339 که از *H. praecox* ssp. *runyonii* Heiser مشتق شده اند و RHA 340 (واجد ژن Pl8) که از *H. argophyllus* مشتق شده بود، بخش عمده‌ای از مقاومت تاریخی و کنونی به سفیدک کرکی را فراهم کرده‌اند(Miller & Gulya, 1988) . ژرم پلاسم ARG-1575–2 که از *Helianthus argophyllus* به دست آمده

است(Seiler, 1991) ، حاوی لوکوس Plarg است که مقاومت به همه نژادهای شناخته شده *P. halstedii* سفیدک کرکی را سبب می شود(Gascuel et al., 2015; Gilley et al., 2016). ژن‌های *Pl6* و *Pl7* هر دو قبلاً روی LG8 از ژنوم آفتابگردان مکان یابی شده‌اند (Gascuel et al., 2015)، در حالی که مکان *Pl8* روی LG13 تعین شده است(Bachlava et al., 2011) .

محل *Plarg* بر روی گروه لینکاژی LG1 مکان یابی شده است که متفاوت از تمام دیگر ژن‌های *Pl* است که قبلاً با استفاده از نشانگرهای تکرار توالی ساده (SSR) مکان یابی شده بودند ، بنابراین، *Plarg* به عنوان منبع جدید و منحصر به فرد از مقاومت به *P. halstedii* در نظر گرفته شد(Dussle et al., 2004) .

هولکه و همکاران سه لاین ژنتیکی مقاوم به سفیدک کرکی (DM) را معرفی کردند: HA 458 که مشتق شده از خویشاوند وحشی *H. annuus* از تگزاس است، HA 459 که مشتق شده از خویشاوند وحشی *H. annuus* از آیداهو است، و HA 460 که از *H. argophyllus* از تگزاس مشتق شده است. این سه لاین به ترکیبی از بیماری‌زاترین نژادهای *P. halstedii* مقاوم هستند (Hulke et al., 2010). مقاومت به سفیدک کرکی در HA 458 توسط یک ژن غالب واحد، *Pl17*، کنترل می‌شود که در LG4 قرار دارد و اولین ژن DM کشف شده در این گروه لینکاژی است (Qi et al., 2015) . زانگ و همکاران انتقال یک ژن جدیدDM ، *Pl19*، از خویشاوند وحشی *H. annuus* از تگزاس به آفتابگردان زراعی را گزارش و این ژن را در پایین‌دست Pl17 در LG4 مکان یابی کردند(Zhang et al., 2017) . اخیراً، کی و سیلر ژرم پلاسم HA-DM1 را از منشاء *H. argophyllus* که واجد یک ژن غالب منفرد به نام *Pl18* معرفی کردند که ایمنی به تمام ایزوله‌های نژادهای *P. halstedii* نشان داد(Qi & Seiler, 2016) . نکته جالب توجه اینکه مقاومت به سفیدک کرکی و نیز زنگ در هیچ یک از گونه‌های چند ساله آفتابگردان وحشی مشاهده نشده است. مطالعاتی در خصوص شناسایی نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های مقاومت به سفیدک کرکی انجام شده است. برای مثال سلطانی و همکاران با استفاده از نشانگر های مولکولی مبتنی بر PCR قادر به ردیابی حضور ژن مقاومت *Pl13* در ژرم‌پلاسم زراعی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر شدند. همچنین با استفاده از نشانگر CAP، حضور ژن مقاومت *Pl1* در ژرم‌پلاسم زراعی آفتابگردان ایران بررسی گردید(Najafabadi et al., 2015) . اهمیت این‌گونه نشانگرها در ردیابی حضور ژن‌های مقاومت بدون نیاز به آلوده‌سازی در نسل‌های مختلف بعد از تلاقی‌ها می‌باشد. نام، منشاء و گروه لینکاژی که این ژن‌ها برای روی آنها مکان‌یابی شده اند در جدول ۲ ارایه گردیده است(Bhuiyan et al. 2023) .

ارقام آفتابگردان مقاوم به سفیدک کرکی، دو نوع فنوتیپ مقاومتی از خود نشان می‌دهند. در مقاومت نوع I رشد عامل بیماری‌زا به منطقه پایه هیپوکوتیل‌ها محدود می‌شود. در صورتی‌که در مقاومت نوع II، هیپوکوتیل‌ها به طور کامل آلوده می‌شوند و عامل بیماری‌زا لپه‌ها را هم آلوده می‌کند، اگرچه در بیشتر موارد، آلودگی به برگ‌های واقعی نمی‌رسد. در مقاومت نوع II، گیاهان علایم نکروزه و کمی اسپورزایی روی برخی لپه‌ها را نشان می‌دهند. آلودگی محدود به لپه، مشخصه مقاومت نوع II است (Bhuiyan et al., 2023) . در بسیاری از موارد، گونه‌های وحشی هلیانتوس که در برابر سفیدک کرکی مقاومت می‌کنند، به مقاومت در برابر سایر بیماری‌ها، به‌ویژه زنگ آفتابگردان نیز کمک می‌کنند. ترکیبی از مقاومت‌ها در برابر سفیدک و زنگ حتی به عنوان یک راهبرد اصلاحی در نظر گرفته شده است.

جدول ۲. فهرست کامل ژن‌های مقاوم به *Plasmopara halstedii* که تاکنون شناسایی شده‌اند(Qi & Cai, 2022)

ژن مقاومت	گروه لینکاژی	منشا ژن‌های ***Pl***	منبع

Pl_1	8	*Helianthus annuus*	AD66, RHA 265/RHA 266, HA 60
Pl_2	8	*Helianthus annuus*	HA 61, RHA 274
Pl_3	-	*Helianthus annuus*	HA 61
Pl_4	-	*Helianthus tuberosus*	HIR34
Pl_5	13	*Helianthus tuberosus*	RF-S11-5566-74-10, Novinka and Progress
Pl_6	8	*Helianthus annuus*	HA 335, HA 336
Pl_7	8	*Helianthus praecox*	HA 337, HA 338, HA 339,
Pl_8	13	*Helianthus argophyllus*	RHA 340
Pl_9	-	-	RHA 274
Pl_{10}	-	-	RHA 274, RHA 325
Pl_{Arg}	1	*Helianthus argophyllus*	ARG-1575
Pl_{11}	-	-	AMES 3235, PI 497250, RHA274, PI 497938, DM-2
Pl_{12}	-	-	AMES 3235, PI 497250, RHA274, PI 497938, DM-2
Pl_{13}	1	*Helianthus annuus*	HA-R5
Pl_{14}	1	Unknown wild sunflower species	29004, HA-R4
Pl_{15}	8	-	RNID
Pl_{16}	1	Unknown wild sunflower species	HA-R4
Pl_{17}	4	*Helianthus annuus*	PI 468435, HA 458
Pl_{18}	2	*Helianthus argophyllus*	PI 494573, HA-DM1
Pl_{19}	4	*Helianthus annuus*	PI 435414, HA-DM5
Pl_{20}	8	*Helianthus argophyllus*	PI494578, HA-DM7
Pl_{21}	13	*Helianthus annuus*	RHA 274
Pl_{22}	13	*Helianthus tuberosus*	PMI3
Pl_{23}	1	*Helianthus resinosus*	HIS33, INTER35
Pl_{24}	1	*Helianthus annuus*	HAS62
Pl_{25}	1	*Helianthus annuus*	HAS40
Pl_{26}	2	*Helianthus annuus*	HAS103
Pl_{27}	4	*Helianthus tomentosus*	HIS32
Pl_{28}	4	*Helianthus tomentosus*	HIS36
Pl_{29}	4	*Helianthus annuus*	HAS85
Pl_{30}	11	-	HAS6
Pl_{31}	13	*Helianthus annuus*	HAS42
Pl_{32}	13	*Helianthus annuus*	HAS54
Pl_{33}	4	*Helianthus annuus*	TX16R
Pl_{34}	13	*Helianthus annuus*	PI 413157, RHA 428
Pl_{35}	1	*Helianthus argophyllus*	PI 494576, HA-DM6
Pl_{36}	13	*Helianthus tuberosus*	

مقاومت به گل جالیز

مقاومت به گل جالیز (*Orobanche cumana*) از شماری از گونه های وحشی آفتابگردان وارد آفتابگردان های زراعی شده است. آلودگی به این انگل برای اولین بار در روسیه در دهه ۱۸۶۰ مشاهده شد(Antonova, 2014) ؛ اگرچه انتخاب داخل آفتابگردان‌های زراعی در ابتدا منجر به شناسایی مقاومت به این آفت گردید، در شروع دهه ۱۹۲۰، مقاومت به این انگل از گونه *H. tuberosus* وارد گونه‌های زراعی گردید. این مقاومت برای دهه‌ها تداوم یافت(Molinero-Ruiz et al., 2015) . اغلب گونه‌های چند ساله آفتابگردان دارای مقاومت از نوع مصونیت به این انگل هستند(Jan et al., 2014) . با توجه به تولید تعداد بسیار زیاد بذر توسط این انگل (تا ۱۰۰۰۰۰ بذر از هر گیاه)، بواسطه وقوع انواع نوترکیبی‌ها و جهش، مرتبا انواع نژادهای مهاجم بیماری‌زا ایجاد می‌شود که سبب شکستن مقاومت‌ها می شود(Škorić & Pacureanu, 2010)

جوانه‌زنی *O. cumana* وابسته به ترشحات ریشه گیاه میزبان است که ظاهراً آفتابگردان زراعی و اکثر گونه‌های وحشی یکساله چنین ترشحاتی را تولید می‌کنند اما در اکثر گونه‌های چندساله و برخی گونه‌های یکساله تولید نمی‌شود. البته لازم به ذکر است که جوانه زنی بذر فقط اولین مرحله از یک فرآیند چند مرحله‌ای انگلی است.(Louarn et al., 2016) و چنانچه انگل در فقدان و یا غلظت زیر حد آستانه اثر جوانه بزند، نیاز به مبارزه به اشکال مختلف وجود خواهد داشت.

تا به امروز، مقاومت به نژادهای جدید بیماری‌زای این انگل در خویشاوند(ان) وحشی آفتابگردان شناسایی و به ذخایر اصلاحی زراعی وارد شده است؛ با این حال، تغییرات سریع اخیر در جمعیت‌های *O. cumana* و افزایش بیماری‌زایی، مدیریت این تنش زیستی را به یک نگرانی مداوم تبدیل کرده است.(Velasco Varo et al., 2016)

روش نیل به هدف

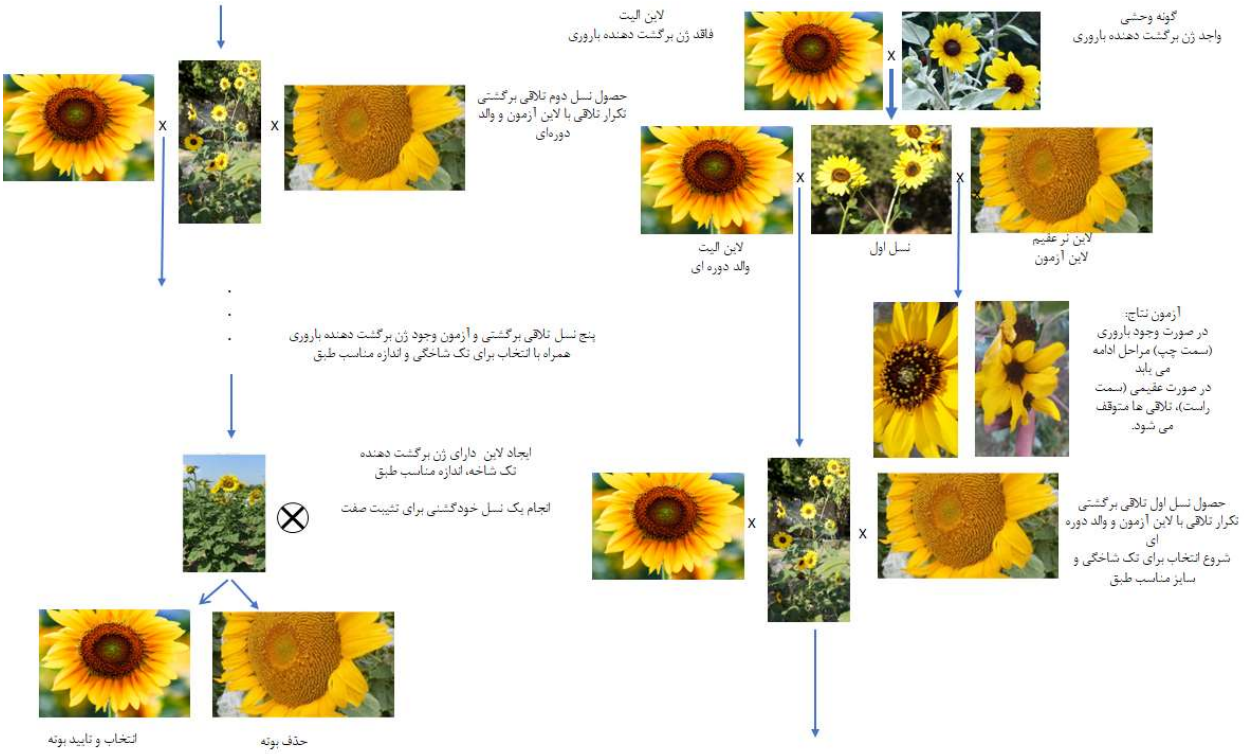
در پیش اصلاحی راهبردهای متفاوتی مطرح است که بسته به هدف مورد نظر تعریف می‌شوند. اهداف پیش اصلاحی می‌تواند شامل یکی از موارد زیر باشد:

۱- بر طرف نمودن یک نقیصه در ارقام برتر موجود که ژن یا ساز و کار مرتبط در بین ارقام تجاری وجود ندارد و یا نیاز به ورود ژن یا تعدادی معدودی ژن درگیر در بروز یک صفت کیفی دارد.
۲- اصلاح و ایجاد لاین‌های مقاوم و یا متحمل به صفتی کمی مانند تحمل به شوری، خشکی و بیماری‌های نکروتروف (هرمی کردن ژن‌ها و ساز و کارها)
۳- - ایجاد جوامع متنوع واجد خصوصیات ارقام برتر موجود به عنوان جوامع پایه واجد انواع صفات و ژن‌های مفید برای استخراج لاین‌های اینبرد برای شرایط تغییر اقلیم

متناسب با هر کدام از این اهداف، راهبرد پیش اصلاحی خاص خود اتخاذ می گردد:

۱- چنانچه هدف از پیش اصلاحی بر طرف نمودن یک نقیصه در ارقام برتر موجود باشد که ژن یا ساز و کار مرتبط در بین ارقام تجاری وجود نداشته باشد و یا نیاز به ورود شکل جدیدی (آلل و یا ژن جدید) از صفت باشد.

انتقال و وارد نمودن ژن‌های مقاومت به نژادهای جدید بیماری سفیدک کرکی از منابع ؤحشی، ژن برگشت دهنده باروری از خویشاوندان وحشی، ژن(های) مقاومت به بیماری‌هایی که در جوامع جهش یافته ایجاد شده اند نمونه هایی از کاربرد این روش هستند. در این صورت هر کدام از مواد ژنتیکی فوق الذکر (گونه وحشی، جمعیت جهش یافته، لاین مهندسی ژنتیک شده) مورد تلاقی با رقمبرتر موجود و سپس چندین نسل تلاقی برگشتی با رقم برتر موجود به عنوان والد دوره‌ای قرار می‌گیرد. در هر نسل تلاقی برای صفت مورد نظر و همچنین زمینه ژنتیکی رقم برتر موجود انتخاب صورت می‌گیرد (شکل ۱۶). این رویه برای صفاتی که وراثت پذیری بالا داشته و یا توسط ژن‌های بزرگ اثر کنترل می‌شوند کارآیی دارد. اینتروگرشن حالت خاصی از این نوع راهبرد است. در اینتروگرشن، تلاقی برگشتی برای چندین نسل با والد زراعی بر روی تلاقی بین گونه‌ای انجام می گیرد. در اختیار داشتن نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن رمز کننده صفت مورد نظر، باعث کاهش پیچیدگی‌ها و حجم کار خواهد شد.



شکل ۱۶. انتقال ژن برگشت دهنده باروری از گونه وحشی آفتابگردان به آفتابگردان زراعی. در هر نسل، به طور هم‌زمان تلاقی آزمون برای اطمینان از وجود ژن برگشت دهنده باروری و نیز تلاقی با والد دوره‌ای انجام می گیرد. همچنین در هر نسل، انتخاب برای تک شاخگی و اندازه طبق صورت می‌گیرد. پس از چندین نسل تلاقی برگشتی، به منظور تثبیت صفت مورد نظر، یک نسل خود گشنی انجام خواهد شد.

خروجی برنامه پیش اصلاحی می تواند به یکی از دو شکل زیر باشد:

الف-توسعه مواد واسطه[۷۳]

محصولات نهایی پیش‌اصلاحی، لاین های اصلاحی حد واسط یا ژرم‌پلاسم‌هایی هستند که ویژگی‌های مطلوب را در خود دارند. این مواد به عنوان پایه‌ای برای تلاش‌های بیشتر در زمینه اصلاح نباتات که هدف آن توسعه ارقام جدید است، عمل می‌کنند.

ب-ایجاد جوامع با پایه ژنتیکی قوی و متنوع

محصول نهایی پیش اصلاحی می‌تواند مخازن ژنی متنوع حامل انواع صفات برای سناریوهای مختلف باشد.

[73] - Intermediate materials

هرمی کردن ژن‌ها و ساز و کارها

از آن‌جا که ساز و کارهای دخیل در شکل‌گیری یک صفت کمی مانند تحمل به تنش‌های غیر زنده و یا بیماری‌هایی مانند اسکلروتینیا متنوع است و نیز گیاهان داخل هر توده هر کدام ممکن است از ساز و کاری متفاوت با تنش مقابله نمایند، برای تجمیع مولفه های تحمل و نیز ساز و کارهای مختلف تحمل، باید مواد ژنتیکی گیاهی واجد این مولفه ها را با یکدیگر تلاقی داد (شکل ۱۷). نکته مهمی که در اجرای این راهبرد بایستی مد نظر قرار گیرد، مولفه‌های تشکیل دهنده صفت مورد نظر است. برای مثال، در شکل گیری صفتی مانند تحمل به شوری، انواع ساز و کارها نظیر حجره بنده یون‌ها، رجحان جذب یون‌های پتاسیم نسبت به سدیم، ترشح نمک جذب شده به محیط خاک از ریشه و یا سطح برگ، توان تنظیم اسمزی گیاه، قدرت آنتی اکسیدانی، مقاومت بافتی که شامل محافظت از سیستم‌های آنزیمی حیاتی مانند آنزیم‌های دخیل در متابولیسم اولیه گیاه است، دخیل می‌باشند. هر کدام از این ساز و کارها را به تنهایی مولفه تحمل می‌نامیم. آنچه بدیهی است بسیاری از این مولفه‌ها در طی تکامل گیاه زراعی از مسیر تکامل گونه مورد نظر جدا و وارد گونه‌های دیگر شده است (شکل ۳). بنابراین، هنر اصلاح نباتات برای ایجاد گیاه، لاین یا واریته متحمل به تنش شوری، تجمیع تا حد امکان این ساز و کارها در یک زمینه ژنتیکی است. همچنین بواسطه عدم نیاز به وجود برخی از ژن‌ها، این ژن‌ها به صورت غیر فعال در آمده ند که جهش‌های القایی شانس فعال شدن آنها را افزایش می‌دهند. با غربالگری درون مواد ژنتیکی برای ردیابی حضور انواع متحمل و یا انواعی که دارای مولفه‌ای از تحمل می‌باشد، مواد شروع کننده هرمی سازی (اجزای بلوک‌های تلاقی) فراهم می‌گردد. هرمی سازی ساز و کارها در واقع تجمیع انواع مولفه‌های تحمل و یا یک صفت کمی در یک زمینه ژنتیکی است.

سهم هر مولفه در بلوک‌های تلاقی

بیولوژی در بستر تعاملات متوازن و وزن‌دار جاری است. برای بروز هر صفت، نیاز به حضور اجزای تشکیل دهنده آن صفت در حد متوازن است. به عبارتی گاهی یک جزء نقش مهمتری در کل سیستم (صفت) ایفا می‌نماید، اما این به معنای نادیده گرفتن نقش سایر اجزا نیست. برای مثال، در بروز صفت تحمل به خشکی در برنج، یک عامل رونویسی از خانواده C2H2 Zinc finger نقش تعیین کننده در کنترل فرایندهایی مانند تشکیل لایه کاسپارین در آندودرم و هیپودرم و نیز تنظیم اسمزی دارد. این در حالی است که سطح بیان این عامل رو نویسی بسیار کمتر از سطح بیان ژن‌های درگیر در تغییرات دیواره سلولی و بیوسنتز مواد تنظیم کننده اسمزی است(Najafabadi, 2008) .

در مطالعات QTL، اغلب سهم هر لوکوس QTL شناسایی شده در واریانس فنوتیپی کل تعیین می‌شود (سلطانی و زینلی نژاد ۱۴۰۰). چنانچه مطالعات QTL برای صفت تحمل به یک تنش (مثلا شوری) انجام گیرد، و در مطالعات دقیق‌تر بعدی سعی در نزدیک شدن تا حد امکان به لوکوس (لوکوس‌های) دخیل در صفت مورد نظر شود، امکان تعیین ژن‌های کاندیدای دخیل در صفت وجود دارد. بنابراین، با تخمین‌های قابل قبولی، امکان تعیین سهم هر ژن در بروز صفت مورد نظر وجود خواهد داشت. تجمیع مطالعات QTL انجام شده توسط محققین متعدد برای یک صفت خاص، که معمولا بر روی جوامع مختلف و روش تجزیه متنوع انجام می گیرد (MetaQTL)، دقت مطاعات را بالا برده و امکان استفاده از نتایج مطالعات در برنامههای اصلاحی را افزایش می‌دهد. در دسترس بودن چنین اطلاعاتی برای صفت مورد نظر، امکان تعیین سهم هر منبع ژنتیکی واجد هر یک از مولفه ا را فراهم خواهد نمود.

گاهی هدف تجمیع ژن‌های دخیل در بروز یک صفت کیفی مانند مقاومت عمودی به بیماری‌ها است. در این صورت دیگر مولفه‌های مذکور مطرح نبوده و مواد ژنتیکی تشکیل دهنده بلوک تلاقی، موادی خواهند بود که هر کدام یک ژن خاص (مثلا مقاوم در برابر نژاد فیزیولوژیک خاصی از عامل بیماری) را دارا باشند. گاهی هدف ترکیب و تجمیع ژن‌های دخیل در مقاومت به چند

سیستم بیمارگری مانند سفیدک کرکی و زنگ است. در این صورت نیز اجزای تشکیل دهنده بلوک تلاقی نیز شامل مواد ژنتیکی است که هر کدام به تنهایی و یا مشترکا واجد ژن‌های مقاومت به این دو بیماری باشند. در اختیار بودن نشانگرهای مولکولی پیوسته با ژن‌های مورد نظر، نیاز به سنجش بیماری[۷۴] را در نسل‌های مختلف تجمیع را مرتفع می‌نماید. با توجه به اینکه در این راهبرد، ژن‌های مشخصی تجمیع می‌شوند، این راهبرد هرمی کردن ژن‌ها نامیده می‌شود.

نمودار شماتیک راهبرد هرمی کردن ساز و کارها در شکل ۱۵ ارایه شده است. نخست انواع تلاقی‌ها در بین هر نوع ماده ژنتیکی (گونه وحشی، جمعیت جهش یافته، لاین مهندسی ژنتیک شده) انجام می‌گیرد. این تلاقی‌ها بایستی در محیط کنترل شده (ایزوله‌های زمانی یا مکانی، تحت اتاقک‌های محصور) به صورت پلی‌کراس انجام گیرد. استفاده از کندوهای زنبور عسل موفقیت تلاقی‌ها را افزایش می‌دهد. آنگاه نتاج تلاقی‌های پلی کراس که جامعه متنوع نامیده می‌شوند به صورت پلی‌کراس با یکدیگر تلاقی داده می‌شوند. در این مرحله تلاقی بین هر دو جامعه متنوع به طور مجزا انجام می‌گیرد تا هم امکان ترکیب بهتر اجزاء فراهم گردد و هم اگر افراد هر جامعه متنوع دچار مشکلاتی مانند بد سبزی و یا سایر تهدیدها قرار گیرد، سهم آن جامعه و اجزای آن در کل تلاقی‌ها حفظ گردد. این مدل تلاقی‌ها برای پنج تا شش نسل متوالی انجام خواهد گرفت. در نهایت توده‌ای ناهمگن از انواع مولفه‌ها حاصل خواهد شد که می‌توان در آن اقدام به استخراج لاین های اینبرد نمود. برای تهیه نسخه‌های مکرر از این توده و ارسال آن به مناطق مختلف (مثلا مناطق با انواع تنش‌ها)، می‌توان چندین بار(برای چند نسل) اقدام به انجام تلاقی‌های آزاد گرده افشان (پلی‌کراس) بین بوته‌های توده حاصله نمود.

هرچند هدف نهایی هرمی کردن ساز و کارها حصول مواد ژنتیکی متحمل (و نه صرفا دارای اجزاء تحمل) است، لیکن به منظور از دست ندادن مولفه‌های تحمل قبل از تشکیل توده نهایی، ارزیابی‌های تحمل تا نسل پنجم متوقف می‌گردد. پس از نسل پنجم، کشت توده در چند منطقه‌ای که تنش مورد نظر (خشکی-شوری-گرما و سرما) حاکم است، با انتخاب تک بوته‌های متحمل، می‌توان مقدمات استخراج لاین‌های متحمل را فراهم نمود. استفاده از انواع نشانگرهای مرتبط با صفت مورد نظر انتخاب در طی نسل‌های مختلف پلی کراس را کارآمدتر خواهد نمود.

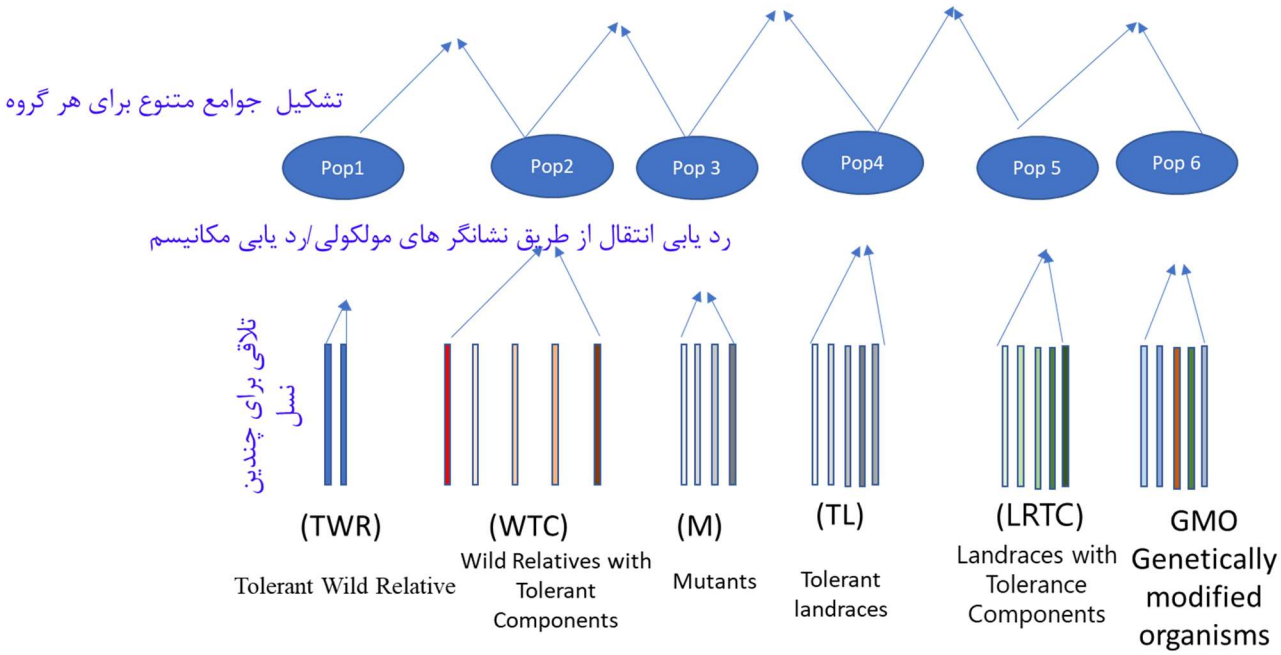
ایجاد جوامع متنوع واجد خصوصیات ارقام برتر موجود به عنوان جمعیت پایه واجد انواع صفات و ژن‌های مفید برای استخراج لاین‌های اینبرد برای شرایط تغییر اقلیم

اصول حاکم بر این راهبرد تقریبا همانند راهبرد دوم است با این تفاوت که پس از انجام چندین نسل تلاقی متقارب بین خزانه‌های ژنی حاصله و تشکیل خزانه ژنی بزرگ و متحمل که در راس هرم حاصل می‌شود، به منظور ورود خون ارقام برتر موجود و ورود صفات مطلوب زراعی موجود در ارقام برتر موجود تجاری مطلوب به این خزانه‌ها، تلاقی با یک یا چند رقم تجاری برتر (واریته مطلوب) انجام می‌گیرد. حاصل این تلاقی ها، ایجاد جوامع متنوع با پایه قوی و واجد صفات زراعی مطلوب است این جوامع پایه‌ای برای استخراج انواع لاین‌های اینبرد برای تولید هیبریدها و یا ارقام آزاد گرده افشان واجد صفات ارقام برتر موجود (مثل سازگاری‌ها) مورد استفاده قرار می‌گیرند (شکل ۱۸).

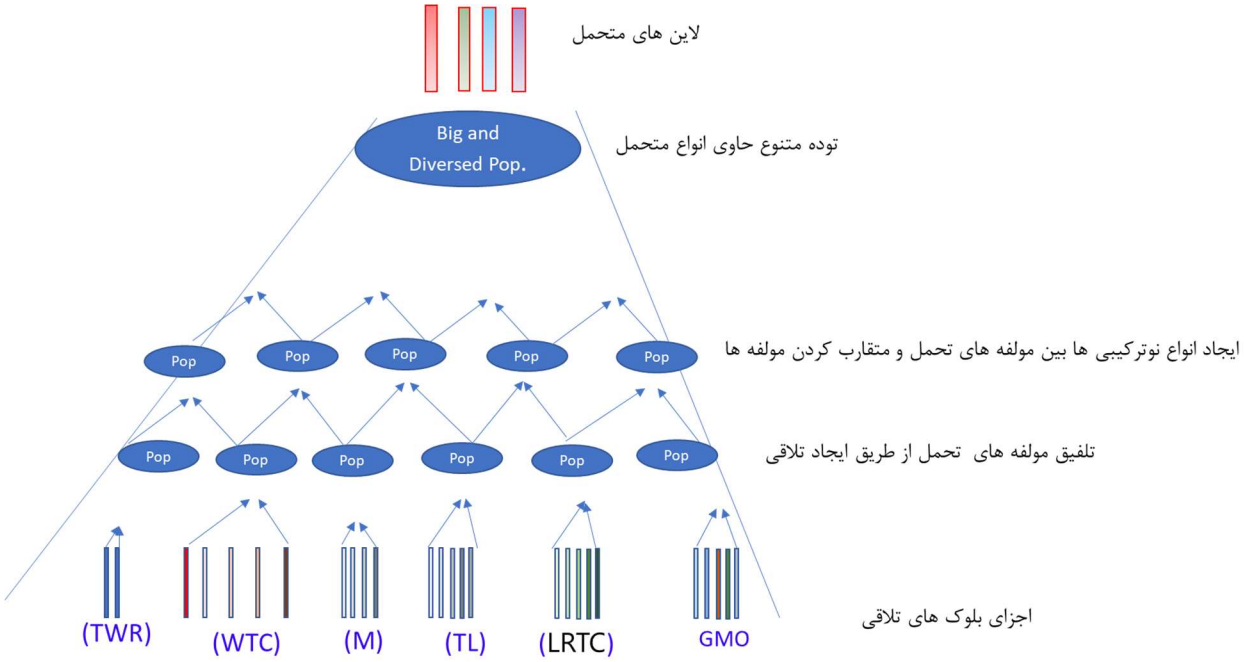
[74] - Bioassay

خلق جوامع والدینی جدید

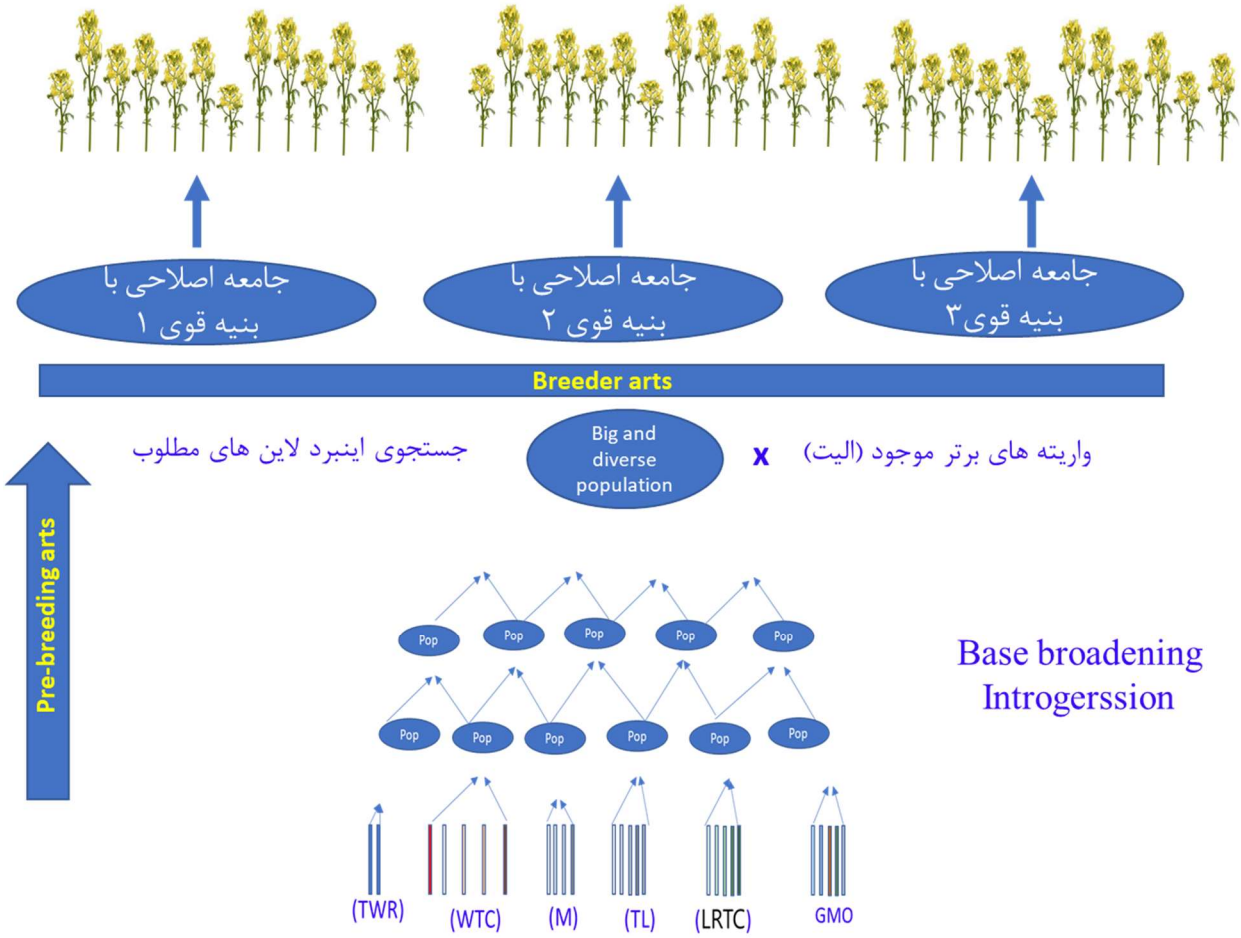
انتخاب بهترین والدین که دارای صفات مکمل و مطلوب می‌باشند پیش نیاز موفقیت برنامه‌های اصلاحی است. به همین دلیل به‌نژادگران گیاهی به طور پیوسته اقدام به انتخاب از درون جوامع والدینی پر پتانسیل از منابع متنوع (ارقام محلی، ارقام مدرن، ارقام قدیمی و ابتدایی، گونه‌های وحشی و یا نیمه وحشی) می‌نمایند. ایجاد چنین جوامعی از خروجی‌های برنامه های پیش اصلاحی است.



شکل ۱۷. الف- هرمی کردن ژن‌ها و ساز و کارها. الف- تشکیل بلوک‌های تلاقی با شرکت خویشاوندان وحشی متحمل (TWR)، خویشاوندان وحشی واجد مولفه‌هایی از تحمل (WTC)، جهش یافته‌ها (M)، لندریس‌های متحمل (TL)، لندریس‌های واجد مولفه‌هایی از تحمل (LRTC) و لاین‌های تراریخته (GMO) که برای یک یا تعدادی ژن مسوول یک یا تعدادی از مولفه‌های تحمل مهندسی شده‌اند. تلاقی داخل هر کدام از این مواد ژنتیکی انجام شده و نتاج این تلاقی‌ها در نسل بعد با یکدیگر تلاقی یافته و جوامع متنوع (Pop) مصنوعی جدید را خواهند ساخت. در این مرحله می‌توان به کمک نشانگرهای مولکولی و یا ردیابی ساز و و کار و یا مولفه خاص روند انتقال مولفه‌ها را دنبال نمود.



شکل ۱۷.ب- هرمی کردن ژن‌ها و ساز و کارها. تداوم تلاقی بین جوامع متنوع مصنوعی ایجاد شده در قسمت الف برای چند نسل دیگر و نهایتا ایجاد یک جامعه متنوع ژنی بزرگ که منبعی برای استخراج لاین‌های اینبرد متحمل خواهند بود.



شکل ۱۸. ایجاد جوامع متنوع واجد خصوصیات ارقام برتر موجود. پس از تلاقی بین اجزای تشکیل دهنده بلوک های تلاقی با شرکت خویشاوندان وحشی متحمل (TWR)، خویشاوندان وحشی واجد مولفه‌هایی از تحمل (WTC)، جهش یافته‌ها (M)، لندریس‌های متحمل (TL)، لندریس‌های واجد مولفه‌هایی از تحمل (LRTC) و لاین‌های تراریخته (GMO) که برای یک یا تعدادی ژن مسوول یک یا تعدادی از مولفه‌های تحمل مهندسی شده‌اند، و تلاقی‌های متقارب بعدی و تشکیل مخزن ژنی بزرگ و متنوع، به‌منظور ورود صفات زراعی مطلوب به این خزانه‌ها، تلاقی با یک لاین یا رقم برتر موجود (واریته مطلوب) انجام می‌گیرد. حاصل این تلاقی‌ها، ایجاد جوامع متنوع با پایه قوی و واجد صفات زراعی مطلوب است که منشاء استخراج لاین‌های اینبرد با سازگاری بالا و صفات مطلوب ارقام برترموجود خواهند بود.

گام های ضروری در اصلاح برای تحمل به تنش های محیطی

پس از انجام پیش اصلاحی، گام های زیر برای ورود به مراحل اصلاحی در جهت اصلاح برای تحمل به تنش های محیطی پیشنهاد می‌گردد: (Subbarao and Johansen , 1994)

۱- تعیین محیط هدف: چه نوع تنشی در چه محیطی رایج است؟ برای مثال تعیین این‌که چه نوع شوری (حاصل از فراوانی چه نوع نمک‌هایی) در محیط مورد نظر حاکم است؟ آیا چه محدودیت دیگری جز شوری در آن محیط هست؟ برای مثال

با تنش‌های مرکب مثل شوری و گرما مواجه هستیم؟ آیا نیمرخ[۷۵]حرارتی منطقه چگونه است؟ آیا سرمای اول فصل وجود دارد یا سرمای آخر فصل برای محصولات ایجاد محدودیت می‌نماید؟ توزیع بارندگی به چه شکل است؟ آیا شوری خاک وجود دارد و یا آب و یا هر دو؟

۲- تعیین سطح مورد نظر بهبود در تحمل. آیا گیاه حاصل تا چه سطح تنش را تحمل خواهد کرد؟ در این خصوص محدودیت های فیزیولوژیک گیاه بایستی در نظر گرفته شود. برای مثال انتظار ایجاد لوبیای متحمل به شوری دور از منطق بیولوژی است.

۳- تعیین مرحله نموی پاسخ. با توجه به محیط هدف، آیا خسارت تنش در کدام مرحله نموی شایع است؟

۴- انتخاب روش غربالگری. این موضوع متاثر از دو مورد بالا است.

۵- انتخاب شاخص انتخاب

۶- ارزیابی تنوع برای صفات مختلفی که ممکن است نقشی در بهبود تحمل به تنش داشته باشد

۷- شناسایی منابع ژنتیکی مربوط به هر کدام از این مولفه‌ها (صفات) دخیل در تحمل به تنش

۸- تعیین اساس ژنتیکی صفات (مولفه‌های) مورد نظر و تخمین وراثت پذیری آنها

۹- آغاز برنامه اصلاحی با تلفیق مولفه‌ها (صفات) گوناگون از منابع مختلف به داخل یک ژرم‌پلاسم محلی سازگار با هدف نهایی ایجاد یک رقم متحمل به تنش، ارزیابی ژنوتیپ‌ها در محیط‌ها و یا مناطق هدف در دامنه‌ای از شرایط و میکروکلیماهای درون نواحی که قرار است این رقم در آنجا تولید داشته باشد. این کار برای سنجش پتانسیل سازگاری به عنوان یک رقم جدید است.

با توجه به شور شدن فزاینده آب و خاک، تمرکز ویژه‌ای بر روی غلبه بر این مشکل در جهان انجام شده است. برای مثال گروه تحقیقاتی پروفسور مارک تستر[۷۶] طی یک پروژه تحقیقاتی معظم، موفق به ایجاد گوجه فرنگی متحمل به شوری و آبیاری با آب دریا نموده اند (Pailles et al., 2020; Jurado et al., 2024).

پنج راهکار زیر برای ایجاد گیاهان زراعی متحمل به شوری توسط فلوور و یو (۱۹۹۵) پیشنهاد شده است Flowers and Yeo (1995).

۱- زراعی کردن گونه‌های هالوفیت. معمولا هدف از پیش اصلاحی برای تحمل به تنش شوری، هالوفیت کردن یا متحمل نمودن گیاهان زراعی است، لیکن گاهی اهلی کردن و زراعی نمودن هالوفیت‌های موجود راه‌کار بهتری است.

۲- استفاده از تلاقی‌های بین گونه‌ای برای افزایش تحمل در گیاهان موجود

۳- بهره‌گیری از تنوع ژنتیکی که از قبل در خزانه ژنی گیاه مورد نظر وجود داشته است.

۴- ایجاد تنوع داخل گیاهان موجود توسط انتخاب دوره‌ای، جهش یا کشت بافت.

۵- اصلاح برای پایداری عملکرد به جای تمرکز صرف بر تحمل

[75] - Profile
[76] - Mark Tester

منابع

سلطانی نجف آبادی، م. (۱۴۰۳). عوامل موثر در شکل‌گیری عملکرد هیبریدهای آفتابگردان در کشت دوم از دیدگاه فیزیولوژی مولکولی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، در حال چاپ.

سلطانی، م.، میرفخرایی، س. ر. ق. و سعادتمند، م.(۱۴۰۲). معرفی شاخص انتخاب ژنوتیپ های آفتابگردان برای شرایط کشت دوم. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، جلد ۱۵، شماره ۴۵: ۱۶۳-۱۴۹.

سلطانی نجف آبادی، م. و زینلی نژاد، خ. (۱۴۰۰). مقدمه ای بر تجزیه و تحلیل لوکوش های کنترل کننده صفات کمی (QTLs). انتشارات دانشگاه علوم کشاورزی گرگان، ۳۰۰ صفحه.

منصوری، س. و سلطانی نجف‌آبادی.(۱۴۰۰). بررسی انعطاف رفتاری در مولفه‌های پر اثر بر عملکرد ژنوتیپ‌های کنجد در شرایط آبیاری نرمال و محدودیت آبی. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، جلد ۱۳، شماره ۳۷: ۷۵-۸۵.

سلطانی نجف آبادی، م. و تشکری میمند، ح. (۱۳۹۵). شناسایی لاینهای متحمل به سرمای آخر فصل در بین لاینهای متحمل به خشکی آفتابگردان(۱۳۹۵). گزارش نهایی، سازمان تحقیقات، اموزش و ترویج کشاورزی، شماره فروست ۵۰۲۱۶.

منصوری، س. و سلطانی، م. (۱۳۸۵). هیبریداسیون بین گونه ای: کلیدی نو برای ایجاد هیبریدهای کارآمد تر آفتابگردان. نهمین کنگره علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران.

Abebe, A., & Tafa, Z. (2021). Pre-breeding concept and role in crop improvement. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, *8*(2), 275-279 .

Acquaah, G. (2009). *Principles of plant genetics and breeding*. John Wiley & Sons .

Adams, K. L., & Wendel, J. F. (2005). Polyploidy and genome evolution in plants. *Current opinion in plant biology*, *8*(2), 135-141 .

Allinne, C., Maury, P., Sarrafi, A., & Grieu, P. (2009). Genetic control of physiological traits associated to low temperature growth in sunflower under early sowing conditions. *Plant Science*, *177*(4), 349-359 .

Alza, J., & Fernandez-Martinez, J. (1997). Genetic analysis of yield and related traits in sunflower (Helianthus annuus L.) in dryland and irrigated environments. *Euphytica*, *95*, 243-251 .

Andrew, R. L., Kane, N. C., Baute, G. J., Grassa, C. J., & Rieseberg, L. H. (2013). Recent nonhybrid origin of sunflower ecotypes in a novel habitat. *Molecular Ecology*, *22*(3), 799-813 .

Antonova, T. S. (2014). The history of interconnected evolution of Orobanche cumana Wallr. and sunflower in the Russian Federation and Kazakhstan. *Helia*, *37*(61), 215-225 .

Ashraf, M., & Waheed, A. (1990). Screening of local/exotic accessions of lentil (Lens culinaris Medic.) for salt tolerance at two growth stages. *Plant and Soil*, *128*, 167-176 .

Ashraf, M. Y., Awan, A. R., & Mahmood, K. (2012). Rehabilitation of saline ecosystems through cultivation of salt tolerant plants. *Pak. J. Bot*, *44*, 69-75 .

Asish, K. B., Thankappan, S., & Paramasivam, M. (2023) .Screening of sunflower genotypes for reaction to Alternaria leaf blight disease across multi-environments using pooled analysis. *Plant Science Today*, *10*(3), 68-74 .

Bachlava, E., Radwan, O. E., Abratti, G., Tang, S., Gao, W., Heesacker, A. F., Bazzalo, M .E., Zambelli, A., Leon, A. J., & Knapp, S. J. (2011). Downy mildew (Pl 8 and Pl 14) and rust (R Adv) resistance genes reside in close proximity to tandemly duplicated clusters of non-

TIR-like NBS-LRR-encoding genes on sunflower chromosomes 1 and 13. *Theoretical and Applied Genetics*, *122*, 1211-1221 .

Badr, N., Thalooth, A., & Mohamed, M. (2004). Effect of foliar spraying with the nutrient compound" Streen" on the growth and yield of sunflower plants subjected to water stress during various stages of growth .

Baldani, M., Cecconi, F., & Vannozzi, G. (1993). Influence of water deficit on gas exchange and dry matter accumulation in sunflower cultivars and a wild species (Helianthus argophyllus T & G) .

Baldini, M., & Vannozzi, G. (1998). Agronomic and physiological assessment of genotypic variation for drought tolerance in sunflower genotypes obtained from a cross between H. annuus and H. argophyllus .

Baldini, M., & Vannozzi, G. P. (1999). Yield relationships under drought in sunflower genotypes obtained from a wild population and cultivated sunflowers in rain-out shelter in large pots and field experiments .

Bhuiyan, M., Malek, M., Khana, N. A. K. A., Islam, M., Rahman, S., & Alam, M. A. (2023). Validated molecular marker for downy mildew disease resistance breeding of sunflower: A short review. *Journal Of Agrobiotechnology*, *14*(2), 28-43 .

Birchler, J. A., Yao, H., Chudalayandi, S., Vaiman, D., & Veitia, R. A. (2010). Heterosis. *The Plant Cell*, *22*(7), 2105-2112 .

Block, C., Gulya, T., & Marek, L. (2009). Evaluation of wild sunflower species for resistance to Sclerotinia stalk rot. *Phytopathology*, *99*, S13 .

Block, C., Marek, L., & Gulya, T. (2012). Identifying resistance to Sclerotinia stalk and root rot in perennial sunflower germplasm. *Phytopathology*, *102* ,S4 .

Bohra, A., Kilian, B., Sivasankar, S., Caccamo, M., Mba, C., McCouch, S. R., & Varshney, R. K. (2022). Reap the crop wild relatives for breeding future crops. *Trends in Biotechnology*, *40*(4), 412-431 .

Bowsher, A. W., Milton, E. F., & Donovan, L. A .(2016) .Comparison of desert-adapted Helianthus niveus (Benth.) Brandegee ssp. tephrodes (A. Gray) Heiser to cultivated *H. annuus* L. for putative drought avoidance traits at two ontogenetic stages. *Helia*, *39*(64), 1-19 .

Cabello, J. V., Giacomelli, J. I ,.Gómez, M. C., & Chan, R. L. (2017). The sunflower transcription factor HaHB11 confers tolerance to water deficit and salinity to transgenic Arabidopsis and alfalfa plants. *Journal of Biotechnology*, *257*, 35-46 .

Cechin, I., Rossi, S., Oliveira, V., & Fumis, T. d. F. (2006). Photosynthetic responses and proline content of mature and young leaves of sunflower plants under water deficit. *Photosynthetica*, *44*, 143-146 .

Cerboncini, C., Beine, G., Binsfeld, P., Dresen, B., Peisker, H., Zerwas, A., & Schnabl, H .(2002) . Source of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary In: A natural Helianthus gene pool/ resistancials contra *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary En La Populacion de grinsol (Helianthus)/resistances conter *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary En La population naturel du turnesol (Helianthus). *Helia*, *25*(36), 167-176 .

Chandler, J., & Jan, C. (1984). Identification of salt-tolerant germplasm sources in the Helianthus species. *Agron. Abstr. Am. Soc. Agron., Madison, WI, USA* .٦١ ,

Chen, J.-J., Sun, Y., Kopp, K., Oki, L., Jones, S. B., & Hipps, L. (2022). Effects of water availability on leaf trichome density and plant growth and development of Shepherdia× utahensis. *Frontiers in plant science*, *13*, 855858 .

Chen, J. (2023). A starch-and ROS-regulating heat shock protein helps maintain male fertility in heat-stressed rice plants. In: Oxford University Press US.

Christov, M., Kiryakov, I., Shindrova, P., Encheva, V., & Christova, M. (2004). Evaluation of new interspecific and intergeneric sunflower hybrids for resistance to Sclerotinia sclerotiorum. *vol*, *2*, 693-698 .

Christov, M., & Velasco, L. (2008). Helianthus species in breeding research on sunflower. Proceedings of the 17th International Sunflower Conference, Cordoba, Spain ,

Cossani, C. M., & Reynolds, M. P. (2012). Physiological traits for improving heat tolerance in wheat. *Plant Physiology*, *160*(4), 1710-1718 .

Cotuna, O., Paraschivu, M., & Sărățeanu, V. (2022). Charcoal rot of the sunflower roots and stems (Macrophomina phaseolina (Tassi) Goid.)-an overview .

Cuk, L. (1982). The uses of wild species in sunflower breeding. *J. Edible Oil Ind*, *1*, 23-27 .

Cvejić, S., Mladenov, V., Jocković, M., Krstić, M., Babec, B., Jocić, S., & Dedić, B. (2024). A comprehensive Assessment of Sunflower Genetic Diversity Against Macrophomina phaseolina. *Journal of Agricultural Sciences*, *30*(3), 513-525 .

Degener, J., Melchinger, A. E., & Hahn, V. (1999). Interspecific hybrids as source of resistance to Sclerotinia and Phomopsis in sunflower breeding .

Dewey, D. R. (1962). Breeding crested wheatgrass for salt tolerance .

Dozet, B. (1990). Resistance to Diaporthe/Phomopsis helianthi Munt.-Cvet. et al. in wild sunflower species. Proc. 12th Sunflower Research Workshop, Fargo, ND ,

Dussle, C. M., Hahn, V., Knapp, S. J., & Bauer, E. (2004). Pl Arg from Helianthus argophyllus is unlinked to other known downy mildew resistance genes in sunflower. *Theoretical and Applied Genetics*, *109*, 1083-1086 .

Edelist, C., Raffoux, X., Falque, M., Dillmann, C., Sicard, D., Rieseberg, L. H., & Karrenberg, S. (2009). Differential expression of candidate salt-tolerance genes in the halophyte Helianthus paradoxus and its glycophyte progenitors H. annuus and H. petiolaris (Asteraceae). *American Journal of Botany*, *96* .١٨٣٨-١٨٣٠ ,(١٠)

Encheva, J., Christov, M., Shindrova, P., Drumeva, M., & Encheva, V. (2006). New sunflower restorer lines developed by direct organogenesis method from interspecific cross *Helianthus annuus* L.(cv. ALBENA)× *Helianthus salicifolius* L.-DISEASE RESISTANCE, COMBINING ABILITY/NUEVOS RESTAURADORES DE GIRASOL FORMADOS POR EL MÉTODO DE ÓRGANOGENESIS DIRECTA DEL CRUZAMIENTO DE INTERESPECIES DE Helianthus annuus L.(cv. ALBENA)× Helianthus salicifolius–RESISTENCIA A ENFERMEDADES, HABILIDAD DE COMBINACIÓN/NOUVELLES LIGNÉES RESTAURATRICES DE TOURNESOL DÉVELOPPÉES PAR ORGANOGÉNÈSE DIRECTE DU CROISEMENT INTERSPÉCIFIQUE Helianthus annuus L.(cv. ALBENA) x Helianthus salicifolius–RÉSISTANCE À LA MALADIE, APTITUDE COMBINATOIRE. *Helia*, *29*(45), 95-106 .

Fang, Y & ,.Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and molecular life sciences*, *72*, 673-689 .

Feeney, L., & Berman, E. R. (1976). Oxygen toxicity: membrane damage by free radicals. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *15*(10), 789-792 .

Feng, J., Seiler, G., Gulya, T., & Jan, C. (2007). Advancement of pyramiding new Sclerotinia stem rot resistant genes from H. californicus and H. schweinitzii into cultivated sunflower. Proc. 29th Sunflower Research Workshop, January ,

Feng, J., Seiler, G., Gulya, T., Li, C., & Jan, C. (2007). Sclerotinia stem and head rot resistant germplasm development utilizing interspecific amphiploids. 29th Sunflower Research Workshop, January ,

Flowers, T., & Yeo, A. (1981). Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *New Phytologist*, *88*(2), 363-373 .

Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of experimental Botany*, *55*(396) 307-319 .

Gascuel, Q., Martinez, Y., Boniface, M. C., Vear, F., Pichon, M., & Godiard, L. (2015). The sunflower downy mildew pathogen P lasmopara halstedii. *Molecular Plant Pathology*, *16*(2), 109-122 .

Gilley, M., Misar, C., Gulya, T., & Markell, S .(2016) .Prevalence and virulence of Plasmopara halstedii (downy mildew) in sunflowers. Proceedings of the 38th Sunflower Research Forum, Fargo, ND ,

Glazebrook, J. (2005). Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.*, *43*(1), 205-227 .

Gontcharov, S., Beregovskaya, E., & Goloschapova, N. (2023). Sunflower (*Helianthus annuus* L.) breeding for durable resistance to Downy mildew (Plasmopara halstedii). *Helia*, *46*(78), 53-59 .

González Castro, M. E., Palacios Rojas, N., Espinoza Banda, A., & Bedoya Salazar, C. A. (2013). Diversidad genética en maíces nativos mexicanos tropicales. *Revista fitotecnia mexicana*, *36*, 239-338 .

Greenway, H., & Munns, R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes .*Annual review of plant physiology*, *31*(1), 149-190 .

Gregoria, G. B., Senadhira, D., & Mendoza, R. D. (1997). Screening rice for salinity tolerance .

Gross, B. L., & Rieseberg, L. (2005). The ecological genetics of homoploid hybrid speciation. *Journal of heredity*, *96*(3), 241-252 .

Gu, Z., Steinmetz, L. M., Gu, X., Scharfe, C., Davis, R. W., & Li, W.-H. (2003). Role of duplicate genes in genetic robustness against null mutations. *Nature*, *421*(6918), 63-66 .

Gulya, T. (2004). Two new Verticillium threats to sunflower in North America. Proceedings 26th Sunflower Research Workshop, January ,

Gulya, T., Rashid, K. Y., & Masirevic, S. M. (1997). Sunflower diseases. *Sunflower technology and production*, *35*, 263-379 .

Guo, J., Shan, C., Zhang, Y., Wang, X., Tian, H ,.Han, G., Zhang, Y., & Wang, B. (2022). Mechanisms of salt tolerance and molecular breeding of salt-tolerant ornamental plants. *Frontiers in plant science*, *13*, 854116 .

Gutierrez, A., Cantamutto, M., & Poverene, M. (2016). Cold stress tolerance during early growth stages of naturalized Helianthus petiolaris populations. *Helia*, *39*(64), 21-43 .

Hahn, V. (2002). Genetic variation for resistance to Sclerotinia head rot in sunflower inbred lines. *Field Crops Research*, *77*(2-3), 153-159 .

Hajjar, R., & Hodgkin ,T. (2007). The use of wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica*, *156*, 1-13 .

Hallauer, A. R., Carena, M. J., & Miranda Filho, J. d. (2010). *Quantitative genetics in maize breeding* (Vol. 6). Springer Science & Business Media .

Hardwick, R. (1978). *Germination and Hypocotyl Growth in Helianthus Annuus (L) as Influenced by Differential Salt Treatments* California State University, Fresno .[

Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International journal of molecular sciences*, *14*(5), 9643-9684 .

Haussmann, B., Parzies, H., Presterl, T., Sušić, Z., & Miedaner, T. (2004). Plant genetic resources in crop improvement. *Plant genetic resources*, *2*(1), 3-21 .

Henn, H., Steiner, U., Wingender, R., & Schnabl, H. (1997). Wildtype sunflower clones: source for resistance against Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary stem infection .

Hernández ,F., Poverene, M., Mercer, K. L., & Presotto, A. (2020). Genetic variation for tolerance to extreme temperatures in wild and cultivated sunflower (*Helianthus annuus*) during early vegetative phases. *Crop and Pasture Science*, *71*(6), 578-591 .

Hincha, D. K & ,.Thalhammer, A. (2012). LEA proteins: IDPs with versatile functions in cellular dehydration tolerance. *Biochemical Society Transactions*, *40*(5), 1000-1003 .

Hoes, J., Putt, E., & Enns, H. (1973). Resistance to Verticillium wilt in collections of wild Helianthus in North America .*Phytopathology*, 63(12), 517-1520.

Holland, J. B. (2004). Breeding: Incorporation of exotic germplasm. *Encyclopedia of Plant and Crop Science. Marcel Dekker, Inc., New York*, 222-224 .

Hulke, B., Miller, J., Gulya, T., & Vick, B. (2010). Registration of the oilseed sunflower genetic stocks HA 458, HA 459, and HA 460 possessing genes for resistance to downy mildew. *Journal of Plant Registrations*, *4*(1), 93-97 .

Hussain, M. M., Rauf, S., & Warburton, M. L. (2019). Development of drought-tolerant breeding lines derived from *Helianthus annuus*× *H. argophyllus* interspecific crosses. *Plant Breeding*, *138*(6), 862-870 .

Jain, S. Omprakash (2019) Pre-breeding: a bridge between genetic resources and crop improvement. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, *8*(2), 1998-2007 .

Jain, S .(٢٠١٩) .Omprakash (2019) Pre-breeding: a bridge between genetic resources and crop improvement. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, *8*(2), 1998-2007 .

Jan, C.-C., Liu, Z., Seiler, G. J., Velasco, L., Pérez-Vich, B., & Fernandez-Martinez, J. (2014). Broomrape (Orobanche cumana Wallr.) resistance breeding utilizing wild Helianthus species. *Helia*, *37*(61), 141-150 .

Jan, C.-C., Seiler, G. J., Gulya, T. J., & Feng, J. (2008). Sunflower germplasm development utilizing wild Helianthus species. Proc 17th Intl. Sunflower Conf., Cordoba, Spain ,

Jan, C., & Chandler, J. (1985). Transfer of powdery mildew resistance from Helianthus debilis Nutt. To cultivated sunflower 1. *Crop Science*, *25*(4), 664-666 .

Jan, C., Tan, A., & Gulya, T. (2004). Registration of four downy mildew resistant sunflower germplasms. *Crop Science*, *44*(5), 1887-1888 .

Jimenez-Diaz, R., Blanco-López, M., & Sackston, W. (1983). Incidence and distribution of charcoal rot of sunflower caused by Macrophomina phaseolina in Spain .

Jurado, C., Díaz-Vivancos, P., Gregorio, B. E., Acosta-Motos, J. R., & Hernández, J. A. (2024). Effect of halophyte-based management in physiological and biochemical responses of tomato plants under moderately saline greenhouse conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, *206*, 108228.

Kantar, M. B., Baute, G. J., Bock, D. G., & Rieseberg, L. H. (2014). Genomic variation in Helianthus: learning from the past and looking to the future. *Briefings in Functional Genomics*, *13*(4), 328-340 .

Karrenberg, S., Edelist, C., Lexer, C., & Rieseberg, L. (2006). Response to salinity in the homoploid hybrid species *Helianthus paradoxus* and its progenitors H. annuus and *H. petiolaris*. *New Phytologist*, *170*(3), 615-629 .

Kgatle, M., Flett, B., Truter, M., & Aveling, T. (2020). Control of Alternaria leaf blight caused by Alternaria alternata on sunflower using fungicides and Bacillus amyloliquefaciens. *Crop Protection*, *132*, 105146 .

Kim, J.-S., Kidokoro, S., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2024). Regulatory networks in plant responses to drought and cold stress. *Plant Physiology*, *195*(1), 170-189 .

Korell, M., Brahm, L., Friedt, W., & Horn, R. (1996). Interspecific and intergeneric hybridization in sunflower breeding. II. Specific uses of wild germplasm .

Kumar, P., & Dubey, R. C. (2023). *Macrophomina phaseolina: ecobiology, pathology and management*. Elsevier .

Kumar, V., & Shukla, Y. (2014). Pre-breeding: its applications in crop improvement. *Double Helix Res*, *16*, 199-202 .

Lazaridi, E., Kapazoglou, A., Gerakari, M., Kleftogianni, K., Passa, K., Sarri, E., Papasotiropoulos, V ,.Tani, E., & Bebeli, P. J. (2024). Crop landraces and indigenous varieties: A valuable source of genes for plant breeding. *Plants*, *13*(6), 758 .

Levings 3rd, C. (1993). Thoughts on cytoplasmic male sterility in cms-T maize. *The Plant Cell*, *5*(10), 1285 .

Levitt, J. (1980). Response of plants to environmental. *Stress*, *2*, 607 .

Lexer, C., Lai, Z., & Rieseberg, L. H. (2004). Candidate gene polymorphisms associated with salt tolerance in wild sunflower hybrids: implications for the origin of Helianthus paradoxus, a diploid hybrid species. *New Phytologist*, *161*(1), 225-233 .

Li, W., Zhang, H., Zeng, Y., Xiang, L., Lei, Z., Huang, Q., Li, T., Shen, F., & Cheng, Q. (2020). A salt tolerance evaluation method for sunflower (*Helianthus annuus* L.) at the seed germination stage. *Scientific Reports*, *10*(1), 10626 .

Liu, J., Moyankova, D., Djilianov, D., & Deng, X. (2019). Common and specific mechanisms of desiccation tolerance in two Gesneriaceae resurrection plants. Multiomics evidences. *Frontiers in plant science*, *10*, 1067

Liu, M., Li, Y., Ma, Y., Zhao, Q., Stiller, J., Feng, Q., Tian, Q., Liu, D., Han, B., & Liu, C. (2020). The draft genome of a wild barley genotype reveals its enrichment in genes related to biotic and abiotic stresses compared to cultivated barley .*Plant biotechnology journal*, *18*(2), 443-456 .

Liu, Z., Cai, X., Seiler, G. J., Gulya, T. J., Rashid, K. Y., & Jan, C. (2010). Transferring sclerotinia resistance genes from wild Helianthus species into cultivated sunflower. 32nd sunflower research workshop, Fargo ,

Louarn, J., Boniface, M.-C., Pouilly, N., Velasco, L., Pérez-Vich, B., Vincourt, P., & Muños, S. (2016). Sunflower resistance to broomrape (Orobanche cumana) is controlled by specific QTLs for different parasitism stages. *Frontiers in plant science*, *7*, 590 .

Lusser, M., Parisi, C., Plan, D., & Rodríguez-Cerezo, E. (2012). Deployment of new biotechnologies in plant breeding. *Nature biotechnology*, *30*(3), 231-239 .

Lynch, M., & Walsh, B. (2007). *The origins of genome architecture.*. Sinauer associates Sunderland, MA .483Pp

Madlung, A. (2013). Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. *Heredity*, *110*(2), 99-104 .

Manavella, P. A., Arce, A. L., Dezar, C. A., Bitton, F., Renou, J. P., Crespi, M & ,.Chan, R. L. (2006). Cross-talk between ethylene and drought signalling pathways is mediated by the sunflower Hahb-4 transcription factor. *The Plant Journal*, *48*(1), 125-137 .

Mansouri, S., Najafabadi, M. S., Esmailov, M., & Aghaee, M. (2014). Functional factor Analysis in sesame under water-limiting stress: new concept on an old method. *Plant Breeding and Seed Science*, *70*, 91-104 .

Mapuranga, J., Zhang, N., Zhang, L., Chang, J., & Yang, W. (2022). Infection strategies and pathogenicity of biotrophic plant fungal pathogens. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 799396 .

Martin, M., Molfetta, P., Vannozzi, G., & Zerbi, G. (1992). Mechanisms of drought resistance of Helianthus annuus and H. argophyllus. Proc. 13th Int. Sunflower Conf., Pisa, Italy ,

Mianlengeh, Z. E ,.Najafabadi, M. S., Saidi, A., & Askari, H. (2018). Monitoring response of a few bZIP transcription factors in response to osmotic stress in sunflower. *Iranian Journal of Biotechnology*, *16,(2).*

Micic, Z., Hahn, V., Bauer, E., Melchinger, A., Knapp, S ,.Tang, S., & Schön, C. (2005). Identification and validation of QTL for Sclerotinia midstalk rot resistance in sunflower by selective genotyping. *Theoretical and Applied Genetics*, *111*, 233-242 .

Miedaner, T. (2016). Breeding strategies for improving plant resistance to diseases. *Advances in plant breeding strategies: Agronomic, abiotic and biotic stress traits*, 561-599 .

Miller, J. (1995). Inheritance of salt tolerance in sunflower. *HELIA*, *18*, 9-16 .

Miller, J., & Gulya, T. (1988). Registration of six downy mildew resistant sunflower germplasm lines .

Miller, J., & Gulya, T. (1999). Registration of eight Sclerotinia-tolerant sunflower germplasm lines. *Crop Science*, *39*(1), 301-302 .

Miller, J., & Seiler, G. (2003). Registration of five oilseed maintainer (HA 429-HA 433) sunflower germplasm lines. *Crop science*, *43*(6), 2313 .

Miller, J., Seiler, G., & Jan, C. (1992). Introduced germplasm use in sunflower inbred and hybrid development. *Use of Plant Introductions in Cultivar Development Part 2*, *20*, 15 .١٦٦-١

Molinero-Ruiz, L., Delavault, P., Pérez-Vich, B., Pacureanu-Joita, M., Bulos, M., Altieri, E., & Domínguez, J. (2015). History of the race structure of Orobanche cumana and the breeding of sunflower for resistance to this parasitic weed: A review .

Mondolot-Cosson, L., & Andary, C. (1993). Resistance factors of a wild species of sunflower, Helianthus resinosus, to Sclerotinia sclerotiorum. International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance 381 ,

Mulpuri, S., Thomas, H. B., Meena, H. P & ,.Dudhe, M. Y. (2024). A novel strategy to develop powdery mildew resistant phenotypes and diagnose reaction to Golovinomyces latisporus in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *131*, 102266 .

Nabhan, G. P., & Reichhardt, K. L. (1983). Hopi protection of Helianthus anomalus, a rare sunflower. *The Southwestern Naturalist*, 231-235 .

Najafabadi, M. S. (2008). *Transcription factor networks in the initial phase of drought stress in rice (Oryza sativa L.)* Potsdam University]. Potsdam .

Najafabadi, M. S., Abedini, R., Eskandari, H., & Mehrabi, R. (2015). Monitoring three Plasmopara halstedii resistance genes in Iranian sunflower inbred lines. *Iranian Journal of Biotechnology*, *13*(2), 45 .

Najafabadi, M. S., & Amirbakhtiar ,N. (2023). Evaluating and validating sunflower reference genes for Q-PCR studies under high temperature condition. *Iranian Journal of Biotechnology*, *21*(2), e3357 .

Najar, M. A., & Gangophadhay, G. (2024). Identification and validation of defense related candidate genes in Sesamum under artificial inoculation of Macrophomina phaseolina. *The Nucleus*67,497-516 .

Nelson, R., Wiesner-Hanks, T., Wisser, R., & Balint-Kurti, P. (2018). Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nature Reviews Genetics,* 19(1), 21-33. .

Neumann, P. (1997). Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant, cell & environment*, *20*(9), 1193-1198 .

Nikolova, L., Christov, M., & Seiler, G. (2004).Interspecific hybridization berween *H. pumilus* nutt. And *H. annuus* L. and their potential for cultivated sunflower improvement /LA HIBRIDIZACIÓN DE INTERSPECIES ENTRE H. pumilus NUTT. Y H. annuus L. Y SU POTENCIAL PARA EL ADELANTO DE GIRASOL/HYBRIDATION INTERSPÉCIFIQUE ENTRE H. pumilus NUTT. ET H. annuus L. ET LEUR POTENTIEL DANS L'AMÉLIORATION DU TOURNESOL CULTIVÉ. *Helia*, *27*(41), 151-162 .

Oliver, M. J., Cushman, J. C., & Koster, K. L. (2010). Dehydration tolerance in plants. *Plant stress tolerance: methods and protocols*, 3-24 .

Ortiz, R., Trethowan, R., Ferrara, G. O., Iwanaga ,M., Dodds, J. H., Crouch, J. H., Crossa, J., & Braun, H.-J. (2007). High yield potential, shuttle breeding, genetic diversity, and a new international wheat improvement strategy. *Euphytica*, *157*, 365-384 .

Pacini, E., Guarnieri, M., & Nepi, M. (2006). Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. *Protoplasma*, *228*, 73-77 .

Paknia, R., Darvishzadeh, R., Shahriari, F., Malekzadeh, S., & Maleki, H. H. (2020). Analyses of genomic regions linked with resistance to basal stem rot in sunflower (Helianthus annuus L.) under field conditions. *Iran. J. Genet. Plant Breed*, *9*, 41-50 .

Pakniyat, H., Handley, L., Thomas, W., Connolly, T., Macaulay, M., Caligari, P., & Forster, B. (1997). Comparison of shoot dry weight, Na^+ content and δ 13 C values of ari-e and other semi-dwarf barley mutants under salt-stress. *Euphytica*, *94*, 7-14 .

Pailles, Y., Awlia, M., Julkowska, M., Passone, L., Zemmouri, K., Negrão, S., Schmöckel, S.N., & Tester, M. (2020). Diverse traits contribute to salinity tolerance of wild tomato seedlings from the Galapagos Islands. *Plant physiology*, *182*(1), 534-546.

Pogorletsky, P., & Geshele, E. (1976). Sunflower immunity to broomrape and rust. Proc. 7th Int. Sunflower Conf ,

Prabakaran, A., & Sujatha, M. (2000). Breeding for Alternaria resistance in sunflower: approaches for introgression from wild sunflowers. Proceedings of the 15th International Sunflower Conference, Toulouse, France ,

Pustovoit, G., & Gubin, I. (1975). Results and prospects in sunflower breeding for group immunity by using the interspecific hybridization method .Proceedings of the sixth international sunflower conference. July 22-24, Bucharest, Romania., 373-381

Putt, E. D. (1964). Breeding behaviour of resistance to leaf mottle or Verticillium in sunflowers .

Putt, E. D., & Sackston, W. (1963). Studies on sunflower rust: IV .Two genes, R 1 and R 2 for resistance in the host. *Canadian Journal of Plant Science*, *43*(4), 490-496 .

Qi, L., & Cai, X. (2022). Characterization and mapping of a downy mildew resistance gene, Pl 36, in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Molecular Breeding*, *42*(2), 8 .

Qi, L., Gulya, T., Block, C., & Vick, B. (2011). Deployment of novel sources of Sclerotinia stalk rot resistance in sunflower. Proceedings of the 33rd Sunflower Research Forum, Fargo, ND ,

Qi, L., Long, Y., Jan, C., Ma, G., & Gulya, T. (2015 .(Pl 17 is a novel gene independent of known downy mildew resistance genes in the cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *128*, 757-767 .

Qi, L., & Seiler, G. (2016). Registration of an oilseed sunflower germplasm HA-DM1 resistant to sunflower downy mildew. *Journal of Plant Registrations*, *10*(2), 195-199 .

Quresh, Z., Jan, C., & Gulya, T. (1993). Resistance to sunflower rust and its inheritance in wild sunflower species. *Plant Breeding*, *110*(4), 297-306 .

Quresh, Z & ,.Jan, C. C. (1993). Allelic relationships among genes for resistance to sunflower rust. *Crop Science*, *33*(2), 235-238 .

Rashid, K. Y., & Seiler, G. J. (2004). Epidemiology and resistance to Sclerotinia head rot in wild sunflower species. Proceedings of the 16th International Sunflower Conference, Fargo, ND ,

Rauf, S. (2008). Breeding sunflower (*Helianthus annuus* L.) for drought tolerance. *Communications in Biometry and Crop Science*, *3*(1), 29-44 .

Rauf, S., Sadaqat, H., & Naveed, A. (2008). Effect of moisture stress on combining ability variation for bird resistance traits in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Pakistan Journal of Botany*, *40*(3), 1319-1328 .

Rauf, S., & Sadaqat, H. A. (2008). Identification of physiological traits and genotypes combined to high achene yield in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under contrasting water regimes. *Australian Journal of Crop Science*, *1*(1), 23-30 .

Richards, R., Dennett, C., Qualset, C., Epstein, E., Norlyn, J., & Winslow, M. (1987). Variation in yield of grain and biomass in wheat, barley, and triticale in a salt-affected field. *Field Crops Research*, *15*(3-4), 277-287 .

Rojas-Barros, P., Jan, C.-C., & Gulya, T. J. (2005). Transferring powdery mildew resistance genes from wild Helianthus into cultivated sunflower. Proceedings of the 27th Sunflower Research Workshop. Fargo. National Sunflower Association ,

Rönicke, S., Hahn, V., Horn, R., Grone, I., Brahm, L., Schnabl, H., & Friedt, W. (2004). Interspecific hybrids of sunflower as a source of Sclerotinia resistance. *Plant Breeding*, *123*(2), 152-157 .

Rosenthal, D. M., Stiller, V., Sperry, J. S., & Donovan, L. A. (2010). Contrasting drought tolerance strategies in two desert annuals of hybrid origin. *Journal of experimental Botany*, *61*(10), 2769-2778 .

Saadatmand, M., Soltani Najafabadi, M., & Mirfakhraei, S. R. (2024). Exploring Source-Sink Relationship for the Formation of Grain Yield in Sunflower. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 0-0 .

Saliman, M., Yang, S., & Wilson, L. (1982). Reaction of Helianthus species to Erysiphe cichoracearum .

Seiler, G. (1991). Registration of 13 downy mildew tolerant interspecific sunflower germplasm lines derived from wild annual species . Crop Science, 31(6), 1714-1716

Seiler, G. (2007). Wild annual Helianthus anomalus and H. deserticola for improving oil content and quality in sunflower. *Industrial Crops and Products*, *25*(1), 95-100 .

Seiler, G., Gulya, T., & Fredrick, M. L. (2006). Exploration for wild Helianthus species from the desert southwestern USA for potential drought tolerance/Recolección De Las Especias

Silvestres Del Género Helianthus En Las Partes Desiertas Del Suroeste De Los Ee. Uu. Como Fuentes De Tolerancia a Sequía Potenciales/Collecte D'espèces Sauvages D'helianthus Dans Les Régions Désertiques Du Sud-Ouest Des Étatsunis En Tant Que Sources Potentielles De Tolérance À La Sécheresse. *Helia*, *29*(45), 1-10 .

Seiler, G. J. (1991). Registration of 15 interspecific sunflower germplasm lines derived from wild annual species. Crop Science, 31(5), 1389-1390

Seiler, G. J., Cuk, L., & Rogers, C. E. (1981). New and interesting distribution records for *Helianthus paradoxus* Heiser (Asteraceae). The Southwestern *Naturalist*., 26(4)P. 431.

Shanker, A. K., Maddaala, A., Kumar, M. A., Yadav, S., Maheswari, M., & Venkateswarlu, B. (2012). In silico targeted genome mining and comparative modelling reveals a putative protein similar to an Arabidopsis drought tolerance DNA binding transcription factor in Chromosome 6 of Sorghum bicolor genome. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, *4*, 133-141 .

Shannon, M. (1985). Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Biosalinity in Action: Bioproduction with Saline Water*, 227-241 .

Sheoran, I. S., & Saini, H. S. (1996). Drought-induced male sterility in rice: changes in carbohydrate levels and enzyme activities associated with the inhibition of starch accumulation in pollen. *Sexual Plant Reproduction*, *9*, 161-169 .

Shimelis, H., & Laing, M. (2012). Timelines in conventional crop improvement: pre-breeding and breeding procedures. *Australian Journal of Crop Science*, *6*(11), 1542-154 .٩

Simmonds, N. (1993). Introgression and incorporation. Strategies for the use of crop genetic resources. *Biological reviews*, *68*(4), 539-562 .

Sinclair, T., & Ludlow, M. (1985). Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. *Functional Plant Biology*, *12*(3), 213-217 .

Singh, K., Kumar, S., Kumar, S. R., Singh, M., & Gupta, K. (2019). Plant genetic resources management and pre-breeding in genomics era. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, *79*(Sup-01), 117-13 .٠

Škorić, D. (1985). Sunflower breeding for resistance to Diaporthe/Phomopsis helianthi Munt.-Cvet. et al . *Helia* (8), 21-24.

Škorić, D. (1987). FAO sunflower sub-network report 1984–1986. *Genetic evaluation and use of Helianthus wild species and their use in breeding programs. FAO, Rome, Italy*, 1-17 .

Škorić, D. (2016). Sunflower breeding for resistance to abiotic and biotic stresses. In *Abiotic and biotic stress in plants-recent advances and future perspectives*. IntechOpen .

Škorić, D., & Pacureanu, M. (2010). Sunflower breeding for resistance to broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). Proceedings of the International Symposium "Sunflower Breeding on Resistance to Diseases". Krasnodar, Russia ,

Škorić, D., & Vanozzi, G. (1984). Genetic resources in the Helianthus genus. Proceedings of the International Symposium on Science and Biotechnology for an Integral Sunflower Utilization ,

Soltani, N. M. (2012). Improving rice (*Oryza sativa* L.) drought tolerance by suppressing a NF-YA transcription factor. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10(1), 40-48. .

Soni, R., Suyal, D. C & ,.Goel, R. (2022). *Plant Protection: From Chemicals to Biologicals*. Walter de Gruyter GmbH & Co KG .

Soualiou, S., Duan, F., Li, X., & Zhou, W. (2022). Crop production under cold stress: An understanding of plant responses, acclimation processes, and management strategies. *Plant Physiology and Biochemistry*, *190*, 47-61 .

Srivastava, A., Arora, D., Gupta, S., Pandey, R., & Lee, M. (1996). Diversity of potential microbial parasites colonizing sclerotia of Macrophomina phaseolina in soil. *Biology and fertility of soils*, *22*, 136-140 .

Stam, P. (2003). Marker-assisted introgression: speed at any cost. In *Eucarpia Leafy Vegetables/Th. JL van Hintum, A. Lebeda, D. Pink, JW Schut* (pp. 117-124) .

Suarez-Gonzalez, A., Lexer, C., & Cronk, Q. C. (2018). Adaptive introgression: a plant perspective. *Biology letters*, *14*(3), 20170688 .

Sunderland, N., & Roberts, M. (1977). New approach to pollen culture. *Nature*, *270*(5634), 236-238 .

Takahashi, F., Kuromori, T., Urano, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2020). Drought stress responses and resistance in plants: From cellular responses to long-distance intercellular communication. *Frontiers in plant science*, *11*, 556972 .

Talukder, Z. I., Underwood, W., Misar, C. G., Seiler, G. J., Liu, Y., Li, X., Cai, X., & Qi, L .(٢٠٢١) . Unraveling the Sclerotinia basal stalk rot resistance derived from wild *Helianthus argophyllus* using a high-density single nucleotide polymorphism linkage map. *Frontiers in plant science*, *11*, 617920 .

Tanksley, S. D., & McCouch, S. R. (1997). Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *science*, *277*(5329), 1063-1066 .

Terbea, M., Vranceanu, A., Petcu, E., Craiciu, D., & Micutcedilla˜, G. (1995). Physiological response of sunflower plants to drought . Romanian Agricultural Research, 3, 61-67

Tester, M., & Davenport, R. (2003). Na+ tolerance and Na+ transport in higher plants. *Annals of botany*, *91*(5), 503-527 .

Tetreault, H. M., Kawakami, T., & Ungerer, M. C. (2016). Low temperature tolerance in the perennial sunflower Helianthus maximiliani. *The American Midland Naturalist*, *175*(1), 91-102 .

Tikhomirov, V. T., & Chiryaev, P. V. (2005). SOURCES OF RESISTANCE TO DISEASES IN ORIGINAL MATERIAL OF SUNFLOWER/FUENTES DE RESISTENCIA A LAS ENFERMEDADES EN EL MATERIAL ORIGINAL DE GIRASOL/LES SOURCES DE RÉSISTANCE AUX MALADIES DANS LE MATÉRIEL D'ORIGINE DU TOURNESOL. *Helia*, *28*(42), 101-106 .

Tiku, A. R. (2020). Antimicrobial compounds (phytoanticipins and phytoalexins) and their role in plant defense. *Co-evolution of secondary metabolites*, 845-868 .

Vanderplank, J. E. (2012). *Genetic and molecular basis of plant pathogenesis* (Vol. 6). Springer Science & Business Media .

Velasco Varo, L., Pérez-Vich, B., & Fernández Martínez, J. M. (2016). Research on resistance to sunflower broomrape: an integrated vision .OLC, 23(2),

Villa, T. C .C., Maxted, N., Scholten, M., & Ford-Lloyd, B. (2005). Defining and identifying crop landraces. *Plant genetic resources*, *3*(3), 373-384 .

Viranyi, F., & Gulya, T. (2015). Tourvieille de Labrouhe D.(2015): Recent changes in the pathogenic variability of *Plasmopara halstedii* (sunflower downy mildew) populations from different continents. *Helia*, *38*(63), 149-162 .

Welch, M. E., & Rieseberg, L. H. (2002). Habitat divergence between a homoploid hybrid sunflower species, *Helianthus paradoxus* (Asteraceae), and its progenitors. *American Journal of Botany*, *89*(3), 472-478 .

Wilson, C., Read, J. J., & Abo-Kassem, E. (2002). Effect of mixed-salt salinity on growth and ion relations of a quinoa and a wheat variety. *Journal of Plant Nutrition*, *25*(12), 2689-2704 .

Yang ,X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. (2021). Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, *7*(3), 50 .

Yang, Z., & Wang, B. (2015). Present status of saline soil resources and countermeasures for improvement and utilization in China. *Shandong Agricultural Sciences*, *47*(4), 125-130 .

Yavas, I., Jamal, M. A., Ul Din, K., Ali, S., Hussain, S., & Farooq, M. (2024). Drought-Induced Changes in Leaf Morphology and Anatomy: Overview, Implications and Perspectives. *Polish Journal of Environmental Studies*, *33*(2)

Yeo, A. (1998). Molecular biology of salt tolerance in the context of whole-plant physiology. *Journal of experimental Botany*, *49*(323), 915-929 .

Yu, B., Liu, J., Wu, D., Liu, Y., Cen, W., Wang, S., Li, R., & Luo, J. (2020). Weighted gene coexpression network analysis-based identification of key modules and hub genes associated with drought sensitivity in rice. *BMC Plant Biology*, *20*, 1-21 .

Zhang, Z., Ma, G., Zhao, J., Markell, S., & Qi, L. (2017). Discovery and introgression of the wild sunflower-derived novel downy mildew resistance gene Pl 19 in confection sunflower (Helianthus annuus L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *130*, 29-39 .

Zhou, Q., Sun, H., Zhang, G., Wang, J., & Tian, J. (2023). Gene co-expression analysis reveals the transcriptome changes and hub genes of fructan metabolism in garlic under drought stress. *Plants*, *12*(19), 3357 .

Zimmer, D., & Rehder, D. (1976). Rust Resistance of Wild Helianthus Species. *Phytopathology*, *66*, 208-211 .