

ارزیابی تحمل به تنش شوری برخی اکوتیپ‌های رازیانه در شرایط گلخانه‌ای با استفاده از GGE Biplot و GT Biplot

محمد ضابط^{*۱}، عصمت خاکسارنژاد^۲، علی ایزانلو^۳ و محمدحسن سیاری^۴

*۱- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند، پست الکترونیک: mzabet@birjand.ac.ir

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

۳- استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

۴- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۰۸

چکیده

به دلیل توسعه و افزایش زمین‌های شور و کاهش زمین‌های کشاورزی مطلوب برای کاشت، شناسایی گیاهان دارویی مقاوم به شوری اهمیت زیادی دارد. به همین منظور آزمایشی برای شناسایی اکوتیپ‌های پایدار رازیانه در سه سطح تنش شوری طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند انجام گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور A (اکوتیپ‌های سردشت، سقز، کرمان، تبریز، سبزوار، روم، خوسف، بجنورد، مشهد و شبستر) و فاکتور B (سه سطح شوری سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر از نمک NaCl) با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که در تنش سه ۷۲ درصد، در تنش شش ۶۹/۱ درصد، در تنش نه ۶۵/۲ درصد و در تمام سطوح تنش ۶۵/۲ درصد از کل تنوع موجود در داده‌ها با نمودار بای پلات ژنوتیپ×صفت توجیه شد. بیشترین تنوع توجیه شده با نمودار چند ضلعی ژنوتیپ×صفت در تنش سه ناشی از آسکوربات پراکسیداز، کلروفیل a و کلروفیل کل، در تنش شش ناشی از سوپراکسیددیسموتاز، در تنش نه ناشی از کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و سوپراکسید دیسموتاز و در تمام سطوح تنش شوری ناشی از کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و سوپراکسید دیسموتاز بود. در تمام سطوح تنش اکوتیپ تبریز در محتوای کاتالاز، پرولین و مالون‌دی‌آلدئید، اکوتیپ مشهد در پارامترهای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و آسکوربات پراکسیداز و اکوتیپ روم نیز از نظر میزان سوپراکسیددیسموتاز نسبت به سایرین برتر بود. بر اساس کلیه صفات و در همه محیط‌ها اکوتیپ مشهد نسبت به سایر اکوتیپ‌ها بهتر و پایدارتر بود.

واژه‌های کلیدی: اکوتیپ، آنزیم، مؤلفه، نمودار دو وجهی

مقدمه

میانگین عملکرد واقعی کمتر از ۲۰-۱۰ درصد ظرفیت عملکرد آنان است (Mittler, 2002). شوری بالا یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و گسترش محصولات کشاورزی است (Flowers, 2004). به دلیل توسعه و افزایش زمین‌های شور و کاهش زمین کشاورزی مطلوب برای کشت،

تنش‌های محیطی، از مهمترین عوامل کاهش دهنده عملکرد گیاهان زراعی در سطح جهان هستند. اگر تنش‌های محیطی وجود نداشت عملکرد واقعی باید برابر با عملکرد بالقوه گیاهان باشد، در حالی که در بسیاری از گیاهان زراعی

برای تعیین GEI به روش‌های مختلف تجزیه می‌شوند. مدل GGE (Genotype + Genotype× Environment) یکی از روش‌هایی است که برای ارزیابی بصری و تجزیه گرافیکی داده‌های آزمایش‌های چند منطقه‌ای از طریق ایجاد یک بای‌پلات ابداع شده است (Yan & Yan, 2000, Tinker, 2006).

نمودار دوجهی ژنوتیپ×صفت نمی‌تواند همه تنوع موجود را در داده‌ها توجیه کند، اما به انتخاب ژنوتیپ‌ها بر پایه چندین صفت کمک می‌کند. در این نمودار، یک بردار از مبدأ نمودار دو وجهی تا موقعیت هر صفت رسم می‌شود تا ارتباطات درونی بین دو یا چند صفت نشان داده شود.

با استفاده از چندضلعی نمودار دو وجهی ژنوتیپ×صفت مقایسه ژنوتیپ‌ها بر پایه چندین صفت انجام می‌گردد و ژنوتیپ‌هایی که از لحاظ بعضی صفات خاص برتر هستند، شناسایی می‌شوند (Yan & Rajcan, 2002). معمولاً اختلاف‌های چشمگیری به‌ویژه در عملکرد بذر، درصد اسانس، زمان رسیدگی و ارتفاع گیاه در بین ژنوتیپ‌های رازیانه وجود دارد و می‌توان از طریق تلاقی بین ژنوتیپ‌های برتر و آزمون نتایج آنها از طریق برنامه‌های به‌نژادی و انتخاب نسبت به تولید ارقام با خصوصیات زراعی مطلوب اقدام نمود (Safaei et al., 2011). در بررسی مقاومت به تنش شوری ژنوتیپ‌های مختلف رازیانه مشخص گردید که میزان کاهش در صفات مختلف در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت بود و ژنوتیپ‌های مختلف رازیانه در مرحله گیاه کامل نسبت به مرحله گیاهچه دارای تحمل بیشتری نسبت به تنش شوری بودند (Safarnejad & Hamidi, 2016). در یک آزمایش گلخانه‌ای اثرات تنش شوری بر روی رشد دانه و غلظت روغن دانه گیاه زنیان مطالعه شد. نتایج نشان داد که افزایش شوری وزن تر و خشک ریشه، ساقه و محصول دانه را کاهش داد. اگرچه اثر منفی شوری بر عملکرد دانه بیشتر از زیست‌توده رویشی بود (Ashraf & Orooj, 2006). در مقایسه ژنوتیپ‌های پنبه با استفاده از GGEbiplot براساس

شناسایی گیاهان دارویی مقاوم به شوری و یا عواملی که بتوانند اثراتی شوری را کاهش دهند، اهمیت زیادی دارد (Shannon et al., 1994). رازیانه یا بادپانه و یا بادیان گیاهی است چندساله و گلدار از تیره چتریان، راسته آبیالس، از رده دولپه‌ای‌ها، سرده رازیانه‌ها و گونه *Foeniculum vulgare* است. رازیانه از مهمترین و پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی تیره Apiaceae به‌شمار می‌آید (Omidbeigi, 2007). رازیانه به‌طور وسیعی در مناطق خشک و نیمه‌خشک که از مهمترین خصوصیات این مناطق داشتن خاک‌های با غلظت بالایی از نمک می‌باشد، رشد می‌کند (Qasim et al., 2003).

کل سطح زیر کشت گیاهان دارویی در ایران ۶۰۵۷۶/۱ و خراسان جنوبی ۳/۳۵۷۰ هکتار و میزان کل تولید گیاهان دارویی در ایران ۴/۱۹۷۷۹۲ و خراسان جنوبی ۱/۱۷۰۳ تن می‌باشد. از میزان سطح زیر کشت رازیانه در ایران آمار دقیقی در دست نیست. رازیانه بیشتر در غرب و مرکز ایران کشت می‌شود. استان همدان با ۴۵۰۰ هکتار سطح زیر کشت گیاهان دارویی و بیش از ۱۱۴۰۰ تن تولید، رتبه نخست کشور در تولید رازیانه را دارد. سطح زیر کشت رازیانه در استان همدان بیش از ۲۵۰۰ هکتار می‌باشد که ۸۷ درصد رازیانه کشور را تولید می‌نماید. متوسط تولید رازیانه در هر هکتار در حدود ۲۵۰۰ کیلوگرم و متوسط تولید رازیانه در شهرستان رزن به عنوان قطب تولید رازیانه در ایران ۶ هزار تن است. با این اطلاعات می‌توان تخمین زد که سطح زیرکشت رازیانه در ایران بیش از ۳۲۰۰ هکتار و میزان تولید بیش از ۷۵۰۰ هزار تن باشد (Tabnak, 2019).

واکنش متفاوت ژنوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف همان اثر متقابل ژنوتیپ و محیط (GEI) است. برای فائق آمدن بر GEI، آزمایش‌ها معمولاً در مکان‌ها و سال‌های متعدد اجرا می‌شوند تا اطمینان حاصل شود که ژنوتیپ‌های گزینش شده عملکرد بالا و با ثباتی در محیط‌های متفاوت دارند. البته داده‌های حاصل از این آزمایش‌ها

کارساز نیست و باید در برنامه‌های اصلاحی چندین صفت به‌طور همزمان بررسی شود (Yan & Rajcan, 2002).

هدف از این آزمایش، بررسی همبستگی میان صفات مختلف با استفاده از نمودار دوجهی ژنوتیپ×صفت، بررسی همبستگی بین اکوتیپ‌ها با استفاده از نمودار دوجهی ژنوتیپ×صفت، ارزیابی اکوتیپ‌ها در بین صفات با استفاده از چندضلعی ژنوتیپ×صفت و مقایسه اکوتیپ‌ها بر پایه صفات اندازه‌گیری شده و استاندارد با استفاده از نمودار دوجهی ژنوتیپ×محیط و تعیین اکوتیپ مطلوب رازیانه بر پایه صفات استاندارد شده در سه سطح تنش شوری در شرایط گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

این طرح در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در طی سال ۱۳۹۵-۱۳۹۴ اجرا شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بود. فاکتور A، شامل ۱۰ اکوتیپ رازیانه از نواحی مختلف آب و هوایی (سردشت، سقز، کرمان، تبریز، سبزواری، روم، خوسف، بجنورد، مشهد و شبستر) و فاکتور B شامل سه سطح شوری از نمک NaCl (سه، شش و نه دسی‌زیمنس بر متر) بود. خاک مورد نیاز آزمایش از منطقه بیدخت واقع در حاشیه جنوبی شهرستان بیرجند تهیه و پس از الک کردن برای تعیین بافت خاک و ظرفیت زراعی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس آزمایش انجام شده بافت خاک لومی‌شنی بود. برای بررسی میزان توانایی نگه‌داشتن آب در خاک درصد رطوبت اشباع خاک نیز بررسی شد. به کمک دستگاه EC متر، EC عصاره اشباع خاک اندازه‌گیری شد که برابر $EC = 3 ds/m$ خاک بود. با استفاده از درصد رطوبت اشباع و درصد رطوبت ظرفیت زراعی که در آزمایشگاه تعیین گردید، میزان نمک مورد نیاز برای ایجاد سطوح شوری محاسبه و به‌صورت محلول به خاک اضافه شد. خاک مورد نظر را داخل ظرفی کاملاً به‌هم زده و بعد به گلدان مخصوص به خود منتقل شد. سطح پایه شوری $3 ds/m$ به‌عنوان محیط فاقد تنش یا شاهد در نظر گرفته شد. سطوح شش و نه ds/m

عملکرد و ش معلوم شد که در شرایط نرمال و تنش ژنوتیپ دلتاپاین ۲۵ از سایر ژنوتیپ‌ها بهتر بود. همچنین در شناسایی ژنوتیپ‌های ایده‌آل با استفاده از GGEbiplot براساس عملکرد و ش، ژنوتیپ دلتاپاین ۲۵ به‌عنوان ژنوتیپ مناسب شناسایی شد (Sedigh et al., 2016). بررسی همبستگی بین صفات با استفاده از نمودار دو وجهی ژنوتیپ×صفت در چهار رقم کلزای زمستانه نشان داد که وزن هزاردانه همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه و شمار غلاف در بوته داشت، اما درصد روغن با عملکرد و دیگر صفات هیچ‌گونه همبستگی نشان نداد (Dehghani et al., 2008). نمودار دوجهی ژنوتیپ×محیط و ژنوتیپ×صفت برای شناسایی ژنوتیپ‌های برتر کلزا در دو محیط عادی و تنش خشکی نشان داد که در محیط عادی ۵۹/۳۱ درصد، محیط تنش ۶۲/۳۳ درصد و در دو محیط ۶۲/۰۱ درصد از کل تنوع موجود در داده‌های استاندارد شده با نمودار دوجهی (بای‌پلات) ژنوتیپ×صفت توجیه شد. به‌طوری‌که بیشترین تنوع توجیه شده توسط نمودار دوجهی ژنوتیپ×صفت در محیط عادی ناشی از عملکرد دانه، عملکرد زیست‌توده (بیوماس)، شمار دانه در غلاف و شمار غلاف در ساقه اصلی، در محیط تنش ناشی از عملکرد دانه، شاخص برداشت، طول غلاف، شمار غلاف در شاخه فرعی و شمار کل غلاف در بوته و در دو محیط نرمال و تنش ناشی از عملکرد دانه، طول غلاف، شمار غلاف در شاخه فرعی و شمار کل غلاف در بوته بود (Zabet, 2017). طی یک مطالعه، نمودار دوجهی ژنوتیپ×محیط و ژنوتیپ×صفت نشان داد که روابط متقابل خیلی بزرگ وجود نداشت. بنابراین نواحی مورد بررسی به ابر محیط‌های مختلف تقسیم نشد و داده‌های متعلق به چند سال از یک رقم مورد تجزیه قرار گرفت (Baxevanos et al., 2008). در آزمایشی دیگر استفاده از نمودار دوجهی ژنوتیپ×صفت روابط درونی بین عملکرد دانه، میزان روغن، پروتئین، ارتفاع گیاه، روز تا رسیدگی و دیگر صفات را روشن کرد و مقایسه چشمی ژنوتیپ‌ها را آسان کرد. نمودار دوجهی ژنوتیپ×صفت نشان داد که با توجه به ارتباط‌های درونی صفات مختلف انتخاب بر پایه عملکرد دانه به تنهایی

رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای سنجش سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز از روش Cakmak و Horst (۱۹۹۱) به ترتیب در طول موج ۵۶۰ نانومتر و ۲۴۰ نانومتر استفاده شد. میزان پروتئین با روش Bradford (۱۹۷۶) محاسبه شد. ابتدا میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت گردید و در نهایت غلظت پروتئین از رابطه دو محاسبه گردید. رابطه (۲): $Y = 0.0035 X - 0.0062$ که $X =$ جذب خوانده شده و $Y =$ غلظت پروتئین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر گیاه است. برای اندازه‌گیری آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) ابتدا میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت و بعد فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات جذب به نسبت میلی‌گرم پروتئین عصاره با استفاده از رابطه سه محاسبه شد.

$$\text{رابطه (۳): } \frac{\Delta A_{290} \times 1000 \times 20}{\text{بروتئین}} \times 2.8 = \text{فعالیت APX}$$

APX آسکوربات پراکسیداز، ΔA_{290} میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر می‌باشد (Nakano and Asada, 1981).

بای پلات ژنوتیپ \times محیط (GGEBiplot) بر اساس دو جزء اصلی (PC1 و PC2) ناشی از داده‌ها شکل گرفت و بر اساس رابطه ۴ محاسبه شد

$$\text{رابطه (۴): } Y_{ij} - \bar{y}_i = \lambda_1 \xi_{i1} \eta_{j1} + \lambda_2 \xi_{i2} \eta_{j2} + \varepsilon_{ij}$$

که در آن Y_{ij} متوسط عملکرد ژنوتیپ i در محیط j ، \bar{y}_i متوسط عملکرد همه ژنوتیپ‌ها در محیط j ، $\lambda_1 \xi_{i1} \eta_{j1}$ و $\lambda_2 \xi_{i2} \eta_{j2}$ در مجموع اولین و دومین مؤلفه، λ_1 و λ_2 مقادیر ویژه مؤلفه‌های PC1 و PC2، ξ_{i1} و ξ_{i2} نمرات مؤلفه‌های PC1 و PC2 برای ژنوتیپ i ، η_{j1} و η_{j2} نمرات مؤلفه‌های PC1 و PC2 برای محیط j و ε_{ij} باقیمانده مدل می‌باشد. GGEBiplot با پلات i_1 و i_2 در مقابل j_1 و j_2 بدست آمد، به طوری که هر ژنوتیپ یا محیط با یک علامت در بای پلات مشخص شد (Yan, 2000).

برای نشان دادن بای پلات ژنوتیپ \times صفت

به‌عنوان تنش در نظر گرفته شدند. مقدار نمک لازم از منبع کلرید سدیم برای رسیدن به سطوح شوری ۳، ۶ و ۹ ds/m بر متر با استفاده از رابطه یک (Wikipedia, 2019) محاسبه شد.

$$\text{رابطه (۱): } TDS = \left(\frac{mg}{L}\right) = EC \left(\frac{ds}{m}\right) \times 640$$

که TDS یا کل مواد جامد محلول، EC: هدایت الکتریکی، mg/L: میلی‌گرم بر لیتر، ds/m: دسی زیمنس بر متر می‌باشد.

برای بررسی اثر تنش‌های مختلف شوری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی رازیانه، تعداد ۲۰ عدد بذر در ۹۰ گلدان کشت شدند. قبل از کاشت، بذرها ضدعفونی شدند. کشت بذرها در عمق یک تا دو سانتیمتری انجام شد. شرایط محیطی گلخانه در طول فصل رشد گیاهان کنترل شده و شامل ۱۶ ساعت طول روز و هشت ساعت طول شب، با رطوبت نسبی در محدوده ۵۰ تا ۶۰ درصد و دمای ۲۴ و ۲۲ درجه سانتیگراد به ترتیب برای روز و شب بود. از ابتدای کشت با توزین روزانه گلدان‌ها براساس رطوبت ظرفیت زراعی خاک، آبیاری هر گلدان انجام شد. با توجه به اعمال سطوح شوری از ابتدای کشت تا مرحله برداشت، آبیاری با آب مقطر با EC برابر ۳۰ میکروزیمنس بر سانتیمتر انجام گردید. نمونه برداری قبل از گل دادن بوته‌ها انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله در نیتروژن مایع فریز و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در نهایت صفات فیزیولوژیکی زیر اندازه‌گیری شدند.

برای سنجش پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده و مقدار جذب در طول موج ۵۱۸ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر قرائت شد. سنجش کلروفیل به روش Saini و همکاران (۲۰۱۴) و در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b انجام گردید. برای اندازه‌گیری مالون آلدئید از روش Heath و Packer (۱۹۶۸) استفاده و شدت جذب محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است. جذب بقیه

(GTBiplot) از رابطه (۵) استفاده شد

رابطه ۵:

$$\frac{T_{ij}-\bar{T}_j}{S_j} = \lambda_1 \xi_{i1} \tau_{j1} + \lambda_{21} \xi_{i2} \tau_{j2} + \varepsilon_{ij}$$

که T_{ij} ارزش متوسط ژنوتیپ i برای صفت j ، \bar{T}_j ارزش متوسط صفت j بر روی همه ژنوتیپها، S_j انحراف استاندارد صفت j در بین میانگین‌های ژنوتیپ، ξ_{i1} و ξ_{i2} به ترتیب نمرات PC1 و PC2 برای ژنوتیپ i ، τ_{j1} و τ_{j2} نمرات PC1 و PC2 برای صفت j و ε_{ij} باقیمانده مدل می‌باشد. در واقع رابطه بالا تجزیه PCA داده‌های استاندارد با دو مؤلفه می‌باشد. GTBiplot با پلات نمرات PC1 در مقابل نمرات PC2 برای هر ژنوتیپ و هر صفت بدست آمد.

ضریب همبستگی (r) بین دو صفت با کسینوس زاویه بین این بردارها تقریب زده شد، به طوری که

$$r = \text{Cos}90 = 0 \text{ و } r = \text{Cos}0 = 1, r = \text{Cos}180 = -1$$

می‌باشد. اکوتیپ یا صفت ایده‌آل با یکسری دایره‌های متحدالمركز در اطراف آن مشخص می‌شود. اکوتیپ یا صفت‌های نزدیکتر به ایده‌آل در دایره‌های بیشتری سهم هستند، در واقع اکوتیپ یا صفت ایده‌آل دارای بیشترین

دایره‌های متحدالمركز در اطراف خود می‌باشد. طول بردار در بای پلات تقریباً متناسب با انحراف معیار استاندارد آنهاست، بنابراین طول بردار بیشتر نشان‌دهنده نقش بیشتر آن اکوتیپ یا صفت در توجیه تنوع داده‌های بای پلات است (Yan & Rajcan, 2002). تجزیه‌های آماری بالا در سه سطح تنش شامل تنش سه (محیط فاقد تنش یا شاهد)، شش و نه ds/m به طور جداگانه و برای کلیه سطوح تنش (سه، شش و نه) یکجا انجام شد. برای تجزیه داده‌ها از نرم‌افزارهای Excel، GenStat و SAS استفاده شد.

نتایج

تجزیه واریانس صفات مختلف در اکوتیپ‌های رازیانه

تجزیه واریانس صفات مختلف نشان داد که بین اکوتیپ‌ها (در کلیه صفات)، سطوح مختلف شوری (در کلیه صفات به استثنای کلروفیل کل) و همچنین اثر متقابل اکوتیپ \times غلظت (در کلیه صفات) اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ و اکثراً ۰/۰۱ وجود داشت. با توجه به معنی‌دار بودن اثرهای متقابل اکوتیپ \times غلظت می‌توان به تجزیه بای پلات اقدام نمود.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مختلف در ژنوتیپ‌های رازیانه تحت تنش شوری

MS					درجه آزادی			منابع تغییرات	
mg/g fw					mg				
مالون دی‌آلدئید	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	پرویلین	آسکوربات پرآکسیداز	کاتالاز	سوپراکسید دیسموتاز		
۰/۵**	۳/۴*	۰/۸ n.s	n.s ۲/۶	۰/۱ n.s	۱/۳ n.s	۴/۸**	۷/۰**	۲	تکرار
۳/۲**	۳/۴**	۹/۰**	۱۵/۲**	۰/۲*	۱/۷**	۶/۱**	۵/۴**	۹	اکوتیپ
۱۶/۸**	۳/۴*	۵/۹*	۸/۲ n.s	۰/۹**	۱/۶**	۲۲/۱**	۳۴/۶**	۲	غلظت
۴/۷**	۶/۵**	۶/۸**	۱۱/۴**	۰/۳**	۴/۴**	۶/۸**	۱۰/۷**	۱۸	اکوتیپ \times غلظت
۰/۰۲	۰/۸	۱/۲	۳/۴	۰/۱	۰/۶	۰/۰۵	۱/۱	۴۸	خطای آزمایش
۲۰	۱۸/۲	۲۴	۲۶/۹	۱۳/۴	۱۰	۱۸	۸	-	%CV

n.s، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱.

روم) در پارامترهای کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز نسبت به سایرین برتر بودند. اکوتیپ‌های بجنورد و خوسف از لحاظ صفت خاصی برتری نداشتند (شکل ۱-الف). به‌عنوان مثال در یک رأس چند ضلعی تبریز قرار گرفته است. بررسی چند ضلعی نشان می‌دهد که در ناحیه‌ای که تبریز در رأس چند ضلعی قرار گرفته است، صفات کلروفیل a، b، کلروفیل کل و مالون‌دی‌آلدئید نیز واقع شده است. به‌عبارت دیگر تبریز از لحاظ این صفات دارای بالاترین مقدار است.

ارزیابی اکوتیپ‌ها در بین صفات در تنش شش ds/m: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۹/۱ درصد (PC1=43.4%، PC2=25.7%) از تغییرات را توجیه نمودند. صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، مالون‌دی‌آلدئید، پرولین و کاتالاز دارای مقادیر بالا و صفات آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ مؤلفه اول بودند. صفات کاتالاز، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر بالا و صفات پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و آسکوربات پراکسیداز دارای مقادیر پایینی از لحاظ مؤلفه دوم بودند. به‌طور کل صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاتالاز دارای مقادیر بالا و صفت سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ هر دو مؤلفه هستند. اکوتیپ سبزوار (به میزان کمتر سردشت) در محتوای کلروفیل a و پرولین، مشهد (به میزان کمتر تبریز) در پارامترهای کلروفیل b، کلروفیل کل و کاتالاز، اکوتیپ بجنورد (به میزان کمتر خوسف، سقر، کرمان و شبستر) نیز از نظر میزان مالون‌دی‌آلدئید و آسکوربات پراکسیداز و اکوتیپ روم در میزان سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سایرین برتر بودند (شکل ۱-ب).

ارزیابی اکوتیپ‌ها در بین صفات در تنش نه ds/m: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۵/۲ درصد (PC1=23.7%، PC2=41.5%) از تغییرات را توجیه نمودند. صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، مالون‌دی‌آلدئید، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز دارای مقادیر بالا و صفات پرولین و سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ مؤلفه اول بودند. صفات کاتالاز، کلروفیل a، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و آسکوربات پراکسیداز دارای مقادیر بالا و صفات کلروفیل b، کلروفیل کل و سوپراکسید دیسموتاز

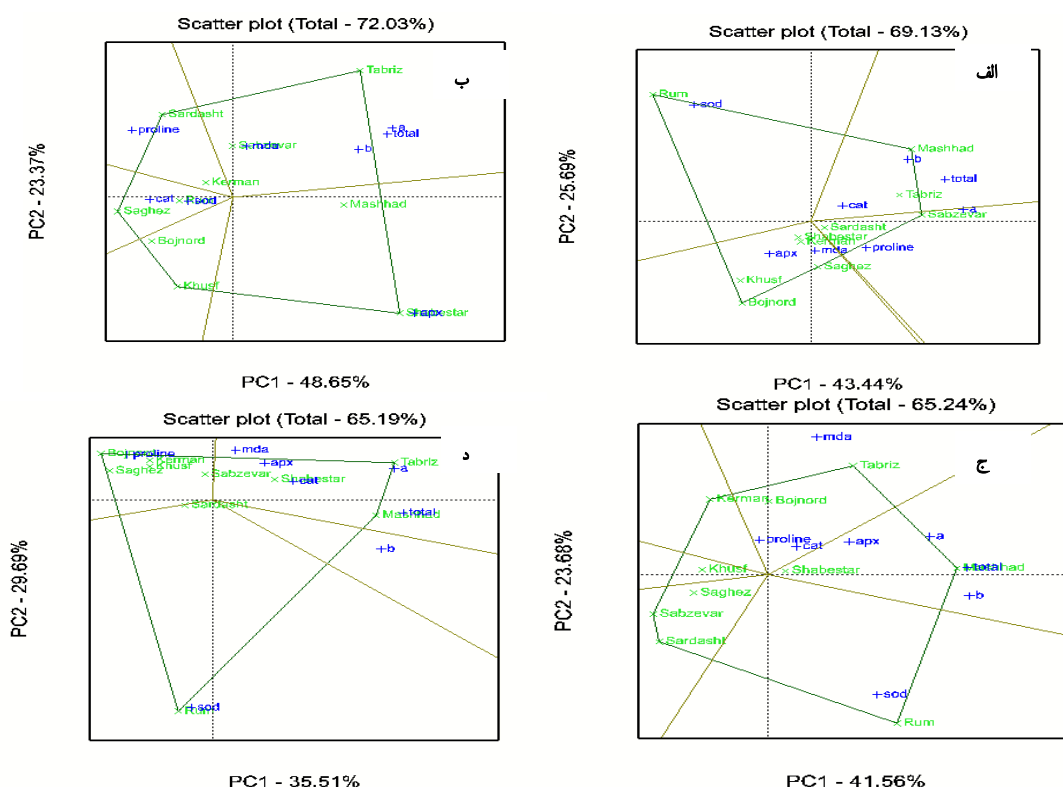
ارزیابی اکوتیپ‌ها در بین صفات با استفاده از GT Biplot
ارزیابی اکوتیپ‌ها در بین صفات در تنش سه ds/m: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۷۲ درصد (PC1=48.6%، PC2=23.4%) از تغییرات را توجیه نمودند. صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، مالون‌دی‌آلدئید و آسکوربات پراکسیداز دارای مقادیر بالا و صفات پرولین، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ مؤلفه اول بودند. صفات پرولین، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و مالون‌دی‌آلدئید دارای مقادیر بالا و صفات کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ مؤلفه دوم بودند. به‌طور کل صفاتی که در سمت راست و بالای نمودار واقع شده‌اند دارای مقادیر بالایی از لحاظ هر دو مؤلفه هستند. بنابراین صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و مالون‌دی‌آلدئید دارای مقادیر بالا و صفات کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ هر دو مؤلفه هستند.

نمودار دوجویی ژنوتیپ × صفت (GT Biplot) یک ابزار مناسب برای بررسی چشمی روابط بین صفات، ارزیابی ژنوتیپ‌ها و روابط بین ژنوتیپ‌هاست. این نمودار دوجویی می‌تواند به انتخاب اکوتیپ‌ها بر پایه چندین صفت کمک کند. در نمودار دوجویی ژنوتیپ × صفت یک بردار از مبدأ نمودار تا موقعیت هر صفت کشیده می‌شود تا ارتباطات درونی بین دو یا چند صفت نشان داده شود. طول بردار در نمودار دوجویی تا حدودی متناسب با انحراف معیار استاندارد آنهاست، بنابراین طول بردار بیشتر نشان‌دهنده نقش بیشتر آن ژنوتیپ یا صفت در توجیه تنوع داده‌های نمودار دوجویی است. با استفاده از چندضلعی نمودار دوجویی ژنوتیپ × صفت مقایسه ژنوتیپ‌ها بر پایه چندین صفت انجام می‌شود و ژنوتیپ‌هایی که از لحاظ بعضی صفات خاص برتر هستند شناسایی می‌شوند. خطوط عمود بر اضلاع چندضلعی مقایسه بین ژنوتیپ‌های نزدیک به هم را در رأس چندضلعی آسان می‌کند. با توجه به این موضوع اکوتیپ سردشت (به میزان کمتر کرمان) از نظر میزان پرولین، اکوتیپ تبریز (به میزان کمتر سبزوار) در پارامترهای کلروفیل a، b و کلروفیل کل، اکوتیپ شبستر (به میزان کمتر مشهد) در میزان آسکوربات پراکسیداز و اکوتیپ‌های سقر (به میزان کمتر

صفات کاتالاز، کلروفیل a، کلروفیل کل، پرولین، مالون دی آلدئید و آسکوربات پراکسیداز دارای مقادیر بالا و صفت سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ مولفه دوم بودند. به طور کل صفات کلروفیل a، کلروفیل کل، کاتالاز و مالون دی آلدئید دارای مقادیر بالایی از لحاظ هر دو مؤلفه بودند و هیچ صفتی مقادیر پایینی از هر دو مؤلفه را نشان نداد. اکوتیپ تبریز (به میزان کمتر بجنورد) در محتوای کاتالاز، پرولین و مالون دی آلدئید، اکوتیپ مشهد (به میزان کمتر شبستر) در پارامترهای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و آسکوربات پراکسیداز و اکوتیپ روم نیز از نظر میزان سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سایرین برتر بود. اکوتیپ های کرمان، خوسف، سقز، سبزوار و سردشت از لحاظ هیچ صفتی خوب ظاهر نشدند (شکل ۱-د). به طور کل صفت سوپراکسید دیسموتاز با مقادیر پایین مؤلفه دوم در ارتباط بود، اما بین سایر صفات با مؤلفه ها ارتباط دائمی دیده نشد و در محیط های متفاوت متغیر بود.

دارای مقادیر پایینی از لحاظ مولفه دوم بودند. به طور کل صفات کلروفیل a، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و مالون دی آلدئید دارای مقادیر بالا و صفت سوپراکسید دیسموتاز دارای مقادیر پایینی از لحاظ هر دو مؤلفه هستند. اکوتیپ تبریز و مشهد (به میزان کمتر شبستر) در میزان مالون دی آلدئید، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، کلروفیل a، و کلروفیل کل، اکوتیپ بجنورد (به میزان کمتر سقز، کرمان، خوسف، سبزوار و سردشت) از نظر میزان پرولین و اکوتیپ روم از نظر میزان سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سایر اکوتیپ ها برتری داشتند (شکل ۱-ج).

ارزیابی اکوتیپ ها در بین صفات تمام سطوح تنش: در سه سطح تنش دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۵/۲ درصد ($PC1=35.5\%$ ، $PC2=29.7\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، مالون دی آلدئید، آسکوربات پراکسیداز، پرولین و کاتالاز دارای مقادیر بالا و صفت پرولین دارای مقادیر پایینی از لحاظ مولفه اول بودند.



شکل ۱- ارزیابی اکوتیپ ها در بین صفات با استفاده از بای پلات ژنوتیپ × صفت: الف- در تنش سه ds/m، ب- در تنش شش ds/m،

ج- در تنش نه ds/m، د- در تمام سطوح تنش

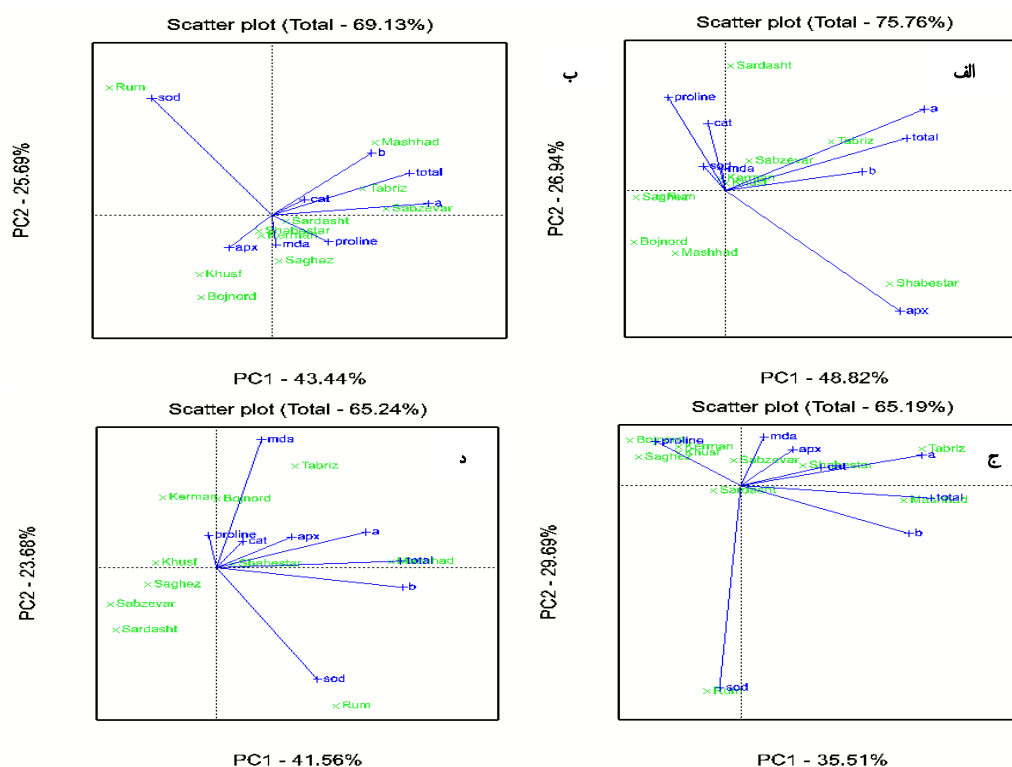
a=کلروفیل a، b= کلروفیل b، total= کلروفیل کل، apx= آسکوربات پراکسیداز، mda= مالون دی آلدئید، sod= سوپراکسید دیسموتاز، cat= کاتالاز، proline= پرولین

بررسی رابطه بین صفات با استفاده از GT Biplot

رابطه بین صفات در تنش سه ds/m: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۷۵/۸ درصد ($PC1=48.8\%$, $PC2=26.9\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. اگر نمودار دوجهی میزان کافی از تنوع کل را توجیه کند، ضریب همبستگی ساده پیرسون (r) بین دو صفت با کسینوس زاویه بین این بردارها تقریب زده می‌شود؛ به طوری که $r = \cos 0 = 1$ ، $r = \cos 180 = -1$ و $r = \cos 90 = 0$ خواهد بود. به عبارت دیگر اگر زاویه بین دو بردار به اندازه ۹۰ درجه و یا نزدیک به آن باشد هیچ همبستگی بین دو صفت مربوطه وجود ندارد. اگر زاویه بین دو بردار به اندازه ۱۸۰ درجه و یا نزدیک به آن باشد همبستگی بین دو صفت منفی خواهد بود و هر چه به ۱۸۰ درجه نزدیکتر باشد همبستگی منفی و معنی‌دارتر خواهد بود. اگر زاویه بین دو بردار به اندازه صفر درجه و یا نزدیک به آن باشد همبستگی بین دو صفت مربوطه مثبت خواهد بود. با توجه به اینکه صفات دارای بلندترین طول بردار بیشترین در توجیه تنوع توسط بای‌پلات را دارند از این رو بیشترین تنوع توجیه شده توسط بای‌پلات ناشی از آسکوریات پراکسیداز، کلروفیل a و کلروفیل کل بود. سوپراکسید دیسموتاز، مالون دی‌آلدئید، کاتالاز و پرولین با یکدیگر و کلروفیل a، b و کلروفیل کل هم با یکدیگر همبستگی مثبت نشان دادند (زاویه صفر یا نزدیک به صفر درجه)، در حالی که بین کلروفیل a و کلروفیل کل با سوپراکسید دیسموتاز هیچگونه همبستگی مشاهده نشد (زاویه ۹۰ یا نزدیک به ۹۰ درجه). همبستگی منفی بین آسکوریات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز برقرار بود. همبستگی بین مالون دی‌آلدئید، کاتالاز و پرولین با سوپراکسید دیسموتاز نیز تقریباً منفی بود (زاویه ۱۸۰ یا نزدیک به ۱۸۰ درجه) (شکل ۲-۲ الف).

رابطه بین صفات در تنش شش ds/m: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۹/۱ درصد ($PC1=43.4\%$, $PC2=25.7\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. با توجه به بلندترین طول بردار بیشترین تنوع توجیه شده در محیط تنش شش دسی‌زیمنس بر متر توسط بای‌پلات ناشی از سوپراکسید دیسموتاز بود. کاتالاز، کلروفیل a، b، کلروفیل کل با کاتالاز و پرولین با مالون دی‌آلدئید و مالون دی‌آلدئید با آسکوریات پراکسیداز با یکدیگر همبستگی مثبت نشان دادند، در حالی که بین آسکوریات پراکسیداز با کلروفیل b و بین سوپراکسید دیسموتاز با پرولین و مالون دی‌آلدئید همبستگی منفی برقرار بود. بین سوپراکسید دیسموتاز با کلروفیل b، کلروفیل کل، کاتالاز و آسکوریات پراکسیداز و بین پرولین با آسکوریات پراکسیداز، کلروفیل b، کاتالاز و کلروفیل کل هیچگونه همبستگی وجود نداشت (شکل ۲-۲ ب).

رابطه بین صفات در تنش نه ds/m: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۵/۳ درصد ($PC1=41.6\%$, $PC2=23.7\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. با توجه به بلندترین طول بردار بیشترین تنوع توجیه شده در محیط تنش نه دسی‌زیمنس بر متر توسط بای‌پلات ناشی از کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و سوپراکسید دیسموتاز بود. آنزیم کاتالاز از یکسو با آسکوریات پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید و از سوی دیگر با کلروفیل a، b و کلروفیل کل همبستگی مثبت نشان دادند. البته بین سوپراکسید دیسموتاز با پرولین و کلروفیل b و بین کلروفیل b با آسکوریات پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید و بین مالون دی‌آلدئید با پرولین هیچگونه همبستگی پیدا نشد. همبستگی بین آسکوریات پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید با سوپراکسید دیسموتاز و کلروفیل b با پرولین منفی بود (شکل ۲-۲ ج).



شکل ۲- رابطه بین صفات با استفاده از بای پلات ژنوتیپ × صفت: الف- در تنش سه ds/m، ب- در تنش شش ds/m، ج- در تنش نه

ds/m، د- در تمام سطوح تنش

a=کلروفیل a، b=کلروفیل b، total=کلروفیل کل، apx=آسکورات پراکسیداز، mda=مالون دی آلدئید، sod=سوپراکسید دیسموتاز، cat=کاتالاز، proline=پرولین

مجموع ۷۲ درصد ($PC1=21.6\%$ ، $PC2=50.4\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. با توجه به اینکه رابطه بین اکوتیپ‌ها به وسیله ضریب همبستگی ساده پیرسون (r) یا کسینوس زاویه بین این بردارها تقریب زده می‌شود و از سوی دیگر طول بردار بیشتر نشان‌دهنده نقش بیشتر آن صفت یا اکوتیپ در توجیه تنوع داده‌های نمودار دووجهی است، از این رو با توجه به طول بردار، بیشترین تنوع توجیه شده توسط بای پلات ناشی از اکوتیپ شبستر بود، زیرا دارای بالاترین طول بردار بود. با توجه به ضریب همبستگی بین دو اکوتیپ بر اساس کسینوس زاویه بین بردارها اکوتیپ‌های شبستر، کرمان و سبزوار با یکدیگر، اکوتیپ‌های خوسف و روم، سقر، مشهد و بجنورد هم با یکدیگر همبستگی مثبت داشتند، در حالی که بین اکوتیپ‌های سقر و تبریز همبستگی منفی وجود داشت (شکل ۳- الف).

رابطه بین اکوتیپ‌ها در تنش شش ds/m: دو مؤلفه اصلی در

مجموع ۷۱/۱ درصد ($PC1=29.3\%$ ، $PC2=41.8\%$) از

رابطه بین صفات در تمام سطوح تنش: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۵/۲ درصد ($PC1=35.5\%$ ، $PC2=29.7\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. بیشترین تنوع توجیه شده ناشی از کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b و سوپراکسید دیسموتاز بود. کاتالاز، آسکورات پراکسیداز و کلروفیل a با یکدیگر و کلروفیل a، کلروفیل کل و کلروفیل b هم با یکدیگر همبستگی مثبت نشان دادند. بین میزان کلروفیل b با پرولین و مالون دی آلدئید و بین کلروفیل a، کاتالاز و آسکورات پراکسیداز با سوپراکسید دیسموتاز و بین کلروفیل a با سوپراکسید دیسموتاز و پرولین و بین کلروفیل کل با پرولین هیچ‌گونه همبستگی مشاهده نشد. البته بین صفات سوپراکسید دیسموتاز با پرولین و مالون دی آلدئید (تقریباً) همبستگی منفی دیده شد (شکل ۲-د).

رابطه بین اکوتیپ‌ها با استفاده از GT Biplot

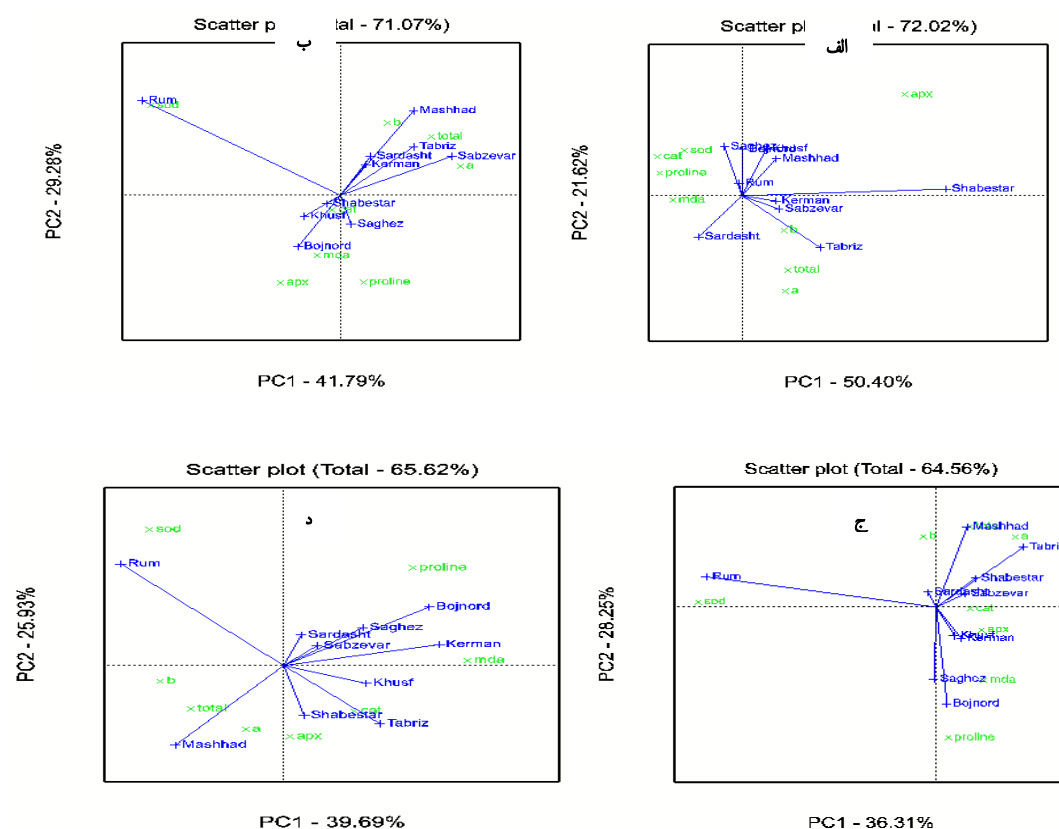
رابطه بین اکوتیپ‌ها در تنش سه ds/m: دو مؤلفه اصلی در

اکوتیپ‌های شبستر، تبریز و خوسف هم با یکدیگر همبستگی مثبت داشتند. البته بین اکوتیپ‌های مشهد و بجنورد همبستگی منفی وجود داشت. همچنین مشخص شد که هیچ‌گونه همبستگی میان اکوتیپ سبزوار و روم برقرار نبود (شکل ۳-ج).

رابطه بین اکوتیپ‌ها در تمام سطوح تنش: در محیط تنش دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۴/۵ درصد ($PC1=36.3\%$ ، $PC2=28.2\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. بیشترین تنوع توجیه شده ناشی از اکوتیپ روم بود. اکوتیپ‌های کرمان، خوسف، سقز و بجنورد با یکدیگر و اکوتیپ‌های شبستر، سبزوار و تبریز هم با یکدیگر همبستگی مثبت داشتند. همچنین مشخص شد بین اکوتیپ‌های مشهد و بجنورد همبستگی منفی وجود داشت (شکل ۳-د).

تغییرات را توجیه نمودند. بیشترین تنوع توجیه شده توسط بای پلات ناشی از اکوتیپ روم بود. اکوتیپ‌های شبستر، خوسف، سقز و بجنورد با یکدیگر و اکوتیپ‌های مشهد، سردشت، تبریز، کرمان و سبزوار هم با یکدیگر همبستگی مثبت داشتند، در حالی که بین اکوتیپ‌های سقز و روم همبستگی منفی وجود داشت. همچنین مشخص شد که هیچ‌گونه همبستگی میان اکوتیپ تبریز و روم برقرار نبود (شکل ۳-ب).

رابطه بین اکوتیپ‌ها در تنش نه ds/m: دو مؤلفه اصلی در مجموع ۶۵/۶ درصد ($PC1=39.7\%$ ، $PC2=25.9\%$) از تغییرات را توجیه نمودند. بیشترین تنوع توجیه شده توسط بای پلات به ترتیب ناشی از اکوتیپ روم، مشهد و بجنورد بود. اکوتیپ‌های سردشت، سبزوار، سقز و بجنورد با یکدیگر و



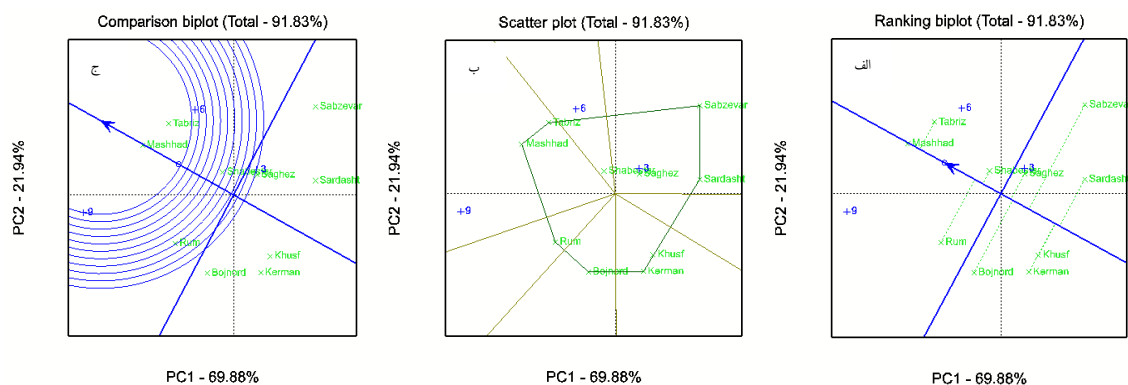
شکل ۳- رابطه بین اکوتیپ‌ها با استفاده از بای پلات ژنوتیپ × صفت: الف- در تنش سه ds/m، ب- در تنش شش ds/m، ج- در تنش نه ds/m، د- تمام سطوح تنش

a=کلروفیل a، b=کلروفیل b، total=کلروفیل کل، apx=آسکوربات پراکسیداز، mda=مالوندی آلدئید، sod=سوپراکسید دیسموتاز، cat=کاتالاز، proline=پرولین

بر اساس نمره استاندارد (تقسیم میانگین بر انحراف معیار) که بدون واحد است در این ارزیابی سنجیده شدند. سایر اکوتیپ‌ها براساس افزایش صفات در دو محیط به ترتیب تبریز، روم، شبستر، سقز، بجنورد، سبزوار، کرمان، خوسف و سردشت بود. بنابراین به طور کل و بر اساس کلیه صفات اکوتیپ مشهد در همه محیط‌ها نسبت به سایر اکوتیپ‌ها بهتر بود و به عنوان بهترین اکوتیپ با بالاترین پایداری در همه محیط‌ها معرفی می‌گردد. خطی که از مبدأ مختصات گذشته و بر میانگین محیط‌ها عمود شده است نشان‌دهنده پایداری اکوتیپ‌ها می‌باشد. در نتیجه چون اکوتیپ مشهد فاصله عمودی کمتری دارد از پایداری بیشتری در همه محیط‌ها برخوردار است. اکوتیپ سبزوار با توجه به اینکه بیشترین فاصله را از خط عمود بر محور میانگین‌ها داشت دارای کمترین پایداری بود.

مقایسه اکوتیپ‌ها با استفاده از GGE Biplot در تمام سطوح تنش براساس کلیه صفات

بر پایه نظریه نمودار دوجویی اگر نمودار دوجویی بتواند به اندازه کافی تنوع داده‌ها را توجیه کند، ژنوتیپ‌های قرار گرفته در یک سوی خطوط عمود بر نمودار دوجویی و بالای میانگین عملکرد، دارای عملکرد بالا و ژنوتیپ‌های قرار گرفته در سوی دیگر خطوط عمود بر نمودار دوجویی، عملکرد پایین‌تر از میانگین دارند. مقایسه اکوتیپ‌ها در کلیه سطوح تنش نشان داد که دو مؤلفه اصلی اول (اکوتیپ-اکوتیپ×محیط) ۹۱/۸ درصد (PC2=21.9%, PCI=69.9%) از تغییرات داده‌ها را توجیه نمودند (شکل ۴ الف). از مبدأ مختصات خطی به میانگین محیط‌ها رسم شد که اکوتیپ مشهد در انتهای مثبت این خط قرار گرفت، پس دارای بیشترین میزان صفات نسبت به سایر اکوتیپ‌ها می‌باشد. لازم به ذکر است که کلیه صفات



شکل ۴- الف- مقایسه و بررسی پایداری اکوتیپ‌ها بر اساس کلیه صفات با استفاده از GGE Biplot در تمام سطوح تنش، ب- ارزیابی

اکوتیپ‌ها با استفاده از GGE Biplot در تمام سطوح تنش، ج- تعیین اکوتیپ ایده‌آل با استفاده از GGE Biplot در تمام سطوح تنش

۳=تنش سه، ۶=تنش شش، ۹=تنش نه دسی‌زیمنس بر متر

اکوتیپ‌ها بهتر بود و بهترین ارزیابی را از لحاظ صفات مورد مطالعه داشتند. در تنش شش اگرچه اکوتیپ شبستر بهترین شناخته شد ولی این اکوتیپ چون در رأس چند ضلعی قرار نگرفت و فقط در ناحیه مربوطه قرار گرفت، از این رو اکوتیپ ایده‌آلی نبود.

ارزیابی اکوتیپ‌ها با استفاده از GGE Biplot در تمام سطوح تنش

ارزیابی اکوتیپ‌ها در کلیه محیط‌ها براساس میانگین کلیه صفات (استاندارد شده) نشان داد (شکل ۴ ب) که در تنش سه ds/m اکوتیپ سبزوار، در تنش شش ds/m اکوتیپ شبستر و در تنش نه ds/m اکوتیپ مشهد و تبریز از سایر

کل هیچ‌گونه همبستگی مشاهده نشد. معمولاً بر اثر تنش میزان سوپراکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد (Alscher et al., 2002) و در عوض باعث تجزیه و کاهش غلظت پروتئین‌ها در برگ‌های بالغ شده و در نتیجه اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین افزایش می‌یابد (Ashraf et al., 1994). طول بردار در بای‌پلات تقریباً متناسب با انحراف معیار استاندارد آنهاست، بنابراین طول بردار بیشتر نشان‌دهنده نقش بیشتر آن اکوتیپ یا صفت در توجیه تنوع داده‌های بای‌پلات می‌باشد. در تمام سطوح تنش بیشترین تنوع توجیه شده ناشی از صفت سوپراکسید دیسموتاز بود، این موضوع نشان می‌دهد که سوپراکسید دیسموتاز دارای بالاترین تنوع در میان سایر صفات است. استفاده از چند ضلعی GTBiplot مقایسه اکوتیپ‌ها را بر اساس چندین صفت آسان می‌کند و اکوتیپ‌هایی که از لحاظ بعضی صفات خاص برتر باشند شناسایی می‌نماید. بر این اساس در تمام سطوح تنش اکوتیپ تبریز در محتوای کلروفیل *a*، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، اکوتیپ مشهد در پارامترهای کلروفیل *b* و کلروفیل کل، اکوتیپ بجنورد از نظر پرولین و مالون‌دی‌آلدئید و اکوتیپ روم از نظر سوپراکسید دیسموتاز نسبت به سایر اکوتیپ‌ها برتر بود. بررسی رابطه بین اکوتیپ‌ها با استفاده از GTBiplot نشان می‌دهد که کدام دو والد دارای شباهت و کدام دو والد دارای تفاوت می‌باشند. در صورت انجام تلاقی این امر در انتخاب والدین و بدست آوردن بهترین هیبرید از لحاظ صفت مد نظر می‌تواند مؤثر باشد. البته با در نظر گرفتن دو مؤلفه اول مقدار زیادی از تنوع (<50%) موجود در داده‌های استاندارد شده قابل توجیه بود. با توجه به این امر کسینوس زاویه بین اکوتیپ‌ها می‌تواند در تقریب همبستگی بین آنها به کار رود. بررسی طول بردار در GTBiplot نشان داد که در تمام سطوح تنش بیشترین تنوع توجیه شده ناشی از اکوتیپ روم بود. اکوتیپ‌های کرمان، خوسف، سقز و بجنورد با یکدیگر و اکوتیپ‌های شبستر، سبزوار و تبریز هم با یکدیگر همبستگی مثبت داشتند. البته بین اکوتیپ‌های مشهد و بجنورد همبستگی منفی وجود داشت. با توجه به این امر در صورت انجام تلاقی بهتر است

رتبه‌بندی اکوتیپ‌ها بر اساس اکوتیپ ایده‌آل با استفاده از GGE Biplot در تمام سطوح تنش

اکوتیپ ایده‌آل با توجه به نمودار اکوتیپی است فرضی که از نظر مکانی در وسط دایره‌های متحدالمرکز قرار دارد (شکل ۴ ج). میزان مطلوبیت اکوتیپ‌ها به میزان فاصله آنها از اکوتیپ مطلوب بستگی دارد. اکوتیپ مشهد که در نزدیکی نقطه به دایره‌های متحدالمرکز قرار دارد به‌عنوان اکوتیپ ایده‌آل شناسایی شد و اکوتیپ‌های تبریز، شبستر و روم بعد از سبزوار در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند.

بحث

بررسی رابطه بین صفات با استفاده از GTBiplot نشان داد که تنوع توجیه شده بین ۶۵/۲ تا ۷۲ متغیر می‌باشد. با توجه به اینکه قسمت اعظم واریانس (<50%) توسط بای‌پلات توجیه شد، از این رو ضریب همبستگی بین دو صفت می‌تواند با توجه به کسینوس زاویه بین بردارهای آنها تقریب زده شود. زاویه منفرجه نشان‌دهنده ضریب همبستگی منفی، زاویه حاد نشان‌دهنده ضریب همبستگی مثبت و زاویه قائمه (۹۰ درجه) نشان‌دهنده ضریب همبستگی صفر می‌باشد. بیشترین همبستگی منفی بین میزان پرولین و کلروفیل *b* مشاهده شد. دلیل همبستگی منفی بین پرولین با کلروفیل *b* می‌تواند به این دلیل باشد که بیشترین تجمع پرولین در بافت‌هایی دیده می‌شود که یا از گیاه جدا شده‌اند و یا فاقد کلروفیل هستند (Haidari Sharif Abad, 2000). بیشترین همبستگی مثبت بین کاتالاز با آسکوربات پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدئید و کلروفیل *a* وجود داشت. دلیل این امر این است که سلول‌های گیاهان معمولاً برای مقابله با تنش اکسیداتیو آنزیم‌های سم‌یت‌زایی رادیکال اکسیژن را از قبیل آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز سنتز می‌کنند. کاتالاز یکی از مهمترین جاروب‌کننده‌های H_2O_2 محسوب می‌شود که این عمل را با تبدیل H_2O_2 به آب و O_2 انجام می‌دهد. کاتالاز به همراه آسکوربات پراکسیداز جاروب‌کننده مهم H_2O_2 و در نتیجه تنظیم‌کننده سطح H_2O_2 در سلول می‌باشد (Dixit et al., 2001). البته بین سوپراکسید دیسموتاز با میزان کلروفیل

- Bates, L., Waldren, R. P. and Teare, I. D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Baxevanos, D., Goulas, C., Tzortzios, S. and Mavromatis, A., 2008. Interrelationship among and repeatability of seven stability indices estimated from commercial cotton (*G. hirsutum* L.) variety evaluation trials in three Mediterranean countries. *Euphytica*, 161:371-382.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Cakmak, I. and Horst, W. J., 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of Soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum*, 83: 463-468.
- Dehghani, H., Omid, H. and Sabaghnia, N., 2008. Graphic analysis of trait relations of Rapeseed using the Biplot method. *Agronomy Journal*, 100(100), 1443-1449.
- Dixit, V., Pandey, V. and Shyam, R., 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum*). *Journal of Experimental Botany*, 52: 1101-1109.
- Flowers, T. J., 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 55: 307-319.
- Haidari Sharif Abad, H., 2000. Plant, drought and dry years. Research Institute of Forest and Rangelands Publication, Tehran, 163 p. (In Persian).
- Heath, R. L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125:189-198.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. *Annual Reviews in Plant Science*, 7: 405-415.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22: 867-880.
- Omidbeigi, R., 2007. Approaches to production and processing of medicinal plants, V (II), Tarrahane Nashr Publishing, 424 p. (In Persian).
- Qasim, M., Ashraf, M., Ashraf, M. Y., Rehman, S. U. and Rha, E. S., 2003. Salt-induced changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum*, 46 (4): 629-632.
- Safaei, L., Zeinali, H. and Afyuni, D., 2011. Study of genetic variation of agronomic characteristics in *Foeniculum vulgare* Mill genotypes. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 19(1): 167-180. (In Persian).

که از اکوتیپ‌های دارای همبستگی منفی استفاده شود تا در ایجاد تنوع کمک نماید. وجود همبستگی منفی از لحاظ تئوریک به منزله آن است که این اکوتیپ‌ها از لحاظ صفات مورد بررسی بیشترین تفاوت را دارند، از این رو از یکدیگر دورتر می‌باشند، بنابراین در صورت تلاقی اکوتیپ‌های دور امکان بدست آوردن نتایج بهتر و با تنوع بیشتر خواهد بود. وجود تنوع بالاتر امکان انتخاب را در برنامه‌های اصلاحی بیشتر می‌کند. به عبارت دیگر امکان دارد که این گونه اکوتیپ‌ها در محیط‌های مختلف امکان سازگاری بیشتری را داشته باشند. اکوتیپ‌های دارای همبستگی مثبت شباهت‌های ژنتیکی یکسانی از لحاظ صفات مورد مطالعه دارند، بنابراین در نظر گرفتن یکی از آنها از هر گروه کفایت می‌نماید. وجود همبستگی منفی نشان می‌دهد که این اکوتیپ‌ها زمینه ژنتیکی متفاوتی داشته‌اند که باعث اختلاف آنها شده است، بنابراین اگر بین اکوتیپ‌های با همبستگی منفی تلاقی انجام شود، امکان تفکیک متجاوز و مشاهده اکوتیپ‌های برتر و مناسب از لحاظ صفات مورد مطالعه وجود خواهد داشت. با توجه به این امر بهترین تلاقی در برنامه‌های به نژادی برای نیل به حداکثر تنوع و امکان بدست آوردن هیبریدهای با صفات مطلوب، تلاقی بین اکوتیپ مشهود با بجنورد می‌باشد. در نهایت اینکه نمودار دووجهی ژنوتیپ×صفت نمی‌تواند همه تنوع موجود را در داده‌ها توجیه کند، اما به انتخاب اکوتیپ‌ها بر پایه صفات مؤثرتر کمک می‌کند.

منابع مورد استفاده:

- Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath L. S., 2002. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*, 1331-1341.
- Ashraf, M. and Orooj, A., 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachysormum ammi*- L. Sprague). *Journal of Arid Environments*, 64: 209-220.
- Ashraf, M. Y., Azmi, A. R., Khan, A. H. and Ala, S. A., 1994. Effect of Water Stress on Total Phenol, Peroxidase Activity and Chlorophyll Contents in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 16, 185-191.

- TABNAK., 2019. Retrieved Sep 11, 2019, from <https://www.tabnak.ir/fa/news>.
- Wikipedia., 2019. Retrieved Oct 16, 2019, from <https://fa.wikipedia.org/wiki>.
- Yan, W., 2000. Singular-value partitioning in Biplot analysis of multi-environment trial data. *Agronomy Journal*, 94: 990-996.
- Yan, W. and Rajcan, I., 2002. Biplot Analysis of test sites and trait relations of Soybean in Ontario. *Crop Science*, 42, 11-20.
- Yan, W. and Tinker, N. A., 2006. Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles and applications. *Canadian Journal of Plant Science*, 86: 623-645.
- Zabet, M., 2017. Identification of superior genotypes of Rapeseed by GTBiplot and GGEBiplot methodology in normal and stressed conditions. *Iranian Journal of Field Crop Science*. 48(1):207-220. (In Persian).
- Safarnejad, A. and Hamidi, h., 2016. The study of morphological characteristics of fennel under salinity stress. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 16(1): 125-140. (In Persian).
- Saini, R. S., Sharma, K. D. and Dhankhar, O. P., 2014. *Laboratory Manual of Analytical Techniques in Horticulture*. Agrobios India Publisher, p. 49-50.
- Sedigh, S., Zabet, M., Ghaderi, M. G. and Samadzadeh, A. R., 2016. Identification of Superior varieties of Cotton (*G. hirsutum* L.) under drought stress and normal conditions using GGEBiplot and GTBiplot method in Birjand. *Journal of Crop Breeding*, 8(16): 134-144. (In Persian).
- Shannon, M. C., Grieve, C. M. and Francois, L. E., 1994. Whole plant response to salinity: 199-244. In: Wilkson, R. E. and Vepraskas M. J., (Eds.). *Plant Environment Interactions*. Marcel Dekker, New York, USA, 640p.

Evaluation of salinity stress tolerance of some fennel ecotypes in greenhouse conditions using GTBiplot and GGEbiplot

M. Zabat^{1*}, E. Khaksarnezhad², A. Izanloo³ and M.H. Sayari⁴

1*- Corresponding author, Associ. Prof., College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran,
Email: mzabet@birjand.ac.ir

2- M.Sc. Student of Plant Breeding, College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran,

3-Assist. Prof., College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran,

4- Associ. Prof., College of Agriculture, University of Birjand, Birjand, I.R.Iran,

Received: 15.02.2019

Accepted: 30.10.2019

Abstract

Because of increasing saline lands and decline the desirable agricultural lands for cultivation, the identification of salt-resistant medicinal plants is in high priority. For this purpose, an experiment was conducted to identify sustainable ecotypes of fennel at three levels of salinity stress in the greenhouse of the Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran, during the years 2014-15. The experiment was performed as factorial based on a randomized complete block design with two factors. A) 10 ecotypes as: Sardasht, Saghez, Kerman, Tabriz, Sabzevar, Rum, Khouf, Bojnord, Mashhad and Shabesta and B) three salinity levels: 3, 6 and 9 ds/m of NaCl with three replications. The results showed that, the salinity levels of 3, 6, 9 ds/m explained 72.0, 69.1 and 65.2% of the total variation using GT (Genotype \times Trait) Biplot, respectively. Similarly, for total of salinity stress GT-Biplot explained 65.2% of total variation. Using polygonal diagram of genotype \times trait, in stress 3 ds/m, the highest variation explained by ascorbate peroxidase, chlorophyll a and total chlorophyll, in stress 6 ds/m explained by superoxide dismutase, in stress 9 ds/m explained by chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and superoxide dismutase and in the total salinity stress levels explained by chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and superoxide dismutase, respectively. For all of stress levels, Tabriz ecotype for catalase, proline and malondialdehyde content, Mashhad ecotype for chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and ascorbate peroxidase and Rum ecotype for superoxide dismutase were superior to other ecotypes, respectively. Based on all traits and in all environments, Mashhad ecotype was better and more stable than other ecotypes.

Keywords: Ecotype, Enzyme, Component, Biplot