DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2015.12232

دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۲، شماره ۲، صفحه ۲۷۷-۲۶۱ (۱۳۹۳)

ارزیابی تنوع موجود در توده‌های مختلف گیاه پنیرباد *Withania coagulans* (Stocks) Dunal با تجزیه و تحلیل آماری چندمتغیره

محرم ولی‌زاده[1*]، عبدالرضا باقری[2]، جعفر ولی‌زاده[3]، محمدحسین میرجلیلی[4] و نسرین مشتاقی[5]

۱*- نویسندهٔ مسئول مکاتبات، استادیار، گروه گیاهان داروئی،دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، ایران

پست الکترونیک: m.valizadeh@anrs.usb.ac.ir

۲- استاد، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

۳- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان

۴- استادیار، پژوهشکده گیاهان داروئی و مواد اولیه، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۵- استادیار، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۱۷

چکیده

گیاه پنیرباد (*Withania coagulans*)، متعلق به خانواده سولاناسه، در زمرهٔ گیاهان داروئی و چند منظوره‌ای است که در ایران پراکنش بسیار محدودی داشته و منحصراً در برخی از رویشگاه‌های جنوب شرقی استان سیستان و بلوچستان پراکنش دارد. در این پژوهش، ۲۰ توده مختلف گیاه پنیرباد از رویشگاه‌های مختلف استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شده و تنوع ژنتیکی آنها براساس صفات مورفولوژیکی و با تجزیه آماری چند متغیره مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در صفات مورد بررسی بود ($p<0/05$). در بین صفات مورد بررسی، تعداد شاخه جانبی و طول ریشه به‌ترتیب با ۶۰/۸۲ و ۱۳/۲۸ درصد، بیشترین و کمترین ضریب تنوع را نشان داد. در بین توده های مختلف مورد بررسی توده‌های منطقه پیگل و دامین از نظر اکثر صفات مورد بررسی بهتر از سایر توده‌ها بودند. نتایج حاصل از تجزیه به‌مؤلفه‌های اصلی نیز نشان داد که سه مؤلفه اول با مقادیر ویژه بیشتر از یک، جمعاً ۸۲/۶۲ درصد از کل تغییرات موجود بین توده‌ها را توجیه نمودند. تجزیه خوشه‌ای انجام شده به‌روش Ward و فاصله اقلیدسی، توده‌های مورد بررسی را در ۳ گروه طبقه‌بندی نمود. با توجه به‌نتایج گروه‌بندی، ارتباطی بین تنوع ژنتیکی و فاصله جغرافیائی توده‌ها مشاهده نگردید و این امر بیانگر تاثیر سایر عوامل به‌غیر از الگوی پراکنش جغرافیائی در تنوع ژنتیکی است. براساس نتایج این تحقیق، تنوع ژنتیکی قابل توجهی بین توده‌های پنیرباد موجود در کشور وجود دارد. استفاده از این اطلاعات در تدوین برنامه‌های حفاظت و به‌نژادی این گیاه می‌تواند مفید واقع شود.

واژه‌های کلیدی: پنیرباد، تجزیه خوشه‌ای، تنوع ژنتیکی، صفات مورفولوژیکی.

مقدمه

گیاه داروئی پنیرباد با نام علمی *Withania coagulans* Dunal (Stocks)، متعلق به تیره سیب‌زمینی بوده و به‌صورت گیاهی بوته‌ای یا تقریباً درختچه‌ای به ارتفاع ۱۲۰-۳۰ سانتی‌متر با برگ‌های سبز کدر و با جام گلی به رنگ زرد دیده می‌شود. این گونه به‌صورت دوپایه و دگرگشن بوده و در آن گل‌های ماده با پرچم‌های رشد نیافته ظاهر می‌شود (Jain *et al.*, 2012). این گیاه یکی از گونه‌های است که پراکنش محدودی در سطح دنیا داشته و به‌طور عمده در مناطق شرقی مدیترانه تا جنوب آسیا منجمله پاکستان، شمال غربی هند، افغانستان و ایران گسترش می‌یابد (Jain *et al.*, 2012). پراکنش این گونه با ارزش در ایران، منحصراً محدود به برخی رویشگاه‌های استان سیستان و بلوچستان بوده و به‌طور عمده در رویشگاه‌های اطراف شهرستان سراوان، گشت، خاش، ایرانشهر، دامن، نیک شهر، قصر قند و سرباز دیده می‌شود (Valizadeh & Valizadeh, 2011). این استان مرکز مهم تنوع برای گونه پنیرباد بوده و اعتقاد بر این است که ژرم پلاسم موجود در این استان حاوی منابع ارزشمندی از ژن‌های مهم برای صفات آگرونومیکی می‌باشد. علاوه بر این، این استان به‌دلیل داشتن رویشگاه‌های طبیعی می‌تواند منطقه مستعد برای حفاظت، اهلی‌سازی و اصلاح تیپ شیمیائی برتر در نظر گرفته شود.

در طی سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای در خصوص ویژگی‌های فارماکولوژیکی گونه پنیرباد انجام گرفته و مشخص شده که بسیاری از این ویژگی‌ها به‌دلیل وجود گروهی از ترکیبات استروئیدی ۲۸ کربنی به‌نام ویتانولیدها در اندام‌های مختلف این گیاه است (Jain *et al.*, 2012., Uddin *et al.*, 2012). مهمترین انواع ویتانولیدهای موجود در این گونه، ویتافرین A (Withaferin A)، ویتانولید A (Withanolide A) و ویتانون (Withanon) می‌باشد. در تحقیقات انجام شده در طی سال‌های اخیر، اثرات ضد سرطانی ویتافرین A در خصوص طیف وسیعی از سلول‌های سرطانی منجمله سلول‌های سرطانی خون، سلول‌های سرطانی سینه، پروستات و سلول‌های ملانوما گزارش شده است (Siriwadane *et al.*, 2013). ترکیب ویتافرین A می‌تواند در درمان اختلالات عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون نیز مورد استفاده قرار گیرد (Sangwan *et al.*, 2007). علاوه بر این، به‌دلیل وجود پروتئازهای منعقدکننده شیر در میوه‌ها، از این گیاه به‌طور سنتی در منطقه بلوچستان ایران و همچنین در کشورهائی مانند پاکستان و افغانستان در تولید پنیر استفاده می‌شود (Beigomi *et al.*, 2013). با توجه به بومی بودن گیاه داروئی پنیرباد در استان سیستان و بلوچستان و همچنین ظرفیت بالای این گیاه در استقرار و تحمل شرایط دشوار اکولوژیکی حاکم بر این منطقه به‌نظر می‌رسد که علاوه بر کاربرد آن در غنی‌سازی پوشش گیاهی منطقه که عامل قابل توجهی در راستای جلوگیری از جریان روان‌آبهای مخرب و همچنین تثبیت شن‌های روان می‌باشد، بتوان از این گیاه در راستای اهدافی مانند صنایع داروئی و غذائی بهره گرفت.

ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی نه تنها مقدمه‌ای برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی بوده، بلکه به‌منظور دستیابی به تنوع اولیه برای افزایش کارآئی برنامه‌های اصلاحی نیز ضروری است (Esquinas Alcazar, 2005., Espahbodi *et al.*, 2006). این ارزیابی‌ها معمولاً براساس نشانگرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیایی، سیتوژنتیکی و مولکولی انجام می‌گیرد (Farshadfar *et al.*, 2008) . هر کدام از این نشانگرها دارای معایب و مزایای خاص خود بوده و باید به موقع و مناسب از آنها استفاده گردد. اگرچه در برخی موارد نشانگرهای مولکولی در مطالعات تنوع ژنتیکی ترجیح داده می‌شوند، اما استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی به‌دلیل سهولت و کم‌هزینه بودن در ارزیابی‌های مقدماتی مناسب بوده و می‌توانند به‌عنوان رویکردی عمومی در بررسی تنوع ژنتیکی بین توده‌ها استفاده گردند (Weising *et al.*, 2005). استفاده از این ویژگی‌ها، توام با بکارگیری روش‌های آنالیز آماری چند متغیره، مانند تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و تجزیه خوشه‌ای، روش‌هائی مناسب برای غربال توده‌ها می‌باشد (Chalak *et al.* 2007; Sorkheh *et al.*, 2010).

تاکنون از ویژگی‌های مورفولوژیکی، روش‌های آماری چند متغیره و تجزیه عامل‌ها در مطالعات و طبقه‌بندی گونه-های مختلف گیاهی استفاده شده است (Fatahi *et al.*, 2004; Giorgio & Poliango, 2001). در این خصوص Al Khanjari و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش کردند که صفات ساده مورفولوژیکی می‌توانند در بررسی تنوع موثر واقع شوند. در برخی مطالعات نیز ارزیابی تنوع مورفولوژیکی اطلاعات کافی را در خصوص ساختار ژرم‌پلاسم برای اجرای برنامه‌های هیبریداسیون فراهم نموده است (Porter *et al.*, 1974). هر چند که خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی همواره تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند (Jones & Wilkins, 1971)، با این وجود ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی به‌عنوان اولین گام در توصیف و طبقه‌بندی ژرم پلاسم و قبل از شروع مطالعات بیوشیمیائی و مولکولی توصیه شده است (Hoogendijk & Williams, 2001). با توجه به اینکه در گونه پنیرباد عملکرد ریشه از نظر استحصال مواد داروئی اهمیت دارد، لذا انتخاب توده‌هائی که حاوی صفات مرتبط با عملکرد ریشه باشند می‌تواند در اصلاح این گیاه داروئی اهمیت قابل توجهی داشته باشد. در ایران تاکنون هیچ گونه اقدامی در راستای جمع‌آوری ژرم‌پلاسم گونه چند منظوره *W.coagulans* صورت نگرفته است. لذا این تحقیق با هدف جمع آوری ذخایر ژنتیکی و بررسی تنوع توده‌های مختلف براساس صفات مورفولوژیکی و روش‌های آماری چند متغیره به‌عنوان اولین گام در راستای حفاظت و اصلاح این گونه با ارزش انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این پژوهش بذور ۲۰ توده مختلف گیاه داروئی پنیرباد در تابستان سال ۱۳۹۰ از رویشگاه‌های مختلف استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری گردید. با توجه به عدم نشاء پذیری گیاهچه‌های این گونه گیاهی، بذور توده‌های مختلف به‌صورت کشت مستقیم و در مهرماه سال ۱۳۹۰ در گلخانه تحقیقاتی مرکز پژوهشی گیاهان داروئی و زینتی دانشگاه سیستان و بلوچستان (عرض جغرافیائی '۲۷ °۲۹ شمالی و طول جغرافیائی '۵۱ °۶۰ شرقی و ارتفاع ۱۳۸۱ متر از سطح دریا)، در واحدهای آزمایشی متشکل از ۵ ردیف و با در نظر گرفتن فاصله ردیف‌ها یک متر و به‌صورت متراکم کشت شد. پس از کشت، بلافاصله آبیاری صورت گرفت. آبیاری تا مرحله ۳ تا ۴ برگی هر ۴ روز یکبار و به‌صورت غرقابی انجام گرفت و پس از این مرحله، فواصل دوره‌های آبیاری به یک هفته افزایش یافت. در مرحله ۳ تا ۴ برگی، بوته‌ها تنک و فاصله آنها در هر ردیف کشت، در حدود ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. با توجه به‌مناسب بودن خاک کرت‌های مورد استفاده و بازدیدهای مکرر و عدم وجود علائم کمبود عناصر غذائی و همچنین عدم مشاهده علائمی مبنی بر وجود آفات و بیماری‌ها، هیچ گونه اقدامی در خصوص مصرف کود و یا سم صورت نگرفت. کنترل علف‌های هرز نیز به‌صورت وجین دستی صورت گرفت. پس از گذشت حدود دو ماه از ظهور گیاهچه‌ها، با در نظر گرفتن دو ردیف کناری به‌عنوان حاشیه در هر واحد آزمایشی اقدام به جمع‌آوری داده‌ها گردید.

ارزیابی صفات

با توجه به اینکه تاکنون راهنمائی ارزیابی (توصیف‌گر) برای شناسائی ژنوتیپ‌ها و یا ارقام گونه گیاهی پنیرباد معرفی نشده است، لذا در این پژوهش پس از گذشت حدود ۶۰ روز از استقرار بوته‌ها تعداد ۱۸صفت مورفولوژیکی مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های جانبی، تعداد گره، وزن تر و خشک اندام هوائی، سطح برگ، تعداد، وزن تر و وزن خشک برگ، طول، قطر، حجم، وزن تر و وزن خشک ریشه، تعداد و طول ریشه‌های فرعی و نسبت وزن ریشه به

اندام هوائی با در نظر گرفتن ۵ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. اندازه‌گیری حجم ریشه نیز با انتقال ریشه به داخل استوانه مدرج با میزان مشخص آب و تعیین تغییرات حجم آب بر حسب سانتی‌متر مکعب برآورد گردید. برای اندازه‌گیری سطح برگ نیز از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (CI-202) Area Meter, USA استفاده گردید.

تجزیه آماری داده‌ها

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف پنیرباد، تجزیه واریانس مربوط به صفات مورفولوژیکی با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS (Ver.21) و Statistica (Ver.8) صورت گرفت. به‌منظور حذف اثر مقیاس اندازه گیری صفات مختلف، تمامی داده‌ها قبل از تجزیه خوشه‌ای استاندارد گردید. برای مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد ($p<0/05$). برای گروه‌بندی توده‌های مورد بررسی نیز تجزیه خوشه‌ای به‌روش وارد با استفاده از فاصله اقلیدسی انجام گردید. روش چند متغیره تجزیه به عامل‌ها نیز با استفاده از تجزیه به‌مؤلفه‌های اصلی و با انجام چرخش وریماکس انجام گرفت و در هر عامل اصلی و مستقل ضرایب عاملی بیشتر از یک معنی‌دار در نظر گرفته شدند. قبل از تحلیل عاملی نیز، شاخص KMO و آزمون بارتلت برای ارزیابی مناسب بودن داده‌ها برای تجزیه محاسبه گردید. از تجزیه دوبعدی نیز برای بدست آوردن تصویر پراکنش توده‌ها براساس نتایج تجزیه به عامل‌ها استفاده شد.

نتایج

بررسی کلی صفات

ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاه چند منظوره پنیرباد (*W. coagulans*) با تجزیه و تحلیل آماری بر روی داده‌های حاصل از ۱۸ صفت مورفولوژیکی بررسی شد. آماره‌های توصیفی نظیر میانگین، حداقل، حداکثر و ضریب تغییرات (CV%) نشان دهنده تنوع ژنتیکی بالایی برای اکثر صفات مورد مطالعه بودند. نتایج مربوط به بررسی آماره‌های توصیفی بر روی داده‌های مربوط به صفات مورفولوژیکی نشان داد که بیشترین مقدار ضریب تغییرات فنوتیپی به‌ترتیب مربوط به صفات تعداد شاخه جانبی (۶۰/۸۲٪) و طول شاخه جانبی (۵۶/۷۰٪) می‌باشد (جدول ۱). کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی نیز در صفت طول ریشه (۱۳/۲۸٪) مشاهده شد.

با مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی مشخص شد که توده‌ها در تمامی ویژگی‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری از خود نشان می‌دهند ($p<0/05$). با مراجعه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که میانگین ارتفاع بوته در جمعیت‌های حاصل از توده‌های کوهک (۱)، سراوان (۶)، گشت (۷)، پیگل (۸)، لهاباد (۱۸) و دامین (۲۱) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته و در مقایسه با سایر توده‌ها بیشترین مقدار بوده است. در این میان کمترین ارتفاع بوته نیز در توده‌های سیاهکان، پیپ و سیرکان مشاهده شد (جدول ۳). از لحاظ تعداد شاخه‌های جانبی و عملکرد تر ریشه نیز دو توده پیگل و دامین بیشترین مقادیر را داشتند. با توجه به اهمیت عملکرد ریشه در این گیاه داروئی و با مراجعه به جدول ۳ مشاهده می‌شود که توده‌های دامین (۲۱) و هیدوچ (۵) از نظر عملکرد ریشه اختلاف معنی‌داری نداشته ($p<0/05$) و در مقایسه با سایر توده‌ها، به‌ترتیب با ۴/۵۱ و ۴/۳۸ گرم در بوته، بیشترین عملکرد ریشه را از نظر وزن خشک تولید نمودند. از نظر عملکرد وزن تر ریشه نیز توده‌های پیگل، دامین و پسکوه بیشترین عملکرد در بوته را نشان دادند.

جدول ۱- آماره‌های توصیفی مورد بررسی در جمعیت‌های ۲۰ توده مختلف گیاه پنیرباد (*Withania coagulans*)

ردیف	صفت	میانگین	حداقل	حداکثر	ضریب تغییرات (CV)
۱	ارتفاع بوته	۳۵/۶۳	۱۳/۲۵	۵۲/۸۰	۲۰/۴۰
۲	تعداد شاخه جانبی	۶/۵۱	۰	۲۱/۰۰	۶۰/۸۲
۳	طول شاخه جانبی	۷/۴۱	۰	۱۷/۷۴	۵۶/۷۰
۴	تعداد گره	۲۰/۴۱	۱۴/۰۰	۲۹/۰۰	۱۶/۰۷
۵	وزن تر اندام هوائی	۴۹/۰۱	۸/۵۴	۱۴۳/۵۲	۵۶/۱۲
۶	وزن خشک هوائی	۷/۸۲	۱/۵۸	۲۲/۲۵	۵۲/۱۸
۷	تعداد برگ	۶۴/۰۰	۱۸/۰۰	۱۹۰/۰۰	۵۵/۳۱
۸	وزن تر برگ	۳۴/۱۹	۶/۶۳	۹۵/۹۶	۵۴/۳۵
۹	وزن خشک برگ	۴/۹۷	۱/۰۳	۱۲/۶۵	۴۸/۵۹
۱۰	سطح برگ	۷۰۴/۵۲	۱۱۹/۳۲	۲۱۱۰/۹۳	۵۴/۲۳
۱۱	طول ریشه	۲۶/۱۷	۱۵/۵۰	۳۸/۰۰	۱۳/۲۸
۱۲	قطر ریشه	۱/۱۶	۰/۷۵	۱/۵۱	۱۵/۷۸
۱۳	وزن تر ریشه	۱۲/۷۷	۴/۴۸	۲۶/۱۳	۳۹/۹۴
۱۴	وزن خشک ریشه	۲/۵۰	۰/۷۳	۵/۱۰	۴۵/۰۲
۱۵	حجم ریشه	۱۲/۰۱	۴/۰۰	۲۴/۹۰	۴۰/۴۹
۱۶	تعداد ریشه فرعی	۷/۰۲	۳/۰۰	۱۴/۰۰	۳۲/۰۹
۱۷	طول ریشه فرعی	۱۴/۲۵	۹/۳۱	۲۱/۵۰	۱۷/۹۰
۱۸	نسبت ریشه به ساقه	۰/۳۴	۰/۸۳	۰/۱۷	۴۰/۱۵

تجزیه و تحلیل همبستگی بین صفات

برای بررسی و ردیابی وجود و یا عدم وجود رابطه خطی میان صفات مورد مطالعه، از ضرایب همبستگی پیرسون استفاده گردید (جدول ۳). با توجه به اهمیت ریشه از نظر وجود ترکیبات داروئی و استحصال ترکیب ویتافرین A، بررسی همبستگی صفات مختلف با عملکرد ریشه در راستای بهره‌برداری به‌نژادی در این گیاه از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. عملکرد تر ریشه با وزن خشک اندام هوائی و وزن خشک برگ همبستگی مثبت و قابل توجهی نشان داد (r=۰/۸۸). همبستگی بین وزن خشک ریشه به جزء با صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، طول شاخه جانبی و طول ریشه با سایر صفات مورد بررسی مثبت و معنی‌دار بود. در این میان بیشترین همبستگی بین وزن خشک ریشه با وزن‌تر ریشه، وزن خشک برگ و تعداد برگ بود (جدول ۳). طول ریشه نیز به جز با وزن تر برگ (r=-۰/۳۶) با سایر صفات مورد بررسی همبستگی معنی‌داری نداشت. بالاترین مقدار ضریب همبستگی بین وزن تر /خشک برگ و وزن تر/خشک اندام هوائی (r=۰/۹۹) و حجم ریشه با وزن تر ریشه مشاهده گردید (r=۰/۹۹). همچنین بین سطح برگ و وزن تر اندام هوائی همبستگی بالائی مشاهده گردید (r=۰/۹۸). ضرایب همبستگی صفات مختلف دیگر در جدول ۴ نشان داده شده است.

مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در ۲۰ توده مختلف گیاه داروئی پنیرباد (*Withania coagulans*)

تعداد گره	وزن تر اندام هوائی	وزن خشک هوائی	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	سطح برگ	طول ریشه	قطر ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	تعداد ریشه فرعی	طول ریشه فرعی	نسبت ریشه به ساقه
۲۲/۴۰$^{b-d}$	۵۳/۳۰$^{b-d}$	۸/۳۳$^{b-d}$	۶۳/۴۰$^{b-e}$	۳۵/۲۳$^{b-d}$	۴/۹۳$^{b-e}$	۷۷۸/۴۰$^{c-f}$	۲۹/۸۶^{a}	۱/۱۰$^{b-g}$	۱۱/۷۵$^{b-e}$	۲/۳۶$^{b-e}$	۱۰/۲۱$^{c-f}$	۵/۱۰^{e}	۱۴/۰۵$^{a-c}$	۰/۲۷$^{d-h}$
۱۷/۶۰^{g}	۳۳/۱۵$^{c-e}$	۴/۹۲$^{c-e}$	۶۱/۱۰$^{b-e}$	۲۳/۱۰$^{d-e}$	۳/۲۱$^{d-e}$	۴۷۱/۷۹$^{e-h}$	۲۶/۱۷$^{a-e}$	۱/۰۴$^{c-g}$	۷/۲۷^{e}	۱/۱۶^{f}	۶/۳۲^{f}	۶/۶۰$^{b-e}$	۱۴/۰۸$^{a-c}$	۰/۲۳$^{f-h}$
۱۷/۲۰^{g}	۲۵/۸۹^{de}	۴/۰۸$^{d-e}$	۴۰/۵۰$^{c-e}$	۱۷/۶۲$^{b-d}$	۲/۷۴$^{b-e}$	۴۱۰/۸۶$^{e-h}$	۲۸/۸۰$^{a-c}$	۰/۹۷$^{f-g}$	۷/۷۲$^{d-e}$	۱/۲۷$^{e-f}$	۷/۱۶$^{e-f}$	۵/۰۰^{e}	۱۳/۷۵$^{a-c}$	۰/۳۰$^{c-f}$
۱۸/۵۰^{g}	۲۹/۰۲^{de}	۵/۵۳$^{b-e}$	۴۰/۳۰$^{c-e}$	۲۱/۵۵$^{d-e}$	۳/۵۵$^{c-e}$	۴۶۴/۸۳$^{e-h}$	۲۹/۴۳$^{a-b}$	۱/۰۸$^{b-g}$	۱۱/۶۲$^{b-e}$	۳/۰۰$^{b-c}$	۱۱/۰۲$^{b-f}$	۶/۵۰$^{c-e}$	۱۴/۰۵$^{a-c}$	۰/۵۵^{b}
۱۸/۸۰$^{e-g}$	۲۶/۴۸^{de}	۶/۰۸$^{b-e}$	۳۷/۲۰$^{d-e}$	۱۹/۲۵$^{d-e}$	۳/۸۸$^{b-e}$	۳۹۷/۳۶$^{f-h}$	۲۹/۹۳^{a}	۱/۰۳$^{d-g}$	۱۳/۹۲$^{b-d}$	۴/۳۸^{a}	۱۲/۸۳$^{b-e}$	۸/۵۰$^{a-d}$	۱۲/۲۹^{c}	۰/۷۳^{a}
۱۹/۵۰$^{c-g}$	۳۸/۸۹$^{b-e}$	۶/۳۴$^{b-e}$	۴۲/۲۰$^{b-e}$	۲۶/۴۸$^{c-e}$	۳/۹۰$^{b-e}$	۵۰۸/۵۱$^{d-h}$	۲۴/۹۶$^{c-f}$	۱/۰۹$^{b-g}$	۹/۹۶$^{d-e}$	۱/۵۷$^{e-f}$	۹/۵۰$^{d-f}$	۵/۵۰^{e}	۱۲/۸۷$^{b-c}$	۰/۲۴$^{e-h}$
۱۹/۲۰$^{c-g}$	۶۴/۳۷^{b}	۸/۶۲$^{b-d}$	۶۴/۹۰$^{b-e}$	۴۴/۱۶$^{b-c}$	۵/۴۱$^{b-d}$	۹۲۶/۵۷$^{b-c}$	۲۴/۶۷$^{c-f}$	۱/۲۱$^{a-e}$	۱۲/۱۴$^{b-e}$	۱/۸۷$^{c-f}$	۱۱/۷۷$^{b-f}$	۷/۳۰$^{b-e}$	۱۳/۳۹$^{b-c}$	۰/۲۱$^{g-h}$
۲۲/۶۰$^{b-c}$	۱۰۰/۱۵^{a}	۱۵/۱۳^{a}	۱۱۶/۴۰^{a}	۶۷/۰۱^{a}	۹/۱۰^{a}	۱۴۷۴/۰۴^{a}	۲۳/۵۵$^{d-f}$	۱/۳۱$^{a-b}$	۱۶/۹۱$^{a-b}$	۳/۰۲$^{b-c}$	۱۶/۱۱$^{a-c}$	۹/۲۰$^{a-b}$	۱۷/۰۸^{a}	۰/۲۰^{h}
۲۱/۶۰$^{b-f}$	۴۸/۲۶$^{b-e}$	۷/۱۰$^{b-e}$	۶۶/۳۰$^{b-d}$	۳۲/۹۸$^{b-e}$	۴/۵۲$^{b-e}$	۷۳۹/۰۱$^{c-g}$	۲۵/۳۲$^{b-e}$	۱/۲۶$^{a-c}$	۱۲/۸۶$^{b-e}$	۲/۰۵$^{b-f}$	۱۲/۳۱$^{b-e}$	۶/۳۰$^{c-e}$	۱۴/۴۳$^{a-c}$	۰/۲۸$^{c-g}$
۱۹/۸۰$^{c-g}$	۵۲/۱۱$^{b-d}$	۸/۲۰$^{b-e}$	۶۶/۵۰$^{b-d}$	۳۵/۱۱$^{b-e}$	۵/۱۶$^{b-d}$	۸۱۳/۴۵$^{c-e}$	۲۵/۸۲$^{a-e}$	۱/۲۲$^{a-d}$	۱۳/۶۰$^{b-d}$	۲/۷۴$^{b-d}$	۱۳/۰۹$^{b-e}$	۷/۵۰$^{b-e}$	۱۳/۱۶$^{b-c}$	۰/۳۷^{c}
۲۶/۶۰^{a}	۹۸/۰۱^{a}	۱۵/۱۱^{a}	۱۴۰/۸۰^{a}	۷۰/۶۳^{a}	۹/۳۶^{a}	۱۲۶۹/۸۶$^{a-b}$	۲۵/۱۴$^{b-f}$	۱/۲۹$^{a-b}$	۲۱/۷۴^{a}	۴/۵۱^{a}	۲۰/۱۴^{a}	۱۰/۲۰^{a}	۱۶/۲۶^{ab}	۰/۳۰$^{c-f}$
۲۱/۸۰$^{b-f}$	۵۲/۹۱$^{b-d}$	۹/۴۳$^{b-c}$	۷۷/۷۰$^{b-c}$	۳۶/۱۵$^{b-d}$	۵/۹۷$^{b-c}$	۷۴۸/۰۲$^{c-g}$	۲۶/۷۸$^{a-d}$	۱/۲۶$^{a-c}$	۱۵/۸۹$^{b-c}$	۳/۰۲$^{b-c}$	۱۴/۷۳$^{a-d}$	۸/۸۰$^{a-c}$	۱۵/۴۰$^{a-c}$	۰/۳۳$^{c-e}$
۱۷/۳۰^{g}	۲۱/۴۹^{e}	۳/۷۱^{e}	۲۶/۸۰^{e}	۱۵/۵۸^{e}	۲/۴۴^{e}	۲۹۷/۶۶^{h}	۲۷/۹۰$^{a-c}$	۰/۹۶^{g}	۸/۳۹$^{d-e}$	۱/۸۰$^{d-f}$	۸/۱۱$^{e-f}$	۵/۰۰^{e}	۱۳/۸۳$^{a-c}$	۰/۴۸^{b}
۱۸/۹۰$^{d-g}$	۴۸/۳۲$^{b-e}$	۷/۹۲$^{b-e}$	۶۴/۳۰$^{b-e}$	۳۳/۸۱$^{b-e}$	۵/۳۷$^{b-d}$	۷۳۶/۱۰$^{c-g}$	۲۷/۲۵$^{a-d}$	۱/۲۰$^{a-e}$	۱۲/۴۴$^{b-e}$	۲/۳۶$^{b-e}$	۱۱/۴۷$^{b-f}$	۸/۲۰$^{a-d}$	۱۵/۰۶$^{a-c}$	۰/۳۰$^{c-f}$
۱۷/۵۰^{g}	۲۵/۶۰^{de}	۴/۳۴$^{d-e}$	۳۸/۶۰$^{c-e}$	۱۹/۱۶$^{b-d}$	۳/۰۲$^{d-e}$	۳۵۸/۶۱$^{g-h}$	۲۴/۵۵$^{c-f}$	۰/۹۹$^{e-g}$	۱۰/۲۰$^{c-e}$	۲/۱۶$^{b-f}$	۹/۴۵$^{d-f}$	۶/۲۰$^{c-e}$	۱۶/۱۴$^{a-b}$	۰/۵۱^{b}
۱۹/۹۰$^{c-g}$	۶۴/۹۹^{b}	۱۰/۰۳^{b}	۷۵/۵۰$^{b-d}$	۴۶/۵۴^{b}	۶/۴۴^{b}	۹۲۹/۴۱$^{b-c}$	۲۶/۶۸$^{a-d}$	۱/۲۶$^{a-c}$	۱۵/۶۸$^{c-e}$	۲/۸۸$^{b-d}$	۱۴/۹۰$^{a-d}$	۶/۲۰$^{c-e}$	۱۲/۹۳$^{b-c}$	۰/۳۰$^{c-f}$
۲۴/۷۰$^{a-b}$	۴۷/۵۴$^{b-e}$	۸/۳۵$^{b-d}$	۸۰/۳۰^{b}	۳۲/۶۲$^{b-e}$	۵/۳۷$^{b-d}$	۶۴۷/۵۲$^{c-h}$	۲۷/۴۸$^{a-d}$	۱/۱۹$^{a-f}$	۱۴/۹۱$^{b-c}$	۲/۹۸$^{b-c}$	۱۴/۵۳$^{b-d}$	۶/۰۰$^{d-e}$	۱۵/۹۶$^{a-b}$	۰/۳۶^{c}
۲۲/۱۰$^{b-e}$	۴۳/۳۶$^{b-e}$	۶/۲۸$^{b-e}$	۴۶/۲۰$^{b-e}$	۳۰/۶۷$^{b-e}$	۳/۹۳$^{b-e}$	۵۷۱/۴۳$^{c-h}$	۲۱/۰۳^{f}	۱/۱۳$^{b-g}$	۹/۶۹$^{c-e}$	۱/۴۸$^{e-f}$	۹/۲۸$^{d-f}$	۵/۱۰^{e}	۱۳/۱۹$^{b-c}$	۰/۲۳$^{f-h}$
۲۰/۲۰$^{c-g}$	۴۵/۱۴$^{b-e}$	۷/۴۳$^{b-e}$	۶۰/۱۰$^{b-e}$	۳۳/۱۵$^{b-e}$	۵/۱۵$^{b-d}$	۶۵۵/۴۵$^{c-h}$	۲۲/۱۶$^{e-f}$	۱/۱۷$^{b-g}$	۱۱/۳۶$^{b-e}$	۲/۲۴$^{b-f}$	۱۱/۰۸$^{b-f}$	۸/۴۰$^{a-d}$	۱۵/۲۷$^{a-c}$	۰/۳۰$^{c-f}$
۲۲/۱۰$^{b-e}$	۶۱/۲۱$^{b-c}$	۹/۵۵^{b}	۷۱/۰۰$^{b-d}$	۴۳/۰۸$^{b-c}$	۵/۹۶$^{b-c}$	۸۹۱/۴۴$^{c-d}$	۲۶/۱۰$^{a-e}$	۱/۴۰^{a}	۱۷/۳۵$^{a-b}$	۳/۱۷^{b}	۱۶/۳۷$^{a-b}$	۸/۹۰$^{a-c}$	۱۱/۸۰^{c}	۰/۳۵$^{c-d}$

آماری معنی‌دار نمی باشند ($p<۰/۰۵$)

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات به کار رفته در تجزیه عامل‌ها

تعدا د گره	وزن تر اندام هوائی	وزن خشک هوائی	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	سطح برگ	طول ریشه	قطر ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	تعداد ریشه فرعی	طول ریشه فرعی
۰/۷۳**													
۰/۷۷**	۰/۹۷**												
۰/۷۹**	۰/۹۳**	۰/۹۴**											
۰/۷۳**	۰/۹۹**	۰/۹۷**	۰/۹۳**										
۰/۷۵**	۰/۹۷**	۰/۹۹**	۰/۹۴**	۰/۹۷**									
۰/۶۷**	۰/۹۸**	۰/۹۶**	۰/۹۰**	۰/۹۸**	۰/۹۵**								
-۰/۲۳ns	-۰/۳۵ns	-۰/۲۵ns	-۰/۲۵ns	-۰/۳۶*	-۰/۲۷ns	-۰/۳۲ns							

ادامه جدول ۳- ضرایب همبستگی ...

تعدا د گره	وزن تر اندام هوائی	وزن خشک هوائی	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	سطح برگ	طول ریشه	قطر ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	تعداد ریشه فرعی	طول ریشه فرعی
۰/۶۷**	۰/۷۹**	۰/۷۹**	۰/۷۳**	۰/۷۹**	۰/۸۰**	۰/۸۱**	-۰/۳۲**						
۰/۷۷**	۰/۸۰**	۰/۸۸**	۰/۸۲**	۰/۸۱**	۰/۸۸**	۰/۷۸**	-۰/۰۵ns	۰/۷۹**					
۰/۵۳**	۰/۴۶*	۰/۶۰**	۰/۵۳**	۰/۴۸*	۰/۶۱**	۰/۴۴*	۰/۲۵ ns	۰/۴۳**	۰/۸۴**				
۰/۷۶**	۰/۷۹**	۰/۸۷**	۰/۸۱**	۰/۸۱**	۰/۸۸**	۰/۷۸**	-۰/۰۹ns	۰/۸۱**	۰/۹۹**	۰/۸۳**			
۰/۴۱*	۰/۶۲**	۰/۷۰**	۰/۶۶**	۰/۶۴**	۰/۷۳**	۰/۶۲**	-۰/۱۷ns	۰/۶۴**	۰/۷۵**	۰/۷۰**	۰/۷۴**		
۰/۳۶ns	۰/۳۷*	۰/۴۰*	۰/۵۳**	۰/۳۷ns	۰/۴۳*	۰/۳۶ns	-۰/۲۳ns	۰/۱۱**	۰/۲۶ns	۰/۱۵ns	۰/۲۵ns	۰/۲۹ns	
-۰/۳۳ns	-۰/۵۱**	-۰/۳۶*	-۰/۴۴*	۰/۴۹*	-۰/۳۷ns	-۰/۵۱*	۰/۵۲**	-۰/۴۱*	-۰/۰۱ns	۰/۴۶*	-۰/۰۲ns	۰/۰۳ns	-۰/۱۸ns

ح احتمال ۵٪

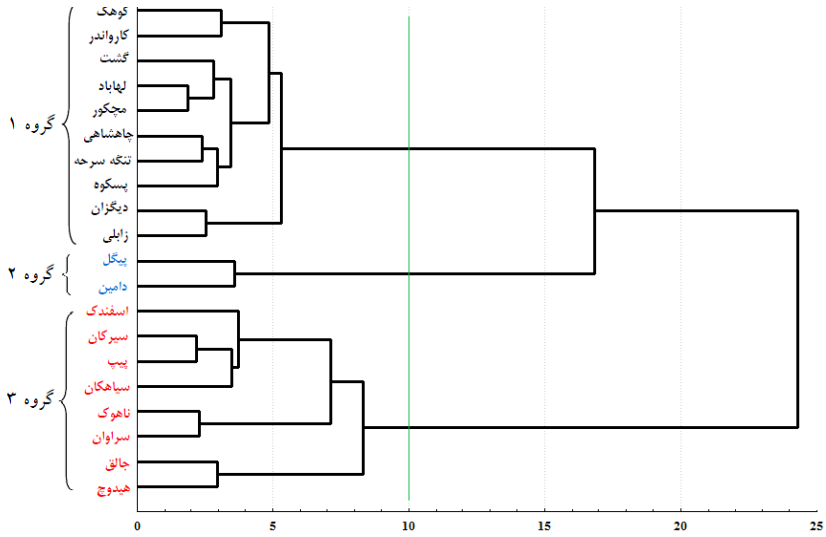
تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای رسیدن به اهداف تشریح و توجیه تنوع موجود در جامعه، تعیین سهم هر صفت در تنوع و کاهش تعداد متغیرهای اصلی از طریق محاسبه مؤلفه‌های غیر همبسته که ترکیبی از متغیرهای اصلی می‌باشند، استفاده می‌شود (Farahani & Arzani, 2008). قبل از انجام تحلیل عاملی، ابتدا کفایت نمونه‌گیری و مناسب بودن تحلیل عاملی با استفاده از شاخص KMO و آزمون بارتلت مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش مقدار بدست آمده شاخص KMO (۰/۸۵) و معنی‌داری آزمون بارتلت نشان دهنده معتبر بودن نتایج تحلیل عاملی برای داده‌های مورد نظر بود. به‌منظور تعیین مؤلفه‌های تغییر و تعیین مهمترین صفات مورفولوژیکی موثر در ایجاد تنوع بین توده‌های مختلف پنیرباد، از تجزیه به‌مؤلفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. مؤلفه‌هایی که مقدار ویژه یا به‌عبارت دیگر واریانس آنها بیشتر از یک بود، استخراج شد. تجزیه و تحلیل داده‌های صفات مورفولوژیکی منجر به شناسایی سه مؤلفه شد که مقادیر ویژه عامل‌های اول تا سوم در آنها به‌ترتیب ۱۱/۸۸، ۲/۵۰ و ۱/۲۰ درصد بود. این سه مؤلفه در مجموع ۸۶/۶۲ درصد از واریانس کل موجود در ۱۸ متغیر مورد بررسی را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

جدول ۴- بار عاملی دوران یافته مؤلفه‌ها، مقادیر ویژه، واریانس و واریانس تجمعی در ارزیابی ۱۸ صفت مورفولوژیکی

صفت	ضرایب عامل‌های مشترک دوران یافته		
	PC1	PC2	PC3
ارتفاع بوته	۰/۷۶*	۰/۲۶	-۰/۳۵
تعداد شاخه جانبی	۰/۷۹*	۰/۲۹	۰/۳۹
طول شاخه جانبی	۰/۷۶*	۰/۴۱	۰/۱۷
تعداد گره	۰/۸۰*	۰/۰۲	۰/۰۹
وزن تر اندام هوائی	۰/۹۴*	۰/۲۱	۰/۱۵
وزن خشک اندام هوائی	۰/۹۷*	۰/۰۴	۰/۱۸
تعداد برگ	۰/۹۰*	۰/۰۹	۰/۳۴
وزن تر برگ	۰/۹۴*	۰/۱۸	۰/۱۷
وزن خشک برگ	۰/۹۶*	۰/۰۳	۰/۲۲
سطح برگ	۰/۹۶*	۰/۲۱	۰/۱۴
طول ریشه	-۰/۲۱	-۰/۵۸	-۰/۲۶
قطر ریشه	۰/۸۷*	۰/۱۲	-۰/۰۷
وزن تر ریشه	۰/۹۲*	-۰/۳۳	۰/۰۶
وزن خشک ریشه	۰/۶۴	-۰/۷۵*	۰/۰۴
حجم ریشه	۰/۹۲*	-۰/۳۲	۰/۰۶
تعداد ریشه فرعی	۰/۶۹	-۰/۳۳	۰/۲۹
طول ریشه فرعی	۰/۲۳	۰/۰۵	۰/۹۱*
وزن ریشه/ ساقه	-۰/۳۴	-۰/۹۰*	-۰/۰۵
مقادیر ویژه	۱۱/۸۸	۲/۵۰	۱/۲۰
واریانس (٪)	۶۶/۰۲۴	۱۳/۹۱	۶/۶۸
واریانس تجمعی (٪)	۶۶/۰۲۴	۷۹/۹۴	۸۶/۶۲

* نشان دهنده ضریب عاملی معنی‌دار است.



شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای توده‌های مختلف پنیرباد (*W. coagulans*)

پس از چرخش وریماکس عامل‌ها مشخص شد که در مؤلفه اول صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه جانبی، تعداد گره، وزن تر و خشک اندام هوائی، تعداد برگ، وزن تر و خشک و سطح برگ، وزن تر ریشه، قطر و حجم ریشه عمده‌ترین نقش را در تبیین مؤلفه اول داشته و در مجموع ۶۶/۰۴ درصد تغییرات را توجیه نمودند. تمامی این صفات همبستگی مثبت با این مؤلفه نشان دادند. عامل دوم ۱۳/۹۱ درصد تغییرات را توجیه نمود و صفاتی مانند وزن خشک ریشه و نسبت وزن ریشه به ساقه در این گروه قرار گرفته و هر دو صفت همبستگی منفی با این مؤلفه داشتند. عامل سوم که فقط صفت طول ریشه فرعی، با بار عاملی ۰/۹۱ و با همبستگی مثبت در آن قرار گرفت، در مجموع ۶/۶۸ درصد از واریانس کل را توجیه نمود (جدول ۴). با توجه به وجود تنوع میان توده‌های مورد بررسی و نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مشاهده شد که صفات قرار گرفته در مؤلفه اصلی نقش عمده‌ای را در ایجاد تنوع دارند.

تجزیه خوشه‌ای

در تجزیه خوشه‌ای به‌روش Ward از هر ۱۸ صفت مورفولوژیکی بر روی ۲۰ توده استفاده شد. با برش دندروگرام در فاصله اقلیدسی ۱۰ واحد، توده‌ها در ۳ گروه متفاوت قرار گرفتند (شکل ۱). گروه یک شامل ۱۰ توده بوده که از به‌هم پیوستن سه زیر گروه تشکیل شده و بزرگترین گروه را از نظر تعداد توده‌ها به خود اختصاص داد. گروه دو و سه نیز به‌ترتیب متشکل از ۲ و ۸ توده بود. نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که کمترین فاصله اقلیدسی و بیشترین شباهت مورفولوژیکی بین گروه ۱ و ۲ می‌باشد. همچنین بیشترین فاصله اقلیدسی بین گروه‌های ۲ و ۳ مشاهده گردید. در بین توده‌های مورد بررسی نیز بیشترین شباهت مربوط به دو توده لهاباد (۱۸) و مچکور (۱۹) و کمترین شباهت بین توده‌های دامین (۲۱) و پیپ (۲۳) مشاهده شد.

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین بین گروه‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین۳ گروه نشان داد که گروه‌ها از نظر اکثر صفات اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($p<۰/۰۵$). با توجه به جدول ۵ مشاهده می‌شود که گروه ۲ در اکثر صفات مورد بررسی برتر از سایر گروه‌ها بوده و در این میان صفاتی مانند تعداد و طول شاخه جانبی، وزن تر و خشک اندام هوائی، تعداد، وزن تر، وزن خشک و سطح برگ، وزن تر ریشه و

حجم ریشه متمایز کننده ۳ گروه مورد بررسی بود. در عین حال مشاهده شد که صفاتی مانند طول ریشه و نسبت ریشه به ساقه قادر به تمایز بین گروه‌ها نبوده و از این نظر اختلاف معنی‌داری بین ۳ گروه‌ها وجود ندارد ($p<۰/۰۵$).

جدول ۵- مقایسه میانگین گروها براساس ۱۸ صفت مورد مطالعه

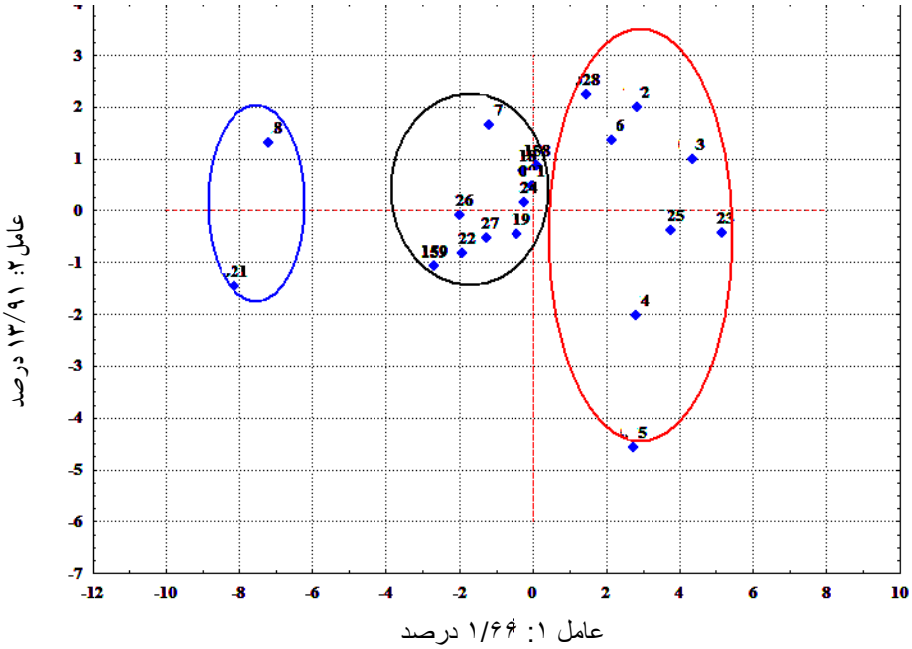
گروه	ارتفاع بوته	تعداد شاخه جانبی	طول شاخه جانبی	تعداد گره	وزن تر اندام هوائی	وزن خشک اندام هوائی	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ
۱	/۴۴±۴/۳۴^{ab*} ۳۷	۵۲±۱/۹۰^{b} ۷/	۶۶±۱/۷۶^{b} ۸/	۴۴±۴/۳۴^{b} ۳۷/	۸۲±۷/۲۳^{b} ۵۳/	۵۰±۰/۹۳^{b} ۸/	/۰۰±۶/۷۷^{b} ۶۹	۲۸±۵/۲۳^{b} ۳۷/	±۰/۵۶^{b} ۵/۴۳
۲	۴۴/۳۶±۰/۹۴^{a}	۹۰±۰/۴۲^{a} ۱۲/	۶۰±۲/۲۶^{a} ۱۱/	۴۴±۴/۳۴^{a} ۳۷/	۰۸±۱/۵۱^{a} ۹۹/	۱۲±۰/۰۹^{a} ۱۵/	/۶۰±۱۷/۲۵^{a} ۱۲۸	۸۲±۲/۵۶^{a} ۶۸/	±۰/۱۸^{a} ۹/۲۳
۳	۳۲/۱۰±۶/۴۱^{b}	۱۰±۲/۰۱^{c} ۴/	۷۸±۱/۶۱^{c} ۴/	۴۴±۴/۳۴^{b} ۳۷/	۴۸±۷/۴۴^{c} ۳۰/	۱۶±۱/۰۴^{c} ۵/	/۶۱±۹/۶۵^{c} ۴۱	۶۸±۴/۹۵^{c} ۲۱/	±۰/۵۷^{c} ۳/۳۳

گروه	سطح برگ	طول ریشه	قطر ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	حجم ریشه	تعداد ریشه فرعی	طول ریشه فرعی	نسبت ریشه به ساقه
۱	/۵۴±۱۰۲/۵۲^{b} ۷۸۶	۲۱±۲/۰۰^{a} ۲۶/	۲۳±۰/۰۸^{a} ۱/	۸۰±۲/۰۳^{b} ۱۳/	۵۷±۰/۴۴^{b} ۲/	۰۴±۲/۰۰^{b} ۱۳/	۷/۲۷±۱/۳۱^{b}	۱۴±۱/۳۱^{b} ۱۴/	±۰/۰۴^{a} ۰/۳۱
۲	/۹۵±۱۴۴/۳۷^{a} ۱۳۷۱	۳۴±۱/۱۲^{a} ۲۴/	۳۰±۰/۱۶^{a} ۱/	۳۲±۳/۴۱^{a} ۱۹/	۷۶±۱/۰۴^{a} ۳/	۱۲±۲/۸۴^{a} ۱۸/	۹/۷۰±۰/۷۰^{a}	۶۷±۰/۵۷^{a} ۱۶/	±۰/۰۷^{a} ۰/۲۵
۳	/۱۳±۸۶/۹۷^{c} ۴۳۵	۵۹±۳/۰۱^{a} ۲۶/	۰۳±۰/۰۶^{b} ۱/	۸۵±۲/۱۷^{c} ۹/	۱۰±۱/۰۹^{b} ۲/	۲۱±۲/۰۸^{c} ۹/	۶/۰۵±۱/۱۹^{b}	۷۸±۱/۱۴^{b} ۱۳/	±۰/۱۸^{a} ۰/۴۱

*میانگین صفاتی که دارای حروف مشابه می باشند از نظر آماری معنی‌دار نمی باشند ($p<۰/۰۵$)

نمایش دو بعدی توده ها براساس دو عامل اول

برای بررسی مجموعه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری ۱۸ صفت بر روی ۲۰ توده مورد بررسی با توجه به اینکه دو مؤلفه اصلی اول و دوم بر روی هم درصد قابل توجهی از تغیرات داده‌ها را توجیه می‌نمایند، پراکندگی توده‌ها براساس این دو مختصات مطابق شکل ۲ ارائه گردید. عامل اول تاثیر قابل توجهی بر بسیاری از صفات مورفولوژیکی داشت و این صفات نقش مهمی در تمایز توده‌ها داشتند. نزدیک بودن هرچه بیشتر دو نمونه در این شکل نشانه محکم بودن حکم هم‌گروهی و نزدیکی بیشتر آنها است. به‌عنوان مثال توده‌های پیگل و دامین که از نظر صفات مورفولوژیکی بسیار شبیه هم می‌باشند در یک گروه قرار گرفتند که نتایج حاصل از خوشه‌بندی را تائید می‌نماید.



شکل ۲- پراکنش توده‌های مختلف پنیرباد (*W. coagulans*) نسبت به‌هم براساس دو عامل اول و دوم با استفاده از ۱۸ صفت مورد مطالعه

کد توده‌ها و نام محل جمع‌آوری در جدول ۲ ارائه شده است.

بحث

تخریب رویشگاه‌های طبیعی، روش‌های ناپایدار و غیر اصولی برداشت و دخالت انسان در تبدیل رویشگاه‌های طبیعی به کاربری‌های صنعتی و کشاورزی از جمله عوامل انقراض و نابودی گیاهان داروئی می‌باشد. علاوه بر موارد مذکور، این امر در مورد گونه پنیرباد به‌دلیل وقوع خشکسالی‌های مکرر در رویشگاه‌های منطقه بلوچستان و برداشت مستقیم میوه که عامل اصلی تکثیر این گونه است از روند بیشتری برخوردار می‌باشد (Javanshir, 2000; Valizadeh & Valizadeh, 2009). همچنین ماهیت دو پایه بودن گیاه که فقط پایه‌های ماده تولیده میوه و بذر می‌نمایند و همچنین عدم وجود تعادل در تعداد پایه‌های نر و ماده که در برخی رویشگاه‌ها تعداد پایه‌های ماده بسیار کمتر از پایه‌های نر می‌باشد، منجر به‌کاهش باروری جامعه گیاهی پنیرباد و سرعت بخشیدن به فرایند انقراض آن شده است. لذا تدوین و اجرای برنامه‌های موثر در راستای احیاء، حفاظت و بهره‌برداری کارآمد از گونه با ارزش و چند منظوره پنیرباد ضروری به‌نظر می‌رسد. در این میان، شناخت تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ذخایر توارثی یک امر زیربنائی و بنیادی برای طراحی موفق برنامه‌های به‌نژادی بوده و علاوه بر این در آسان نمودن مدیریت حفظ و نگهداری ذخایر ژنتیکی نقش بسزائی دارد. در این میان، ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی اولین مرحله در طبقه‌بندی و توصیف ژرم پلاسم ها به‌شمار می‌آید (Sultana *et al.*, 2005).

در این پژوهش ارزیابی تنوع مورفولوژیکی توده‌های مختلف گونه پنیرباد برای اولین بار در کشور صورت گرفت. براساس نتایج تجزیه واریانس، اختلاف معنی‌داری میان توده-

های مورد مطالعه برای همه صفات مشاهده گردید. نتایج مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که توده‌های مختلف جمع آوری شده از استان سیستان و بلوچستان دارای تنوع قابل توجهی بوده و لذا می‌توان از میان آنها، توده‌هائی با صفات شاخص را انتخاب و در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. از بین توده‌های مختلف مورد بررسی توده دامین (۲۱) به جزء در صفات طول ریشه (۲۵/۴ cm) و نسبت ریشه به ساقه (۰/۳۰) دارای بیشترین مقادیر کمی در سایر صفات بود. همچنین توده پیگل (۸) نیز به استثناء صفاتی مانند طول ریشه، وزن خشک ریشه، تعداد گره و نسبت ریشه به ساقه در سایر صفات، برتر از توده‌های دیگر بود. از طرفی دیگر قرارگیری این توده در یک خوشه (شکل ۱) و تشکیل یک گروه مستقل حاکی از برتری این دو توده نسبت به سایر توده‌ها بوده و می‌تواند به‌عنوان والد اولیه در انجام تلاقی‌ها و برنامه‌های به‌نژادی مورد توجه قرار گیرد. تفاوت‌های موجود بین توده‌های مناطق مختلف از لحاظ صفات کمی و کیفی می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژیکی حاکم بر رویشگاه‌ها باشد (Sharma *et al.*, 2012). با توجه به اینکه تمامی توده‌های مورد بررسی در این پژوهش در شرایط کاملاً یکسان و کنترل شده مورد ارزیابی قرار گرفتند، لذا می‌توان اذعان داشت که اثرات محیطی ناشی از شرایط متنوع آب و هوائی و ژئومورفولوژیکی در ایجاد تنوع حذف گردیده است. بنابراین می‌توان استنباط نمود که تنوع مشاهده شده در بین توده‌های مختلف به‌طور عمده ژنتیکی می‌باشد (Kumar *et al.*, 2007). در عین حال توصیه می‌شود که به‌منظور مطالعه دقیق‌تر، توده‌ها و صفات مورد بررسی در چند سال و چند مکان مورد ارزیابی قرار گیرد.

از مقادیر خام ضرائب همبستگی در مطالعه چگونگی همبستگی و تغییرات توأم صفات در حضور همدیگر می‌توان استفاده کرد. با توجه به اهمیت ریشه گیاه پنیرباد از نظر استحصال مواد داروئی، می‌توان با بررسی همبستگی صفات مختلف با عملکرد ریشه، صفات تاثیرگذار بر عملکرد را مشخص و در برنامه‌های به‌نژادی به آنها توجه نمود. در این تحقیق، بررسی همبستگی صفات نشان داد که عملکرد ریشه (از نظر وزن تر) به‌غیر از طول ریشه با سایر صفات همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد. در این میان بیشترین همبستگی عملکرد ریشه به‌ترتیب با صفات وزن خشک اندام هوائی و وزن خشک برگ (r=۰/۸۸)، تعداد برگ (r=۰/۸۲) و وزن تر برگ (r=۰/۸۰) مشاهده گردید.

در تجزیه به عامل‌ها، هر عامل یا فاکتور شامل مهمترین صفات دارای بیشترین ضریب عاملی می‌باشد. در این پژوهش از روش واریماکس (Varimax) برای چرخش عامل‌ها استفاده شد که تغییرات را میان عامل‌ها به شکل یکنواخت توزیع می‌نماید. نتایج بدست آمده از تجزیه به عامل‌ها نشان داد که صفت وزن خشک اندام هوائی متنوع‌ترین صفت مورفولوژیکی توده‌های پنیرباد محسوب می‌شود. این صفت با داشتن بیشترین بار عاملی (۰/۹۷) مهمترین صفت متمایزکننده توده‌های مختلف محسوب می‌شود. اعمال انتخاب از طریق هر یک از عامل‌ها منجر به گزینش توده‌ها بر پایه مجموعه صفات موجود در هر یک از عامل‌ها و با بار عاملی بیشتر می‌گردد. سودمندی استفاده از مؤلفه‌های اصلی آن است که می‌توان رابطه بین ارقام یا مناطق را در یک فضای چند بعدی مشاهده نمود. در این روش هر ژنوتیپ توسط نقطه‌ای در فضای اقلیدسی نمایش داده شود و لذا ژنوتیپ‌هایی که دارای شباهت بیشتری به یکدیگر هستند نزدیک همدیگر قرار می‌گیرند. در تجزیه مختصات اصلی فاصله ژنتیکی بین ۲۰ توده پنیرباد مورد مطالعه به صورت تصویر دو بعدی نمایش داده شد. فاصله بین توده‌های ترسیم شده بر روی پلات، میزان عدم تشابه افراد را بیان می‌کند (Mohammadi and Prasanna, 2003). از آنجایی که دو مؤلفه اول، بالاترین ریشه‌های مشخصه را دارند، می‌توان گروه‌بندی توده‌ها را براساس این دو مؤلفه انجام داد (Farahani & Arzani, 2008). در این پژوهش دو مؤلفه اول

در مجموع ۶۰/۰۹ درصد از تغییرات کل را توجیه نمود.

تجزیه خوشه‌ای یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل چند متغیره است که جهت بررسی رابطه خویشاوندی و گروه‌بندی ارقام یا توده‌های مورد از نظر ژنتیکی و جغرافیایی و تعیین والدین در هیبریداسیون مفید می‌باشد. با توجه به بررسی منابع موجود، گزارشی مبنی بر استفاده از شاخص‌های مورفولوژیکی در طبقه‌بندی توده‌های *W. coagulans* به‌دست نیامد. در این خصوص Bhat و همکاران (۲۰۱۲) در ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه *W. somnifera* همبستگی قابل توجهی بین مارکرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیائی و مولکولی مشاهده نمودند و گزارش کردند که صفات مورفولوژیکی مانند ارتفاع گیاه، شکل برگ، رنگ میوه متمایزکننده توده‌های زراعی از توده‌های وحشی بود. همچنین Kumar و همکاران (۲۰۰۷)، ۲۵ توده *W. somnifera* جمع آوری شده از مناطق مختلف هند را براساس صفات مورفولوژیکی مانند ارتفاع گیاه، تعدا شاخه جانبی، طول ریشه، تعداد بذر در میوه، طول، قطر و عملکرد ریشه مورد ارزیابی قرار داده و علاوه بر مشاهده اختلاف معنی‌دار و قابل توجه در بین توده‌ها، توانستند توده‌های مختلف را در ۵ گروه از نظر تنوع ژنتیکی گروه‌بندی نمایند. ضمن اینکه Khatak و همکاران (۲۰۱۳) نیز با استفاده از صفات آگرومورفولوژیکی مانند ارتفاع گیاه، طول ریشه، تعداد میوه در گیاه، تعداد بذر در میوه، عملکرد بذر در هر بوته و عملکرد بیولوژیکی تعداد ۳۰ توده مختلف *W. somnifera* را مورد بررسی قرار داده و با استفاده از تجزیه خوشه‌ای آنها را در ۴ گروه طبقه‌بندی کردند.

با بررسی نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای مشخص شد که در مواردی توده‌های متعلق به مناطق مختلف در گروه‌های مشترک قرار گرفتند. به‌عنوان مثال توده‌های سیرکان (۳) و پیپ (۲۳) که بیشترین فاصله جغرافیائی را در بین توده‌های مورد بررسی داشتند (بیش از ۳۰۰ کیلومتر فاصله خط مستقیم) در یک گروه قرار گرفتند. بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف *W. somnifera* جمع آوری شده از مناطق مختلف هند نیز نشان داد که توده‌ها با منشاء متفاوت در گروهای یکسان قرار گرفتند (Khatak *et al.*, 2013., Kumar *et al.*, 2007). این نتایج مشخص می‌نماید که عواملی به‌غیر از پراکنش جغرافیائی در بروز تنوع ژنتیکی دخالت می‌کند (Kumar *et al.*, 2007). به‌عنوان مثال، علت این امر را می‌توان به منشاء واحد این توده‌ها و جریان ژنی نسبت داد. با بررسی جمعیت‌های گیاه داروئی بابونه Mehdikhani و همکاران (2013) گزارش کردند که تنوع جغرافیایی با تنوع ژنتیکی در گیاهان مورد مطالعه مطابقت نداشته و علت این امر را تبادل مواد خام بین مناطق مختلف کشور دانسته‌اند. از سوی دیگر برخی توده‌ها نیز با وجود منشاء جغرافیائی نزدیک، در گروه‌های کاملاً مجزا و با فاصله قابل توجه از یکدیگر قرار گرفتند. مثلا توده‌های پیگل (۸) و کاروادر (۲۷) با فاصله جغرافیائی کمتر از ۲۰ کیلومتر بودند در دو گروه کاملا مجزا قرار گرفتند. به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که توده‌های پنیرباد موجود در ایران از تنوع ژنتیکی قابل توجهی برخوردار بوده و اطلاعات حاصل از این تحقیق می‌تواند ما را در مدیریت ژرم‌پلاسم و همچنین شناسایی دورترین جمعیت‌ها به‌عنوان والدین اولیه برای تلاقی یاری نماید. علاوه بر این پیشنهاد می‌گردد که از نشانگرهای مولکولی نیز جهت بررسی تنوع ژنتیکی استفاده شده و در عین حال محتوای ترکیبات ویتانولوئیدی نیز در توده‌های مختلف مورد ارزیابی و مقایسه قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

– Al Khanjari. S., Afilatenko, A., and Hammer, K., 2008. Morphological spike diversity of Omani wheat. Genetic Resources and Crop Evolution, 55: 1185-1195.
– Beigomi, M., Ghods Rohani, M., Mohammadifar, M.A., Hashemi, M., Valizadeh, M., and Ghanati, K. 2013. Comparison of textural and sensory characteristics of ultra-filtrated white cheese produced by paneer bad

Withania somnifera and *Withania coagulans*: A review. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 5388-5399.
– Javanshir, K., 2000, Vegetation of Bashagerd. University of Tehran Publication: Tehran, Iran, 2000; pp. 156-162. ,
– Jones, D., and Wilkins, D., 1971. Variation and Adaptation in Plant Species. London, Heinemenn, 184 p.
– Khatak, S., Dhillon, S., Yadav, O.P., Grewal, N. and Sheokand, R.N., 2013. Agro-morphological and RAPD merker based characterization of genetic diversity in different genotypes of *Withania somnifera* L. Dunal. International Journal of Biotechnology and Research, 3: 1-16.
– Kumar, A., Kaul, M. K. and Bhan, M.K., 2007. Morphological and chemical variation in 25 collections of the Indian medicinal plant, *Withania somnifera* (L.) Dunal (Solanaceae). Genetic Resources and Crop Evolution, 54:655–660.
– Mehdikhani, H., Solouki, M. and Zeinali, H., 2013. Study of genetic diversity in several scentless chamomile landraces (*Matricaria inodora* L.) based on morphological traits and RAPD molecular markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 21: 242-256.
– Mohammadi, S.A. and Prasanna, B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants- Salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43: 1235-1248.
– Pirkhezri, M., Hassani, M.E. qnd Fakhre Tabatabai, M., 2009. Evaluation of genetic diversity of some German chamomile populations (*Matricaria chamomilla* L.) using some morphological and agronomical characteristics. Journal of Horticultural Science, 22: 87-99.
– Porter, W.M., Rachie, K.O., Rawal, H.C., Wein, R.J. and Luse, R.A., 1974. Cowpea germplasm cataloque No 1. 11TA Ibadan, Nigerian. Products Institute. Pp.86-101.
– Sangwan, R.S., Chaurasiya, N.D., Lal, P., Misra, L., Uniyal, G.C., Tuli, R., and Sangwan, N.S., 2007. Withanolide A Biogeneration in *in vitro* shoot cultures of Ashwagandha (*Withania somnifera* Dunal), a main medicinal plant in Ayurveda. Chemical & pharmaceutical bulletin, 55:1371-1375.
– Sharma, R.K., Samant, S.S., Sharma, P. and Devi, S., 2012. Evaluation of antioxidant activities of *Withania somnifera* leaves growing in natural habitats of North-(*Withania coagulans*) protease and fungal rennet. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 8: 253-262.
– Bhat, T.M., kudesia, R., and Ahmad Dar, S., 2012. Evaluation of genetic diversity among accessions of *Withania somnifera* L. (Dunal) using biochemical analysis and molecular markers. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environment Science, 12 : 983-990.
– Chalak, L., Chehade, A., and Kadri, A., 2007. Morphological characterization of cultivated almonds in Lebanon. Fruits, 62: 177-186.
– Esquinas Alcazar, J., 2005. Protecting crop genetic diversity for food security: political, ethical and technical challenges. Nature Reviews Genetics, 6: 946-953.
– Espahbodi, K., Mirzaie- Nodoushan, H., Tabari, M., and Akbarinia, M., 2006. Investigation of genetic variation of wild service (*Sorbus torminalis* (L) Crantz), using morphological analysis of fruits and leaves. Pajouhesh-va-Sazandegi ,72: 44-57.
– Farahani, E. and Arzani, A., 2008 . Evaluation of genetic variability for durum wheat genotypes using multivariate analysis. Electronic Journal of Crop Production, 1: 51-64.
– Farshadfar, M., Fareghi, S.H., Farshadfar, E., and Jafari, A.A., 2008. Study of genetic variation in *Medicago sativa* L. using morphological biochemical indices. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16: 1-13.
– Fatahi, R., Ebadi, A., Vezvaei, A., Zamani, Z. and Ghanadha, M.R., 2004. Relationship among quantitative and qualitative characters in 90 grapvine (*Vitis vinfera*) cultivars. *Acta* Horticulturae, 640: 275-282.
– Giorgio, D. and Polignano, G. B., 2001. Evaluating the biodiversity of almond from a germplasm collection field in southern Italy. In: Proceedings of International soil congeration organization meeting, held. May 24-29, Italy. Pp. 305-311.
– Hoogendijk, M., and Williams, D.E., 2001. Characterizing the genetic diversity of home garden crops: some examples from America. In: Proceedings of the Second International Home Gardens Workshop: Contribution of Home Gardens and In Situ Conservation of Plant Genetic Resources in Farming Systems (Eds. JW Watson, PB Eyzaguirre), IPGRI, Germany, pp. 34-40.
– Jain, R., Sumita, K., and Kothari, L. 2012. Phytochemistry, pharmacology, and biotechnology of

somnifera (L.) Dunnal. Grown in Sri Lanka. Pakistan Journal of Biological Science, 16: 141-144.
- Uddin, Q., Samiulla, L., Singh, V.K. and Jamil, S.S. 2012. Phytochemical and pharmacological profile of *Withania somnifera* Dunal: a review. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2:170-175.
- Valizadeh, J. and Valizadeh, M., 2011. Development of efficient micropropagation protocol for *Withania coagulans* (Stocks) Dunal. African Journal of Biotechnology, 10: 7611-7616.
- Weising, K., Nybon, H., Wolff, K. K. and Gunter, K., 2005. DNA Fingerprinting in Plants, Principle, Methods and Applications (2nd ed.), CRC Press.

west Himalaya, India. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 657-661.
- Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambashi, M., Moradi, H., Gradziel, T.M. and Martinez-Gomez, P., 2010. Correlations between quantitative tree and fruit almond traits and their implications for breeding. Scientia Horticulturae, 125: 323-331.
- Sultana, T., Ghafoor, A. and Ashraf, M., 2005. Genetic divergence in lentil germplasm for botanical descriptors in relation with geographic origin. Pakistan Journal of Botany, 37: 61- 69.
- Siriwadane, A.S., Dharmadasa, R.M. and Samarasinghe, K., 2013. Distribution of *Withaferin* an anticancer agent, In different parts of two varieties of *Withania*

Evaluation of existing diversity of *Withania coagulans* (Stocks) Dunal accessions using multivariate analysis methods

M. Valizadeh[1*], A.R. Bagheri[2], J. Valizadeh[3], M.H. Mirjalili[4]and N. Moshtaghi[5]

1*- Corresponding author, Department of Medicinal Plants, College of Agriculture, High Educational Complex of Saravan, I.R Iran.
E-mail: m.valizadeh@anrs.usb.ac.ir.
2- Prof., Department of Biotechnology and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, I.R. Iran.
3- Assoc. Prof., Department of Biology, College of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, I.R.Iran
4- Assist. Prof., Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, G.C., Evin, Tehran, I.R.Iran
5- Assist. Prof., Department of Biotechnology and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R.Iran.

Received: 13.01.2014 Accepted: 08.12.2014

Abstract

Withania coagulans is a multi-purpose medicinal plant. Distribution of the species in Iran is limited and located only in the southeastern sections of Sistan and Baluchestan province. Genetic diversity of 20 accessions of *W. coagulans* from different natural habitats of Sistan and Baluchestan province was characterized by 18 morphologic characters. Recorded data were analyzed using multivariate analyses. ANOVA revealed high significanct differences between the accessions based on all of the measured characteristics. The most diversity was related to number of branch (60.82%) and the least was related to root length (13.28%). Among the accessions, 'Pigol' and 'Damin' showed the highest values for most of the studied traits. Principal components analysis indicated that the first three principal components with eigenvalues more than 1 explained 86.62% of the variability amongst the accessions. Cluster analysis based on Euclidian distance, divided the accessions into three major groups. Considering the grouping, there was no relationship between genetic diversity and geographical distance of the accessions. The differential grouping indicated that a factor other than geographical distribution may be responsible for genetic divergence. The results suggested that there is a considerable genetic variation among *W.coagulans* accessions. Knowledge of genetic diversity in *W.coagulans* provides different levels of information which is important in the management of germplasm resources and breeding programs.

Keywords: Cluster analysis, Genetic diversity, Morphological characters, *Withania coagulans*.