تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد یازدهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۷
۱۷۱-۱۸۳
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2017.195.1049

ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم نان ازنظر برخی صفات مهم فیزیولوژیک تحت تنش سرمای بهاره

ابوذر اسدی [۱]، علیرضا عسکری کلستانی [۲]، سید رضاقلی میرفخرایی [۳*]، علی‌رضا عباسی [۴]، مصطفی خدادادی [۵]

۱. دانشجوی دکترا اصلاح نباتات، دانشگاه رازی کرمانشاه.
۲. دانشجوی دکترا کشاورزی هسته‌ای، دانشگاه گرگان.
۳. استادیار گروه اصلاح‌نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس.
۴. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران.
۵. دانشجوی دکترا اصلاح‌نباتات دانشگاه تربیت مدرس.

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۷/۱۱

چکیده

تنش سرمای بهاره یکی از تنش‌های مهم است که همه ساله در مناطقی از کشور پدیدار می‌گردد و بخش مهمی از انواع خسارات سرما را به خود اختصاص می‌دهد. در رابطه با تنش مذکور، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس در سال ۱۳۹۲ انجام شد. فاکتورها شامل چهار سطح دمایی (۸+ (شاهد)، ۲+، ۰ و ۲- درجه سلسیوس) و ۲۰ رقم گندم نان بودند. تنوع ژنتیکی ارقام گندم نان بر اساس خصوصیات فیزیولوژیک (رنگدانه‌های گیاهی (کلروفیل کل، a، b و کارتنوئید)، پایداری غشاء سیتوپلاسمی، مقدار اسید آمینه پرولین و قند فروکتان با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مختصات اصلی و تجزیه به مولفه‌های اصلی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم در سرما برای کلیه صفات در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط تنش شدید در ۴ گروه و در دمای شاهد در ۳ گروه قرار گرفتند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات مورد مطالعه را در دمای شاهد (با واریانس تجمعی ۸۰) و تنش شدید (با واریانس تجمعی ۸۵) به ۳ مولفه کاهش دادند. تجزیه به مختصات اصلی نیز صفات مورد مطالعه را در دمای شاهد (با واریانس تجمعی ۹۴/۱۱) و تنش شدید (با واریانس تجمعی ۹۶/۵۹) به ۳ مولفه کاهش دادند. ارقام پیشگام و افلاک در دمای شاهد و ارقام الوند و سیوند در دمای ۲- درجه سلسیوس بیشترین فاصله ژنتیکی و ارقام Mv17 و نوید در دمای شاهد و ارقام پیشگام و کاسکوژن در دمای ۲- درجه سلسیوس کمترین فاصله ژنتیکی را از یکدیگر نشان دادند. بنابراین می‌توان از این ارقام به عنوان والدین احتمالی جهت تهیه جمعیت‌های لازم در اجرای برنامه‌های بهنژادی کلاسیک، برای شناسایی آلل‌های کمی مؤثر در تحمل به سرمای بهاره و نیز گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: **تجزیه کلاستر، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیه به مختصات اصلی، تنش سرما**

مقدمه

گندم به عنوان مهم‌ترین گیاه زراعی در جهان دارای ژنوتیپ‌های زیادی است که در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ بنابراین، لازمه استفاده کارا و صحیح از آن، شناسایی روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و تعیین سطح تنوع موجود است (Zhang et al., 2002). بررسی ابعاد مختلف تنوع ژنتیکی ارقام گندم، متخصصین اصلاح نباتات را در شناسایی ظرفیت ژنتیکی صفات مرتبط با اهداف اصلاحی یاری می‌نماید. مطالعه الگوپذیری تنوع ژنتیکی از اقلیم‌های مختلف جغرافیایی نشان‌دهنده قابلیت سازگاری و انعطاف‌پذیری ساختار ژنوم آن‌ها با زیست‌بوم‌های متفاوت

* نگارنده پاسخگو: سیدرضاقلی میرفخرایی. پست الکترونیک: asadi.abzr@gmail.com

است (Kimber and Feldman, 1987). در برنامه‌های به‌نژادی، اغلب به دلیل کاربرد پایه‌های تجاری، تنوع ژنتیکی به تدریج در حال کاهش است که این وضعیت منجر به آسیب‌پذیری بیشتر نسبت به تنش‌های زیستی همچون پاتوژن‌ها، حشرات و تنش‌های غیرزیستی نظیر خشکی، شوری و سرما می‌گردد؛ بنابراین توجه بیشتر به بهره‌برداری مؤثر از تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاسم برای دسترسی به ارقام مناسب، از طریق بهبود ساختار ژنومی ارقام است (Arzani, 2003).

دماهای پائین زمستان یکی از عوامل محدودکننده آب و هوایی در مناطق معتدله ذکر شده است و درنتیجه وقوع سرمای شدید در برخی سال‌ها بقاء و رشد و نمو گیاهان زراعی زمستانه نظیر گندم را تحت تأثیر قرار داده و عملکرد آن را کاهش می‌دهد (Kafi et al., 2002). در فصل بهار هم‌زمان با شروع رشد گندم، تحمل این گیاه به دماهای پایین به تدریج کاهش پیدا می‌کند و هر یک از مراحل رشد این گیاه ممکن است با سرما مواجه گردد و درنتیجه برخی از قسمت‌های گیاه با توجه به مرحله نمو گندم صدمه ببینند. آسیب‌های سرمازدگی بهاره، زمانی که درجه‌حرارت‌های پایین هم‌زمان با مرحله رشدی حساس گیاه باشد رخ می‌دهد. خطر آسیب‌های سرمازدگی بهاره، زمانی که گندم در اوایل بهار شروع به رشد می‌کند، خیلی بیشتر است. سرمای بهاره پتانسیل کاهش عملکرد بالایی دارد (Asadi et al., 2013).

آگاهی از تغییرات صفات فیزیولوژیک همراه با بهبود ژنتیکی پتانسیل عملکرد گندم، برای شناخت دقیق‌تر فاکتورهای محدودکننده عملکرد و در همین راستا برای تعیین استراتژی‌های اصلاح نباتات در آینده ضروری است؛ بنابراین تولید بالقوه محصولات کشاورزی در اثر تنش‌های محیطی امکان‌پذیر نمی‌گردد. برای مقابله با این مشکلات پرورش ارقام متحمل بسیار ضروری خواهد بود (Hall, 2000). جهت ارزیابی و شناسایی ارقام متحمل به سرما، وجود یک روش سریع و مؤثر از اهمیت زیادی برخوردار است. در همین راستا پیراس و سرهان (Perras and Sarhan, 1989) بیان نمودند که میزان تحمل به یخزدگی در برگ، طوقه و ریشه گندم با استفاده از روش نشت الکترولیت‌ها قابل ارزیابی است. به‌طورکلی هنگامی‌که بافت‌های گیاه در اثر سرما آسیب می‌بینند، فعالیت غشاء مختل شده و الکترولیت‌های داخل سلول به خارج از آن نشت می‌کنند. در مطالعه هان و بیشاف (Han and Bischof, 2004) نیز تغییر در ساختار غشاء، ترکیب اسیدهای چرب، تغییرات متابولیکی، تغییر در مقادیر پروتئین‌ها، فعالیت‌های آنزیمی و نشت الکترولیت‌ها را جزء صدمات تنش سرما به گیاهان ذکر کرده‌اند. تنش‌های سرمایی سبب اختلال در تولید کلروفیل می‌شوند و با کاهش دما کل فرآیند کلروفیل‌سازی متوقف می‌شود. چون تولید کلروفیل یکی از فرآیندهای حساس وابسته به دما است از اندازه‌گیری آن در غربالگری ارقام و گونه‌ها ازنظر حساسیت یا تحمل به سرما استفاده می‌شود (Mirmohammadi Myboodi, 2006). با بروز تنش‌های محیطی میزان سنتز کارتنوئید در برگ به علت نقش آن‌ها در حفاظت در مقابل رادیکال‌های آزاد، افزایش یافته اما با گذشت زمان و در تطابق گیاه با تنش، میزان آن کاهش پیدا می‌کند (Groppa and Benavides, 2008). فولر و همکاران (Fowler et al., 2001) بیان کردند که میزان تولید کلروفیل در گیاهان سرما دیده در برابر نور کاهش‌یافته و تیلاکوئیدها تخریب‌شده و گیاهان بی‌رنگ می‌شوند. از تغییرات فیزیولوژیک که در مواجهه گیاهان با این تنش به اثبات رسیده است، تغییر در میزان اسیدآمینه پرولین (Skriver and Mundy, 1990) و قند فروکتان (Meier and Reid, 1982) است.

گیاهان در مقابل تنش‌ها مکانیسم‌های دفاعی مختلفی دارند که تحت تنش سرما باعث تجمع بالای ترکیبات محلول سازگار می‌شوند. تجمع مواد محلول سازگار، باعث افزایش اسمولاریته سلول شده و می‌تواند جریان آبی را هدایت و میزان خروج آن را کاهش دهد. این ترکیبات باعث حفظ فشار اسمزی و همچنین باعث تثبیت ساختار پروتئین و غشا تحت تنش می‌شوند که نقش مهمی در سازگاری سلول به استرس‌های مختلف دارند. پرولین یکی از مهم‌ترین این نوع ترکیبات است که از دو مسیر گلوتامات و اورنیتین سنتز می‌شود که تحت استرس سرما به مقدار زیادی سنتز آن افزایش می‌یابد. به منظور حفظ یکپارچگی غشا تحت شرایط تنش، لازم است تا از واسرشت شدن پروتئین‌ها جلوگیری به عمل آید. بر همکنش پرولین با آنزیم‌ها سبب حفظ ساختار پروتئین‌ها و فعالیت‌های مربوط به آن‌ها می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007). از سوی دیگر پرولین در آب‌پوشی لایه احاطه کننده فسفولیپیدها نقش داشته و با گروه‌های سر فسفولیپیدها برهمکنش انجام می‌دهد (Sivakumar et al., 2000). پرولین در محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی کلروپلاست در برابر رادیکال‌های آزاد ناشی از آسیب‌های نوری نیز نقش دارد (Ashraf and Foolad, 2007).

پلیمرهای فروکتان و فروکتوز، منبع انرژی در گیاهان زمستان گذران هستند؛ زیرا در شرایط سرمایی دی‌پلیمریزه می‌شوند و انرژی موردنیاز را در اختیار گیاه قرار می‌دهند. این قندها علاوه بر حفظ فشار اسمزی داخل سلول‌ها، با اتصال به غشای دو لایه لیپیدی، غشای سلولی را از آسیب‌هایی که درنتیجه از دست رفتن آب و یخ‌زدگی و فسفریله شدن لیپیدهای غشا ایجاد می‌شود، حفظ می‌کنند. قند فروکتان همچنین می‌تواند به عنوان وسیله‌ای برای جلوگیری از پلاسمولیز سلولی باشد (Yuanyuan et al., 2009).

در بین روش‌های مختلف آنالیز چند متغیره، تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه به مختصات اصلی مهم‌ترین روش‌ها هستند. در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی تجزیه خوشه‌ای اصولی‌ترین روش برای برآورد شباهت بین افراد در یک مجموعه ذخایر توارثی است (Mohammadi and Prasanna, 2003).

گندم به عنوان مهم‌ترین گیاه زراعی در جهان و ایران دارای ژنوتیپ‌های زیادی است که در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ بنابراین، لازمه استفاده کارا و صحیح از آن‌ها، شناسایی روابط ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و تعیین سطح تنوع موجود است. از آنجا که تنوع ژنتیکی در مجموعه ژرم‌پلاسم، مبنایی برای انتخاب والدین است، بنابراین توسعه تنوع طبیعی ژنتیکی گندم نان در برنامه‌های اصلاحی و حفاظت منابع گیاهی مهم است. تنوع ژنتیکی گندم زراعی به دلایل مختلفی ازجمله اصلاح و انتخاب این محصول کاهش یافته است. کاهش تنوع ژنتیکی تحمل گندم را در برابر فاکتورهای مضر کم می‌کند؛ بنابراین بهره‌برداری از منابع ژنتیکی خویشاوند گندم با ژن‌های غنی لازم است. برآورد تنوع ژنتیکی در ارقام زراعی از جنبه کاربردی در برنامه‌های به‌نژادی و محافظت از منابع ژنتیکی حائز اهمیت است؛ بنابراین تنوع ژنتیکی ارقام محلی گندم بایستی در اصلاح گندم مورد مطالعه و استفاده قرار گیرند. هدف از این تحقیق، ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی ارقام گندم نان ازنظر برخی خصوصیات فیزیولوژیک تحت تنش الگوی سرمای بهاره با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره است.

مواد و روش‌ها

۲۰ ژنوتیپ گندم نان (کاسکوژن، سیوند، کراس شاهی، پیشگام، لاین آ، الوند، میهن، زارع، اروم، کویر، شیراز، داراب، عدل، Mv17، امید، سایسون، نوید، بم، پارسی و افلاک) از مؤسسه اصلاح و تهیه نهال بذر دریافت گردید. این بررسی در سال ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تحت شرایط کاملاً کنترل‌شده اتاقک رشد با استفاده از آزمایش فاکتوریل با ۲ فاکتور، رقم در ۲۰ سطح و تیمار دمایی در ۴ سطح (۸، ۲، ۰ و ۲- درجه سلسیوس) در ۳ تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. بذور پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد در پتری‌دیش‌ها کاشته و در مرحله جوانه‌زنی به مدت ۶ هفته در دمای ۳±۱ درجه سلسیوس بهاره‌سازی شدند (Mahfoozi and Sasani, 2009). وقتی بوته‌های گندم به اوایل مرحله زایشی (سنبله‌دهی و گلدهی، کد زیداکی ۵۰ الی ۶۸) رسیدند (Zadocs et al., 1974)، گلدان‌ها برای القاء تنش سرما به اتاقک رشد با دمای قابل کنترل منتقل و تحت برنامه فتوپریودی ۱۶ درجه سلسیوس روز به مدت ۱۴ ساعت و ۸ درجه سلسیوس شب به مدت ۱۰ ساعت قرار گرفتند. بعد از طی این مدت برای شروع تنش از دمای ۸ درجه سلسیوس در تاریکی مطلق قرار داده شدند. پس از آن هر یک ساعت ۲ درجه سلسیوس دما کاهش داده شد، و در هر یک از سطوح دماهای ۲+، صفر و ۲- درجه سلسیوس، گلدان‌ها به مدت ۲ ساعت تحت تنش سرما قرار گرفتند. بعد از پایان تنش، دمای اتاقک سرما هر ساعت ۲ درجه سلسیوس افزایش داده شد تا به شرایط دمای شاهد رسید. گلدان‌های شاهد نیز به منظور مقایسه تأثیر سرما بر گیاه گندم در شرایط عادی و بدون تنش روز/ شب ۱۰/۱۴ و دمای ۱۶ / ۸ درجه سلسیوس قرار داده شدند (Mohamadi et al., 2013). بعد از ۲۴ ساعت از اعمال تنش، نمونه‌گیری به منظور بررسی صفات مرتبط با تنش سرمای بهاره شامل: رنگ‌دانه‌های گیاهی (کلروفیل کل، a، b و کارتنوئید)، پایداری غشاء سیتوپلاسمی، مقدار اسیدآمینه پرولین و قند فروکتان به عمل آمد. نمونه‌های برگی هر گیاه بعد از قرار دادن در داخل فویل‌های آلومینیومی و برچسب‌زنی و نگهداری موقت در ازت مایع تا پایان نمونه‌برداری، در دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

برای اندازه‌گیری پایداری غشای سیتوپلاسمی از روش (Bertin et al., 1996)، تعیین غلظت رنگیزه‌های گیاهی (Lichtenthaler, 1987)، تعیین میزان پرولین اندام‌های هوایی (Bates et al., 1973) و تعیین میزان قند فروکتان (Jermyn, 1956) در این تحقیق استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه‌ی واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که سطوح تنش سرما، ارقام مورد مطالعه و اثرات متقابل ارقام و تنش سرما در کلیه صفات اندازه‌گیری شده در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱). معنی‌دار شدن اثر متقابل نشان‌دهنده این است که سرمای بهاره واکنش‌های متفاوتی را در بین ارقام موجب شده و از این نظر تنوع کافی بین ژنوتیپ‌ها تائید می‌گردد.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس محتوای کلروفیل کل، کلروفیل a، b، کارتنوئید ، هدایت الکترولیتی ، پرولین و فروکتان در ۲۰ ژنوتیپ گندم نان تحت تنش سرمای بهاره

Table 1. Analysis of variance of total chlorophyll content, chlorophyll a, b, carotenoid, electrolyte leakage, proline and fructan in 20 bread wheat genotypes under chiling stress.

منابع تغییرات S.O.V	df	میانگین مربعات (Mean of Square)						
		کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	درصد تراوش الکترولیتی Electrolyte Leakage	پرولین Proline	فروکتان Feructan
Cultivar رقم	19	12.55**	35.64**	31.17**	7.91**	0.13**	1369.2**	0.08**
Stress تنش	3	247.76**	47.87**	77.91**	61.9*	0.4**	3387.7**	0.09**
Cultivar×Stress رقم×تنش	57	18.15**	10.68**	16.7**	5.8**	0.12**	624.6**	0.07**
Error اشتباه	160	5.9	7.3	8	2.48	0.012	288.8	0.034
CV% ضریب تغییرات (٪)		*24.34*	*25.3*	*19.7*	*17.4*	*8*	*17.287*	*20.1*

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

*and **: significant at the 5% and 1% probability levels, respectively; ns: Non-significant

تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورداندازه‌گیری

تجزیه خوشه‌ای بر اساس روش وارد و با استفاده از ضریب فاصله اقلیدسی و بر اساس صفات مطالعه شده در دو دمای شاهد و ۲- درجه سلسیوس انجام شد. برای تعیین تعداد واقعی گروه‌ها و نقطه برش، از T^2 کاذب هتلینگ (Jobson, 2012) استفاده گردید. به منظور مقایسه میانگین گروه‌ها ازنظر صفات اندازه‌گیری شده، برای کلیه گروه‌های ممکن تجزیه واریانس چند متغیره بر پایه طرح کاملاً تصادفی نامتعادل انجام شد به طوری‌که گروه‌ها به عنوان تیمار و ژنوتیپ‌های داخل آن‌ها به عنوان تکرار در نظر گرفته شدند و نتایج آن در جدول ۲ گزارش شده است. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های موردبررسی را در دمای شاهد به سه گروه و در تنش سرما (۲- درجه سلسیوس) به چهار گروه به شرح زیر تقسیم‌بندی کرد: گروه اول در دمای شاهد شامل ارقام کاسکوژن، کراس شاهی، لاین آ، میهن، اروم، شیراز، داراب ۲، عدل، Mv17، سایسون، نوید و الوند و در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ارقام کاسکوژن، شیراز، الوند، پیشگام و امید بود. گروه دوم در دمای شاهد شامل ارقام پارسی، زارع، سیوند و افلاک و در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ارقام اروم، داراب ۲، پارسی و افلاک بودند. گروه سوم در شرایط کنترل شامل ارقام بم، پیشگام، کویر و امید و در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ژنوتیپ‌های لاین آ، میهن، زارع، Mv17، سایسون و کویر و گروه چهارم در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ارقام سیوند، کراس شاهی، عدل، بم و نوید بودند (شکل ۱).

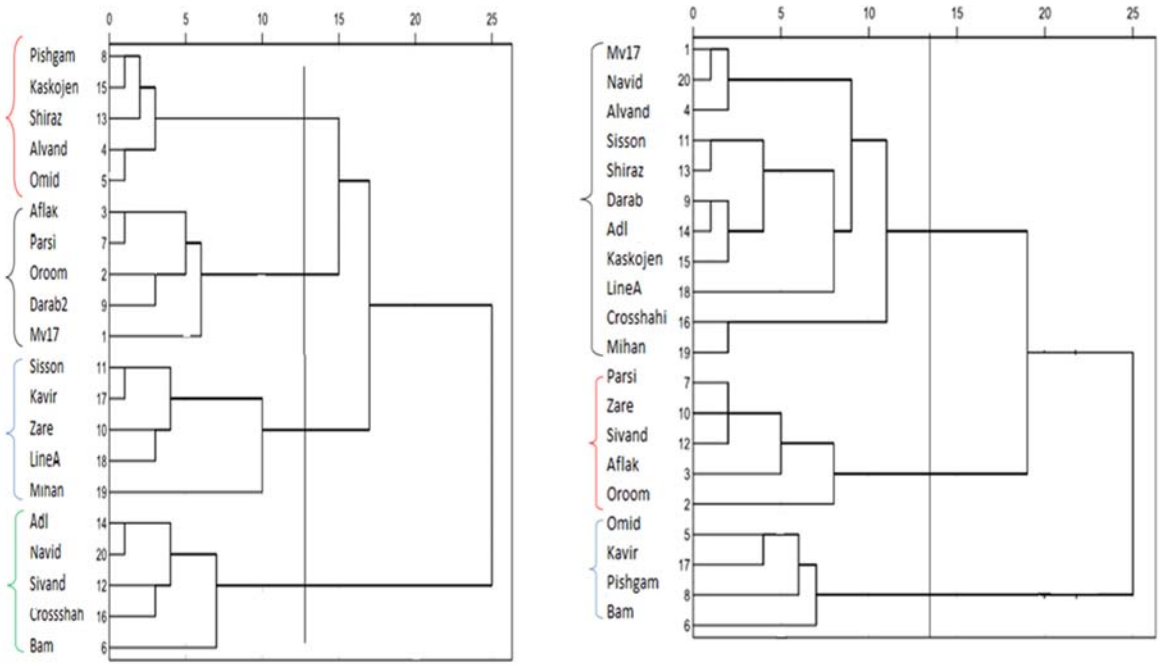
جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس محتوای کلروفیل کل (T.C)، کلروفیل a، b، (Ca, Cb) کارتنوئید (Car)، هدایت الکترولیتی (CML)، پرولین (prolin) و فروکتان (fructan) در شرایط شاهد (۸ درجه سلسیوس) و تنش شدید (۲- درجه سلسیوس) در ۲۰ ژنوتیپ گندم نان تحت تنش سرمای بهاره

Table 2. Analysis of variance of total chlorophyll content, chlorophyll a, b, carotenoid, electrolyte leakage, proline and fructan in control condition(8) and sever stress (-2 °C) in 20 bread wheat cultivars under chiling stress

S.O.V	منابع تغییرات			df	میانگین مربعات (Mean Square)						
					کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	فروکتان Feructan	پرولین Proline	درصد تراوش الکترولیتی Electrolyte Leakage
Control	Group	شاهد	گروه	2	1.7**	16.4**	57.7**	1.0**	0.08ns	181.7**	223.1*
	Error		خطا	18	1.6	0.4	1.2	0.06	0.07	174.8	599.3
-2°C	Group	۲°C	گروه	3	31.9**	3.9**	7**	12.8**	8.8**	3.8*	2.6nd
	Error		خطا	16	2.2	8	4.5	1.4	0.01	102.4	15.9

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

*and **: significant at the 5% and 1% probability levels, respectively; ns: Non-significant.



شکل ۱. تجزیه خوشه‌ای ۲۰ رقم گندم نان در شرایط دمای شاهد ۸ درجه سلسیوس (سمت راست) و ۲- درجه سلسیوس (سمت چپ)

Fig. 1. The cluster analysis of 20 bread wheat cultivars in conditions control (right) and -2 °c (left).

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که بین گروه‌ها در دمای شاهد از نظر صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و درصد تراوش الکترولیتی اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین گروه‌ها در جدول ۳ نشان داده شده است بر اساس این نتایج، در دمای شاهد بین سه گروه برای صفات فروکتان و پرولین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بین گروه‌های اول و دوم از نظر صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید تفاوت معنی‌داری وجود دارد و در این صفات به استثنای کلروفیل کل این دو گروه نسبت به گروه سوم برتری دارند. ارقامی که در گروه دوم قرار گرفتند درصد بیشتری تراوش الکترولیتی نسبت به دو گروه دیگر داشتند. با توجه به تمام صفات مورد اندازه‌گیری در این تحقیق به نظر می‌رسد ارقام گروه اول مقاومت بیشتری

به سرمای بهاره داشته باشند. در شرایط تنش ۲- درجه سلسیوس نیز از نظر صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل ab، کارتنوئید، پرولین و فروکتان اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گندم نان بر اساس صفات فیزیولوژیک در شرایط تنش شدید در جدول ۴ نشان داده شده است. بر اساس این جدول گروه‌های اول و دوم به لحاظ همه صفات شرایط بهتری نسبت به دو گروه دیگر دارند. گروه اول نیز درصد کمتری تراوش الکترولیتی نسبت به گروه دوم دارد که نشان‌دهنده متحمل‌تر بودن ارقام قرارگرفته در این گروه نسبت به گروه دوم است. نتایج حاصل از تحقیقات در رابطه با واکنش‌های فیزیولوژیکی ارقام گندم به تنش سرما متفاوت و گاهی متناقض است. این تفاوت‌ها به دلیل مواد گیاهی متفاوت و تا حدودی نیز به علت شرایط متفاوت آزمایش است. نیازهای هر سطح دمایی مستقل از یکدیگر است به عبارت دیگر علیرغم آنکه یک ژنوتیپ در یک سطح دمایی بالاتر نسبت به یک صفت فیزیولوژیک حدی را نشان می‌دهد ممکن است در سطح دمایی پایین‌تر (سردتر) حد بزرگ‌تری را نشان دهد. به هرحال برای هر شرایط آزمایشی خاص، به نظر می‌رسد بتوان شاخص‌های فیزیولوژیکی را در هر یک از ارقام به عنوان واکنش‌های تطابقی سودمند شناسایی نمود و از آن‌ها برای به‌نژادی و تولید ارقام با ویژگی‌های سازگار با شرایط تنش سرما استفاده کرد. پسرکلی (Pessarkli, 2014) در مطالعه‌ای بیان کرده است که دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است. تجمع مواد محلول مانند آمینواسیدها (پرولین)، اسیدهای آلی، یون‌ها و قندهای محلول (فروکتان) در ارتباط با تنظیم اسمزی فعال طی تنش‌های محیطی مانند خشکی و دمای پایین انجام می‌پذیرد (Joshi et al., 2007). دما یکی از عوامل مؤثر بر سیالیت، پایداری و انعطاف‌پذیری غشاء سلولی است. به همین دلیل از غشاء به عنوان حسگر اولیه زیستی تنش سرما نام برده می‌شود. تداوم و انسجام غشاء پلاسما، عامل اصلی بقای گیاه در شرایط تنش یخ‌زدگی است و هرگونه اختلال در ساختار غشاء، سبب بروز خسارت و حتی مرگ گیاه می‌شود (Mhajan and Tuteja, 2005). به طورکلی به نظر می‌رسد اینکه تحمل بیشتر در ارقام در هر سطح دمایی مربوط به کدام‌یک از موارد «کاهش مقدار برخی صفات مثل اجزاء کلروفیل، فروکتان و پرولین» و یا «افزایش مقدار آن‌ها» است، ابهاماتی وجود دارد.

افت ناگهانی دما تا ۲- درجه سلسیوس باعث پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌ها نسبت به شرایط بدون تنش شد که خود بیانگر وجود اثر متقابل بین ارقام مورد مطالعه و سطوح دمایی است. وجود اثر متقابل معنی‌دار بین ارقام مورد مطالعه و سطوح مختلف تنش دمایی مشخص می‌کند که ارقام مختلف مکانیسم‌های مقابله متفاوتی به ازای هر سطح تنش دمایی دارند که وجود این مکانیسم‌ها توجیه و تبیین روند تغییرات صفات مختلف را پیچیده‌تر می‌سازد. طبق جدول ۴، در شرایط تنش شدید، ژنوتیپ‌هایی که در گروه‌های اول و دوم قرار گرفتند به‌طور میانگین دارای مقدار بیشتری برای صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید، پرولین و فروکتان و نیز مقدار کمتری برای صفت درصد تراوش الکتریکی، در گروه اول، نسبت به دو گروه دیگر دارند بنابراین نسبت به تنش سرما مقاوم‌تر می‌باشند و در نتیجه کمترین خسارت را از تنش شدید متحمل شده‌اند. برخی از ژنوتیپ‌های قرارگرفته در گروه‌های اول و دوم دارای تیپ رشد بهاره و برخی دیگر دارای تیپ رشد زمستانه می‌باشند. گروه سوم و چهارم حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش در دمای ۲- سلسیوس از گروه اول و دوم حساس‌تر به نظر می‌رسند. با اینکه برخی از ارقام قرارگرفته در این گروه‌ها دارای تیپ رشد زمستانه می‌باشند؛ بنابراین ممکن است که در بین ارقام زمستانه ژنوتیپ‌هایی وجود داشته باشند که در مقابله با تنش سرمای بهاره از ارقام بهاره یا بینابینی ضعیف‌تر عمل کنند؛ به عبارت دیگر تیپ رشدی نمی‌تواند معیاری برای شناسایی ارقام مقاوم و یا حساس به تنش سرمای بهاره باشد. وجود دوره‌های سرمایی ملایم در طول زمستان، برای بروز مقاومت گیاه به سرما ضروری است. افزایش درجه حرارت در فصل زمستان تا بیش از ۱۰ درجه سلسیوس باعث کاهش مقاومت در برابر سرما می‌شود. از سوی دیگر اگر گیاه مجدداً در معرض درجه حرارت‌های پایین قرار بگیرد، توانایی مقاومت در برابر یخ‌زدگی را باز می‌یابد. با این وجود با افزایش دما در اواخر فصل زمستان، گیاه مقاومت زمستانه خود را از دست می‌دهد (Gusta and Fowler, 1976). در نتیجه در صورتی که دما در بهار به شدت افت کند، گیاهان حساس دچار سرمازدگی می‌شوند. از گروه‌هایی که دارای تفاوت معنی‌داری برای برخی صفات نسبت به سایر گروه‌ها می‌باشند می‌توان در برنامه‌های تلاقی جهت اصلاح ارقام موجود نسبت به صفات مورد نظر

استفاده نمود. همچنین گروه دوم و سوم بیشترین فاصله ژنتیکی را از هم نشان دادند که می‌توان از تلاقی ارقام این دو گروه هتروزیس مناسبی جهت اصلاح ارقام نسبت به اصلاح صفات موردنظر به دست آورد.

برای تعیین دورترین ژنوتیپ‌ها ازلحاظ اختلافات ژنتیکی از روش تعیین فاصله ژنتیکی به روش وارد و ضریب فاصله اقلیدسی استفاده گردید و معلوم شد که ژنوتیپ‌های پیشگام و افلاک در دمای شاهد و ارقام الوند و سیوند در دمای ۲- درجه سلسیوس بیشترین فاصله ژنتیکی (۴۵/۴۱ و ۶/۲۵) را از یکدیگر دارند. همین طور در مورد کمترین فاصله نیز معلوم شد که در دمای شاهد ارقام Mv17 و نوید و در دمای ۲- درجه سلسیوس ارقام پیشگام و کاسکوژن (۰/۵۹۱ و ۰/۹۱) نزدیک‌ترین ارقام از لحاظ صفات مورد بررسی هستند. با توجه به داشتن حداکثر فاصله ژنتیکی بین دو ژنوتیپ در دمای شاهد و تنش شدید انتظار می‌رود با انجام تلاقی بین این ژنوتیپ‌ها حداکثر هتروزیس ایجاد شده و از نتایج آن می‌توان به عنوان مواد اولیه خام برای اصلاح ارقام استفاده نمود.

جدول ۳. مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ رقم گندم نان بر اساس صفات فیزیولوژیک در شرایط شاهد (میکروگرم/میلی‌لیتر) تحت تنش سرمای بهاره

Table 3. The cluster analysis groups comperative analysis based on physiological traits in 20 bread wheat cultivars under chiling stress (control condition)

Traits صفات / Groups گروه‌ها	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	فروکتان Feructan	پرولین Proline	درصد تراوش الکترولیتی Electrolyte Leakage
First Group گروه اول	14.24a	8.57a	17.52b	13.09a	0.88a	28.5a	19b
Second Group گروه دوم	14.98a	8.8a	16.73b	12.29a	0.82a	29.9a	53.8a
Third Group گروه سوم	12.29b	6.34b	21.56a	12.57b	0.91a	28.9a	20.3b

*میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند

*In each column of treatment group, means followed by the same letters are not significantly different

جدول ۴. مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۲۰ رقم گندم نان بر اساس صفات فیزیولوژیک در شرایط تنش شدید (میکروگرم/میلی‌لیتر)

Table 4. The cluster analysis groups comperative analysis based on physiological traits in 20 bread wheat cultivars under chiling stress (-2 °C)

Traits صفات / Groups گروه‌ها	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیلb Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoids	فروکتان Fructan	پرولین Proline	درصد تراوش الکترولیتی Electrolyte Leakage
First Group گروه اول	8.3b	13.7a	19b	10.7ab	1a	21.6b	7.5c
Second Group گروه دوم	11.9a	10.7ab	22.3a	11.7ab	0.98a	26.5a	12.7b
Third Group گروه سوم	6.8c	10.8ab	17.3c	9.4b	0.8b	15.7c	9.6bc
Fourth Group گروه چهارم	9.8ab	7.5b	21.1ab	12.25a	0.73b	22.4b	14a

*میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون با هم اختلاف معنی‌دار آماری ندارند

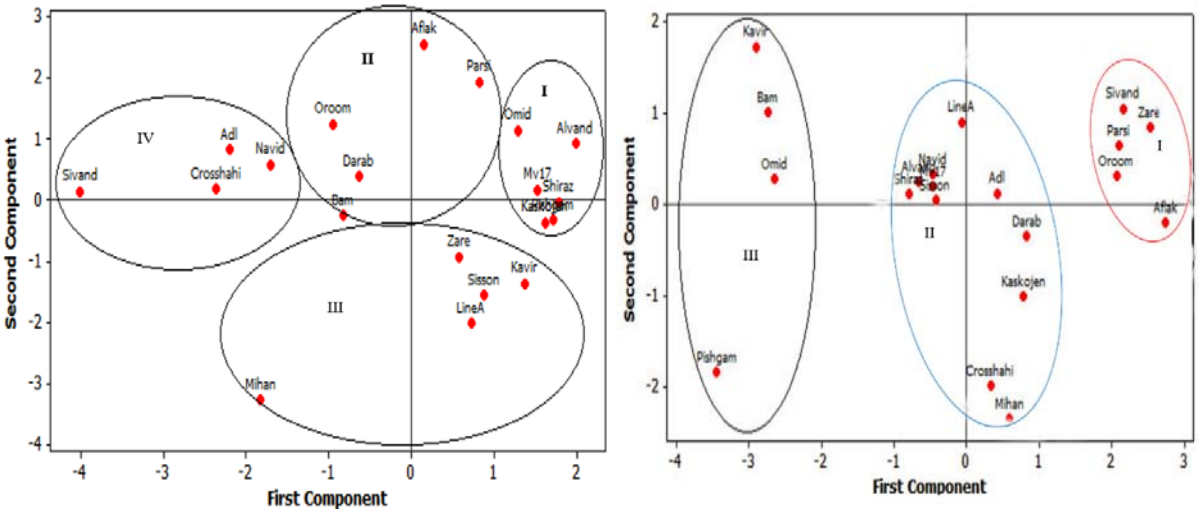
*In each column of treatment group, means followed by the same letters are not significantly different

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

تکنیک تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، از روش‌های تجزیه و تحلیل چند متغیره، برای کاهش تعداد متغیرها به تعداد کمی از شاخص‌ها ابداع شده است. در این روش عدم همبستگی بین شاخص‌ها یک ویژگی مفید است زیرا در این حالت این شاخص‌ها جنبه‌های متفاوتی از داده‌ها را اندازه‌گیری می‌کنند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از دسته روش‌های آماری چند متغیره است که به‌طور گسترده‌ای در برنامه‌های اصلاحی به منظور شناساندن تنوع میان واحدهای آزمایشی به کار می‌رود (Mohammadi and Prasanna, 2003).

در شرایط تنش در دمای ۲- درجه سانتی‌گراد و دمای ۸ درجه سانتی‌گراد سه مؤلفه دارای ریشه مشخصه بالاتر از یک به شرح زیر بودند: در دمای ۲- درجه سلسیوس سه مؤلفه اول دارای ریشه مشخصه ۲/۹۱، ۱/۸۶ و ۱/۱ و در دمای ۸ درجه سلسیوس سه مؤلفه اول دارای ریشه مشخصه ۳/۴۱، ۱/۱۰ و ۱/۰۱ بودند. سه مؤلفه اول در دمای ۲- درجه سلسیوس درمجموع ۸۴ درصد از کل تغییرات بین داده‌ها و در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد ۷۸ درصد از کل تغییرات بین داده‌ها را توجیه کردند. در هر دو شرایط دمایی مؤلفه اول بیشترین تغییرات را بین صفات توجیه می‌کند. در این مؤلفه در دمای ۲- درجه سلسیوس صفات کلروفیل a و کارتنوئید در جهت مثبت و کلروفیل b در جهت منفی و در دمای ۸ درجه سلسیوس نشت یونی در جهت مثبت و پرولین در جهت منفی بیشترین سهم را در توجیه تغییرات داشتند. در مؤلفه دوم در دمای ۲- و ۸ درجه سلسیوس به ترتیب کلروفیل کل و پرولین و در مؤلفه سوم در دمای ۲- و ۸ درجه سلسیوس فروکتان بیشترین سهم را در توجیه تغییرات بر عهده داشتند (جدول ۵). یکی از مزایای تجزیه به مؤلفه‌های اصلی این است که می‌توان به راحتی جایگاه ارقام را نسبت به هم در فضا نشان داد. از آنجا که دو مؤلفه اول در هر دو دما بیشترین تغییرات را بین صفات توجیه می‌کنند پلات دو بعدی بر اساس این دو مؤلفه برای ژنوتیپ‌های مورد بررسی ترسیم شد. بر اساس گروه‌بندی فضایی حاصل از این پلات‌ها ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در دمای ۸ درجه سلسیوس به سه دسته و در دمای ۲- به چهار دسته تقسیم شدند. گروه اول در دمای شاهد شامل ارقام سیوند، زارع، پارسی، اروم و افلاک و در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ارقام کاسکوژن، شیراز، الوند، پیشگام، Mv17 و امید بودند. گروه دوم در دمای شاهد شامل ژنوتیپ‌های کاسکوژن، کراس شاهی، لاین آ، الوند، میهن، شیراز، داراب ۲، عدل، Mv17، سایسون، نوید و در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ارقام اروم، داراب ۲، پارسی، بم و افلاک بودند. گروه سوم در شرایط کنترل شامل ارقام بم، پیشگام، کویر و امید و در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ژنوتیپ‌های لاین آ، میهن، زارع، سایسون و کویر و درنهایت گروه چهارم در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ارقام سیوند، کراس شاهی، عدل و نوید بودند (شکل ۲). در مطالعه‌ای که توسط خدادادی و همکاران (Khodadadi et al., 2011) بر روی ۳۶ رقم گندم در بررسی تنوع ژنتیکی صورت گرفت ۵ مؤلفه اول ۹۷/۱ درصد تغییرات را توجیه کرد و درنتیجه تجزیه کلاستر ۳۶ ژنوتیپ را به ۶ گروه تقسیم نمود. در مطالعه‌ای دیگر که توسط فراهانی و ارزانی (Farahani and Arzani, 2009) انجام شد ۳۰ ژنوتیپ گندم به شش گروه تقسیم شدند. با توجه به اینکه در هر دو دمای شاهد و ۲- درجه سلسیوس به ترتیب دو مؤلفه اول ۸۰ و ۸۴ درصد تغییرات را توجیه می‌کنند معلوم می‌گردد که دو مؤلفه اول برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها کارایی لازم را داشته‌اند. وقتی‌که دو مؤلفه اصلی اولیه علت بیشتر واریانس موجود در داده‌ها هستند، تهیه نمودار داده‌ها در مقابل این دو مؤلفه اصلی روش خوبی برای تحقیق پیرامون تجزیه خوشه‌ای است (Farshadfar and Farshadfar, 2013). به‌طورکلی گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ی، گروه‌بندی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی را در هر دو شرایط دمایی ۸ و ۲- درجه سلسیوس تائید کرد. تنش ۲- درجه سلسیوس باعث پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌ها نسبت به شرایط بدون تنش شد که خود بیانگر این مطلب است که تنش اعمال شده مؤثر بوده و توانسته است تفاوت‌های رفتاری موجود بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی را آشکار سازد و این تنوع متمایز بودن سازوکارهای درونی ژنوتیپ‌ها و تنوع در میزان فعالیت ژن‌ها را نشان می‌دهد که این مسئله با توجه به پاسخ‌های معنی‌دار ژنوتیپ‌ها در صفات اندازه‌گیری شده در شرایط دمای شاهد و ۲- درجه سلسیوس پدیدار گردیده است. به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان دهنده تنوع کافی و همچنین تفاوت رفتاری با تنش مذکور بین ارقام مورد مطالعه است. شانس موفقیت در یک برنامه اصلاحی در گرو انتخاب مواد مناسب و وجود تنوع بوده و والدینی که از نظر ژنتیکی متفاوت هستند، هیبریدهایی با هتروزیس بیش‌تر تولید می‌کنند در نتیجه احتمال به دست آوردن نتاج تفرق یافته برتر (تفکیک متجاوز) افزایش می‌یابد. از طرف دیگر تعیین مشخصات و گروه‌بندی ژرم پلاسم به

به‌نژادگران امکان می‌دهد تا از تکرار در نمونه‌گیری از جمعیت‌ها اجتناب نمایند. می‌توان از گروه‌بندی حاصل از روش‌های آماری بکار برده شده در این تحقیق در انتخاب ژنوتیپ‌های والدی مناسب جهت پیشرفت برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. گروه‌بندی به‌دست‌آمده بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مبتنی بر دو مؤلفه اول بوده که دارای بالاترین ریشه مشخصه هستند و در این حالت نقش سایر مؤلفه‌ها در گروه‌بندی ارقام نادیده گرفته شده است. پس در این گروه‌بندی از تمام تنوع ژنتیکی موجود بین ارقام استفاده نشده است. محمدی و همکاران (Mohamadi et al., 2013) نیز در نتایج تحقیق خود بر روی ژنوتیپ‌های مختلف گندم نان اذعان داشتند که تمام تنوع موجود در صفات زراعی مورد بررسی نمی‌تواند توسط دو یا سه مؤلفه اول تجزیه به مؤلفه‌های اصلی توضیح داده شود.



شکل ۲. بای‌پلات ۲۰ رقم گندم نان برای همه صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در شرایط شاهد (سمت راست) و ۲- درجه سلسیوس (سمت چپ)

Fig. 2. Biplot of 20 bread wheat cultivars f or all measured physiological traits in conditions control (right) and -2 °c (left)

تجزیه به مختصات اصلی

تجزیه به مختصات اصلی یک روش مقیاس‌گذاری یا مختصات‌یابی است که با ماتریس شباهت‌ها یا تفاوت‌های بین مجموعه‌ای از افراد شروع می‌شود و هدف آن به وجود آوردن یک نمودار گرافیکی از داده‌ها با ابعاد کمتر است، به طوری که فاصله بین نقاط در نمودار نزدیک به تفاوت‌های اصلی است؛ بنابراین، نقطه شروع ماتریس شباهت‌ها یا تفاوت‌ها برای PCOA متفاوت از PCA است زیرا در PCA نقطه شروع ماتریس داده‌های اولیه است. اگر داده از دست رفته داشته باشیم و نیز هنگامی‌که تعداد افراد کمتر از صفات است روش PCOA نسبت به PCA ترجیح دارد و بهتر از عهده تحلیل آن برمی‌آید (Farshadfar, 2010). در این تحقیق فاصله ژنوتیپ‌ها از هم در فضای سه‌بعدی نمایش داده شد. فاصله بین ژنوتیپ‌ها عدم تشابه بین ژنوتیپ‌ها را نشان می‌دهد (Mohammadi and Prasanna, 2003). نتایج نشان داد که سه مؤلفه اول هر دو دما ۸ و ۲- درجه سلسیوس دارای سه ریشه مشخصه بالاتر از یک می‌باشند. سه مؤلفه اول در دماهای ۲- و ۸ درجه سلسیوس به ترتیب ۹۴/۱۱ و ۹۶/۵۹ درصد تغییرات را توجیه می‌کنند (جدول ۶). تجزیه به مختصات اصلی، ژنوتیپ‌ها را در دمای ۲- و ۸ به ترتیب به ۴ و ۲ گروه تقسیم کرد. گروه اول در دمای شاهد شامل ارقام کاسکوژن، سیوند، کراس شاهی، لاین آ، الوند، میهن، زارع، اروم، شیراز، داراب ۲، عدل، Mv17، سایسون، نوید، پارسی و افلاک و در دمای ۲- درجه سلسیوس شامل ارقام کاسکوژن، شیراز، الوند، پیشگام و امید بودند. گروه دوم در دمای شاهد شامل ارقام بم، پیشگام، کویر و امید و در دمای ۲- درجه سلسیوس نیز شامل ارقام اروم، داراب ۲، پارسی و افلاک بودند. گروه سوم و چهارم در دمای ۲- درجه سلسیوس به

ترتیب شامل ارقام لاین آ، میهن، زارع،Mv17 ، سایسون و کویر، سیوند، کراس شاهی، عدل، بم و نوید بودند (شکل ۳). گروه‌بندی گرافیکی ژنوتیپ‌ها توسط تجزیه به مختصات اصلی با گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس روش‌های تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای مطابقت دارد. طبقه‌بندی و شکل سه بعدی تهیه شده از تجزیه به مختصات اصلی بر اساس سه مؤلفه اول این تجزیه است و البته از تمام تنوع موجود بین ارقام برای گروه‌بندی آن‌ها استفاده نشده است.

جدول ۵. بردار ویژه، مقادیر ویژه، واریانس نسبی و تجمعی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۲۰ ژنوتیپ گندم نان در دو شرایط شاهد و ۲- درجه سلسیوس تحت تنش سرمای بهاره

Table 5. Eigenvectors, eigenvalues, relative and cumulative variance for principal component analysis in control condition(8) and sever stress (-2 °C) in 20 bread wheat cultivars under chiling stress

		۲- درجه سلسیوس (-2°C)			شاهد (Control)		
Variables	متغیرها	مؤلفه اول First Component	مؤلفه دوم Second Component	مؤلفه سوم Third Component	مؤلفه اول First Component	مؤلفه دوم Second Component	مؤلفه سوم Third Component
Chlorophyll a	کلروفیل a	0.42	-0.46	-0.02	-0.223	0.08	0.44
Chlorophyll b	کلروفیل b	-0.50	-0.23	0.10	0.09	-0.13	0.46
Total Chlorophyll	کلروفیل کل	0.22	0.64	0.06	0.05	0.06	-0.53
Carotenoids	کارتنوئید	0.53	-0.15	0.09	-0.2	-0.08	0.49
Proline	پرولین	-0.37	-0.37	0.18	-0.32	-0.7	-0.32
F Ructan	فروکتان	0.13	-0.28	-0.8	-0.09	0.52	-0.74
Electrolyte Leakage	نشت یونی	0.29	-0.28	0.56	0.22	0.4	0.44
Characteristic Root	ریشه مشخصه	2.91	1.86	1.1	3.4	1.1	1
Relative Variance	واریانس نسبی	0.42	0.27	0.16	0.49	0.16	0.14
Cumulative Variance	واریانس تجمعی	0.42	0.47	0.84	0.49	0.64	0.79

خدادادی و همکاران (Khodadadi et al., 2011) سه روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیه به مختصات اصلی و تجزیه خوشه‌ای را با هم مقایسه و تأثیر هرکدام از این روش‌ها را بر ارزیابی تنوع ژنتیکی گندم بررسی نمودند. آن‌ها گزارش دادند که تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه به مختصات اصلی وقتی‌که سه مؤلفه اول بیشتر از ۲۵ درصد از تغییرات کل را تبیین نمایند، توصیف صحیحی از روابط موجود بین گروه‌ها و ژنوتیپ‌ها را ارائه می‌دهند. وان بونینجن و بوش (Van Beuningen and Busch, 1997) در بررسی تنوع ژنتیکی در بین ارقام گندم بهاره آمریکای شمالی از تجزیه به مختصات اصلی برای ترسیم فاصله‌های نسبی بین ارقام استفاده نمودند و گزارش دادند که مؤلفه اول ۲۰ درصد، مؤلفه دوم ۱۴ درصد و مؤلفه سوم ۹ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. فراهانی و ارزانی (Farahani and Arzani, 2009) با بررسی تنوع ژنتیکی ۳۰ ژنوتیپ گندم دوروم با تجزیه‌وتحلیل آماری چند متغیره گزارش دادند که در بیشتر موارد گروه‌بندی ارائه شده توسط سه روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیه به مختصات اصلی و تجزیه خوشه‌ای با یکدیگر هماهنگ بوده و گروه‌بندی یکسانی بین ارقام ایجاد کرده‌اند. با این وجود، آن‌ها روش تجزیه خوشه‌ای را نسبت به دو روش دیگر جهت گروه‌بندی ارقام ترجیح داشتند.

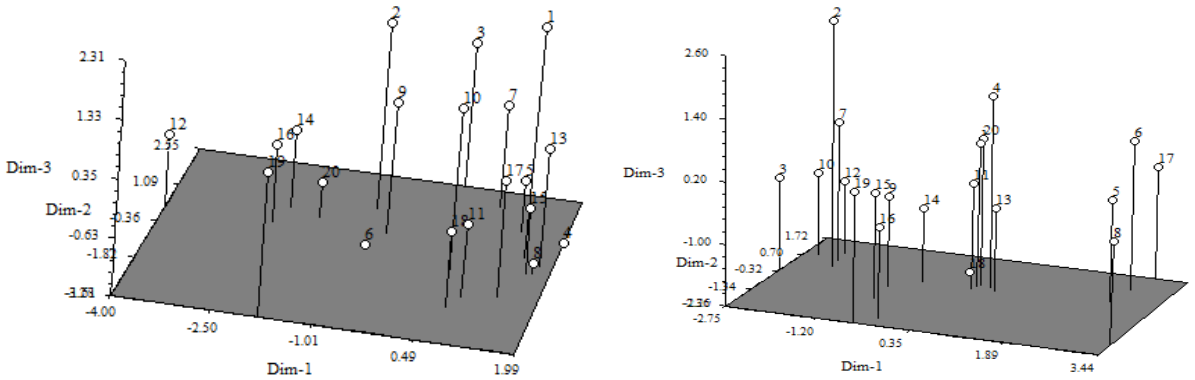
با توجه به نتایج مشاهده‌شده، هرچند که نتایج دو روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه به مختصات اصلی با نتایج طبقه‌بندی خوشه‌ای مطابقت دارند، با این وجود تجزیه خوشه‌ای گروه‌بندی کامل‌تر و جامع‌تری را نسبت به دو روش دیگر ارائه داده است؛ زیرا در این روش از تمام تنوع موجود

بین ژنوتیپ‌ها و صفات جهت طبقه‌بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شده است؛ بنابراین تجزیه خوشه‌ای بهترین روش آماری جهت گروه‌بندی ارقام و ژنوتیپ‌ها است. به طورکلی جهت حفظ تنوع ژنتیکی از ارقام با فاصله ژنتیکی بیشتر جهت والدین در برنامه‌های اصلاح کلاسیک استفاده می‌شود. ارقام دورتر با داشتن چندشکلی بیش‌تر، تفاوت بیش‌تری از نظر ژنتیکی نشان می‌دهند و از نظر دورگ‌گیری، ارقام با تفاوت بیشتر، امکان ایجاد هتروزیس بیشتر و یا انتقال صفات نادر را به دنبال خواهد داشت. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر می‌توان با تشکیل جمعیت‌های نقشه‌یابی مناسب از ان‌ها برای شناسایی آلل‌های مؤثر در تحمل به سرمای بهاره، گزینش به کمک نشانگر و به‌نژادی مولکولی می‌توان استفاده نمود.

جدول ۶. مقادیر ویژه، واریانس نسبی و تجمعی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی ۲۰ ژنوتیپ گندم نان در دو شرایط شاهد و ۲- درجه سلسیوس تحت تنش سرمای بهاره

Table 6. Eigenvalues, relative and cumulative variance for principal component analysis in control condition(8) and sever stress (-2 °C) in 20 bread wheat cultivars under chiling stress

	۲- درجه سانتی‌گراد (-2°C)			شاهد (Control)		
مؤلفه Component	مقادیر ویژه Eigenvalues	واریانس نسبی Relative Variance	واریانس تجمعی Cumulative Variance	مقادیر ویژه Eigenvalues	واریانس نسبی Relative Variance	واریانس تجمعی Cumulative Variance
1	6.1	67.2	67.2	2.6	47.6	47.6
2	1.4	15.9	83	1.7	30.7	78.3
3	1	11	94.11	1	18.2	96.6



شکل ۲. گراف سه‌بعدی تجزیه به مختصات اصلی ۲۰ رقم گندم نان برای همه صفات فیزیولوژیک اندازه‌گیری شده در شرایط شاهد (سمت راست) و ۲- درجه سلسیوس (سمت چپ)

Fig. 2. Three-dimensional graph obtained from principal coordinate analysis for 20 bread wheat cultivars f or all measured physiological traits in conditions control (right) and -2 °c (left)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که (۱) تنش سرمای بهاره توانست تنوع بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را نمایان سازد و از این نظر تنوع کافی بین آن‌ها وجود داشت؛ (۲) تجزیه خوشه‌ای گروه‌بندی کامل‌تر و جامع‌تری را برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نسبت به دو روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه به مختصات اصلی ارائه داده است؛ (۳) می‌توان از ارقام الوند و سیوند به عنوان والدین احتمالی جهت تهیه جمعیت‌های لازم در اجرای برنامه‌های بهنژادی کلاسیک، برای شناسایی آلل‌های کمی

مؤثر در تحمل به سرمای بهاره و نیز گزینش به کمک نشانگر استفاده نمود.

سپاسگزاری

از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر و دانشگاه تهران به خاطر مساعدت در انجام این طرح تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

Arzani, A., 2003. Crop Breeding. Isfahan University Publication Center. 666 pp. [In Persian].

Asadi, A., Mirfakhraii, R. Alireza, A., 2013. Genetic diversity of some of Bread wheat cultivars using SSR mlecular markers and some of physiological traits under chilling stress. MSc dissertation, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modares, Iran. [In Persian with English Summary].

Ashraf, M., Foolad, M., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59, 206-216.

Bates, L., Waldren, R., Teare, I., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil. 39, 205-207.

Bertin, P., Bouharmont, J., Kinet, J. M., 1996. Somaclonal variation and improvement in chilling tolerance in rice: changes in chilling-induced electrolyte leakage. Plant Breeding. 115, 268-272.

Farahani, E., Arzani, A., 2009. Evaluation of genetic variation of durum wheat genotypes using multivariate analyses. Electronic Journal of Crop Production. 4, 51-64. [In Persian].

Farshadfar, E., Farshadfar, H., 2013. Biplot analysis for detection of heterotic crosses and estimation of additive and dominance components of genetic variation for drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum*). Agriculture Communication. 1: 1-7.

Fowler, D. B., Breton, G., Limin, A. E., Mahfoozi, S., Sarhan, F., 2001. Photoperiod and temperature interactions regulate low-temperature-induced gene expression in barley. Plant Physiology. 127, 1676-1681.

Groppa, M., Benavides, M., 2008. Polyamines and abiotic stress: recent advances. Amino Acids. 34, 35-45.

Gusta, L., Fowler, D., 1976. Effects of temperature on dehardening and rehardening of winter cereals. Canadian Journal of Plant Science. 56, 673-678.

Hall, A.E., 2000. Crop Responses to Environment. CRC Press. 231p.

Han, B., Bischof, J.C., 2004. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing. Cryobiology. 48, 8-21.

Jermyn, M., 1956. A new method for determining ketohexoses in the presence of aldohexoses. Nature. 177, 38-39.

Jobson, J., 2012. Applied multivariate data analysis: volume II: Categorical and Multivariate Methods. Springer Science and Business Media. 129.

Joshi, S., Chandra, S., Palni, L., 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetica. 45, 594-600.

Kafi, M., Ganjali, A., Nezami, A. Shariatmadar, F., 2002. Weather and Yield. Ferdusi Mashad University Press. 311. [In Persian].

Khodadadi, M., Fotokian, M. H., Miransari, M., 2011. Genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes based on cluster and principal component analyses for breeding strategies. Australian Journal of Crop Science. 5: 17.

Kimber, G., Feldman, M., 1987. Wild wheat. An introduction. Special Report, College of Agriculture, University of Missouri-Columbia.

Lichtenthaler, H. K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. 148, 350-382.

Mahfoozi, S., Sasani, S., 2009. Vernalization requirement in some wheat and barely genotype and its relationship with expression of cold hardiness in field and controlled conditions. Journal of Crop Science of Iran. 39, 111-126. [In Persian with English Summary].

Meier, H., Reid, J., 1982. Reserve polysaccharides other than starch in higher

plants. Plant Carbohydrates I, Springer, 418-471.

Mhajan, S., Tuteja, N., 2005. Cold, salinity and drought stresses. Arch Biochem Biophys. 444, 139-158.

Mirmohammadi Myboodi, A. M., 2006. Cold and Freezing Stresses: Breeding and Physiological Aspect of Crop Plant. Golban Isfahan Press. 336. [In Persian].

Mohamadi, M., Mirfakhraii, R. G., Abbasi, A. R., 2013. Study of genetic diversity of spring cold stress in Iranian bread wheat cultivars by using multivariate statistical methods. Electronic Journal of Crop Production. 6, 166-149. [In Persian with English Summary].

Mohammadi, S., Prasanna, B., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. Crop Science. 43, 1235-1248.

Perras, M. Sarhan, F., 1989. Synthesis of freezing tolerance proteins in leaves, crown, and roots during cold acclimation of wheat. Plant Physiology. 89, 577-585.

Pessarakli, M., 2014. Handbook of plant and crop Physiology. CRC press. 1031.

Sivakumar, P., Sharmila, P., Saradhi, P. P., 2000. Proline alleviates salt-stress-induced enhancement in ribulose-1, 5-bisphosphate oxygenase activity. Biochemical and biophysical research communications. 279, 512-515.

Skriver, K., Mundy, J., 1990. Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. The Plant Cell. 2, 503.

Van Beuningen, L., Busch, R., 1997. Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: I. Analysis of the coeffecient of parentage matrix. Crop Science. 37, 570-579.

Yuanyuan, M., Yali, Z., Jiang, L., Hongbo, S., 2009. Roles of plant soluble sugars and their responses to plant cold stress. African Journal of Biotechnology. 8, 2004-2010.

Zadocs, J.C., Changh, T.T., KKonzak, C.F., 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Research. 14, 415-421.

Zhang, X., Li, C., Wang, L., Wang, H., You, G., Dong, Y., 2002. An estimation of the minimum number of SSR alleles needed to reveal genetic relationships in wheat varieties. I. Information from large-scale planted varieties and cornerstone breeding parents in Chinese wheat improvement and production. Theoretical and Applied Genetics. 106, 112-117.