دانشگاه گیلان
دانشکده علوم کشاورزی

تحقیقات غلات

دوره هفتم/ شماره سوم/ ۱۳۹۶ (۴۲۰-۳۹۹)

ارزیابی تنوع ژنتیکی لاین‌های دو جمعیت جو تحت شرایط نرمال و تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای با استفاده از تجزیه‌های چندمتغیره

آرش محمدی[۱]، امید سفالیان[۲*]، حسین جعفری[۳]، علی اصغری[۴] و فرید شکاری[۵]

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۳/۱۸

چکیده

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی لاین‌های اینبرد نوترکیب جو (*Hordeum vulgare* L.) تحت دو شرایط بدون تنش و تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای، جمعیت‌های Vada×Susptrit (V×S) با ۱۱۲ لاین و Cebad Capa×Susptrit (CC×S) با ۸۹ لاین به‌همراه ژنوتیپ‌های والدینی در دو آزمایش جداگانه در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار در شرایط گلخانه مورد مطالعه قرار گرفتند. صفات اندازه‌گیری شده، چهار صفت فیزیولوژیک شامل محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل، وزن خشک اندام هوایی و دمای سطح برگ بودند. صفت محتوای کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی در سه وضعیت رطوبتی خاک (۲۰، ۳۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نتایج تجزیه خوشه‌ای، لاین‌های جمعیت‌های V×S و CC×S را تحت هر دو شرایط آزمایش به‌ترتیب در پنج و چهار خوشه گروه‌بندی کرد. تجزیه تابع تشخیص نیز نتایج این گروه‌بندی‌ها را با میزان موفقیت بالا تایید کرد. در جمعیت V×S، دو تابع تشخیص اول با مقادیر ویژه معنی‌دار و بالاتر از یک در مجموع ۷۸/۲ و ۹۳/۴ درصد از واریانس کل را به‌ترتیب تحت شرایط نرمال و تنش خشکی توجیه کردند. در جمعیت CC×S نیز دو تابع اول و دوم با مقادیر ویژه بالاتر از یک، در مجموع ۷۸/۸ و ۹۰ درصد از تغییرات را به‌ترتیب تحت شرایط نرمال و تنش خشکی به خود اختصاص دادند. گروه‌بندی لاین‌ها تحت هر دو شرایط آزمایشی و در هر دو جمعیت، با استفاده از فاصله ماهالانوبیس نیز بررسی شد و مورد تایید قرار گرفت. از نتایج این تحقیق می‌توان استنباط کرد که تجزیه تابع تشخیص یک روش چندمتغیره آماری بسیار مفید برای ارزیابی و تایید گروه‌بندی ژنوتیپ‌های جو تحت شرایط بدون تنش و تنش می‌باشد. همچنین، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تنوع زیاد و قابل توجه‌ای در هر دو جمعیت و تحت هر دو شرایط مورد مطالعه وجود دارد، به‌طوری‌که می‌توان از این جمعیت‌ها به‌کمک نشانگرهای مولکولی در نقشه‌یابی مکان‌های ژنی کنترل کننده صفات کمی مرتبط با تحمل به خشکی در جو بهره برد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه‌خوشه‌ای، تجزیه تابع تشخیص، فاصله ماهالانوبیس، صفات فیزیولوژیک

۱- دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۳- دانشیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران
۴- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۵- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
* نویسنده مسئول: sofalian@gmail.com

مقدمه

جو با نام علمی *Hordeum vulgare* L.، یکی از چهار غله مهم در دنیا بوده و در کنار گندم، برنج و ذرت قرارمی گیرد. گیاه جو آب کمتری برای تولید هر واحد وزن خشک نسبت به غلات دیگر مصرف می‌کند، به‌طوری که در شرایط محدودیت آب، سازگاری خوبی نشان می‌دهد. جو در مقایسه با غلات دیگر، به‌خوبی در برابر خشکی از طریق افزایش کارآیی در مصرف آب مقابله می‌کند (Fisher, 2007). درحال حاضر، خشکی یک تهدید اصلی در تولید پایدار محصولات کشاورزی محسوب می‌شود که این تنش، عملکرد گیاهان زراعی را تا بیش از ۷۰ درصد کاهش می‌دهد. از این رو، در بین تنش‌های غیر زیستی، تنش خشکی به‌خاطر طبیعت پیچیده‌اش، مخرب‌ترین عامل می‌باشد (Gosal *et al*., 2009). تنش خشکی در اثر بارندگی ناکافی و یا تغییر الگوی توزیع بارش (Toker *et al*., 2007) و همچنین درجه حرارت بالا (Araus *et al*., 2008) به وقوع می‌پیوندد. در بین تنش‌های محیطی، خشکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد در مناطق نیمه‌خشک است. بهبود مقاومت به خشکی یک امر مهم در برنامه‌های اصلاحی گیاهان زراعی برای کشت آبی در این مناطق می‌باشد (Andere *et al*., 2000). وخامت ناشی از تنش خشکی به زمان وقوع آن، مدت زمان و شدت آن بستگی دارد (Seraj and Sinclair, 2002). مقاومت گیاهان به خشکی، نتیجه بسیاری از خصوصیات ظاهری و فیزیولوژیکی است. در گذشته، اصلاح گیاهان برای محیط‌های خشک به‌وسیله گزینش مستقیم برای عملکرد انجام می‌شده است (Good and Malagan, 1993). با این حال، اصلاح برای تحمل به خشکی بر مبنای عملکرد دانه مشکل است، زیرا میزان وراثت‌پذیری عملکرد، تحت شرایط خشکی به علت کوچک بودن واریانس ژنوتیپی و یا بزرگ بودن واریانس اثرمتقابل ژنوتیپ در محیط، پایین است (Ludlow and Muchow, 1990; Koszegi *et al*., 1996). مقاومت به خشکی را به‌راحتی نمی‌توان اندازه‌گیری نمود، چون یک صفت فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و مولکولی پیچیده است (Farshadfar *et al*., 2008). با تجزیه‌های تک‌متغیره، هر صفت به‌طور جداگانه تجزیه می‌شود و میزان تفاوت ژنوتیپ‌های مورد بررسی را زمانی‌که صفات اندازه گیری‌شده با یکدیگر ارتباط دارند، توصیف نمی‌کند. در برنامه‌های اصلاح‌نباتات، انتخاب براساس تعداد زیادی صفت زراعی صورت می‌گیرد که ممکن است بین آن‌ها همبستگی مثبت و منفی وجود داشته باشد، لذا روش‌های تجزیه و تحلیلی که بدون از بین بردن مقدار زیادی از اطلاعات مفید، تعداد صفات موثر در عملکرد را کاهش‌دهند، برای پژوهشگران با ارزش هستند (Guertin and Bailey, 1982). تجزیه‌خوشه‌ای یکی از روش‌های آماری چند متغیره است که برای تعیین تنوع بین جوامع مختلف گیاهی و جانوری و دسته‌بندی آن‌ها به گروه‌های مختلف براساس فاصله یا تشابه ژنتیکی مورد استفاده قرارمی‌گیرد (Saburi *et al*., 2008). این روش در دو مورد می‌تواند به به‌نژادگر کمک نماید: یکی پیداکردن گروه‌های واقعی افراد براساس تشابه ژنتیکی بین آن‌ها و دیگری کاهش داده‌ها و انتخاب افراد محدودی از هر گروه یا دسته (Jobson, 1992). تجزیه تابع‌تشخیص، یکی دیگر از روش‌های آماری چند متغیره‌است که همه صفات به‌طور هم‌زمان در تفاوت بین ارقام مورد بررسی قرار می‌گیرند و این روش مقایسه بسیار قوی از جمعیت‌ها را نسبت به آن‌چه از طریق تجزیه تک متغیره به‌دست می‌آید، فراهم می‌سازد (Yeater *et al*., 2004). تجزیه تابع‌تشخیص، روشی مرکب از تجزیه به مولفه‌های اصلی و تجزیه همبستگی کانونیک می‌باشد (Vaylay and Van Santen, 2002). در واقع این روش تجزیه، ترکیبات خطی صفات اصلی که بیشترین تفاوت را بین کلاس‌ها یا گروه‌ها فراهم می‌سازند، مشخص می‌نماید (Dillon and Goldstein, 1984). متغیرهای کانونیکی، ترکیبات خطی صفاتی هستند که دارای بیشترین همبستگی چندگانه با هر گروه می‌باشند. این متغیرها در حالتی که صفات اندازه‌گیری شده، همبستگی بالایی با یکدیگر داشته باشند نیز با یکدیگر همبستگی نداشته و مستقل از همدیگر می‌باشند (Bouslama and Schapaugh, 1984). تجزیه تابع تشخیص می‌تواند اثرات بین جمعیت‌ها را از اثرات درون جمعیت‌ها، به‌وسیله حداکثر کردن تشخیص بین جمعیت‌ها زمانی‌که در مقابل تنوع درون جمعیت‌ها آزمون می‌شود، جدا کند (Rencher, 1992). در استفاده از تجزیه خوشه‌ای، تعیین مقدار شباهت درون‌گروهی و تعیین روشی برای تشکیل خوشه‌ها که بر پایه مقدار شباهت اندازه‌گیری شده‌است، لازم می‌باشد. اما در تجزیه تابع تشخیص، برای اندازه‌گیری شباهت به‌طور مستقیم از متغیرهای کانونیکی محاسبه شده استفاده می‌شود. مقدار میانگین متغیرهای کانونیکی، به‌عنوان مراکز گروه‌ها تلقی می‌شود (Vaylay and Van Santen, 2002). جینز و همکاران (Jaynes *et al*., 2003) با مطالعه

ژنوتیپ‌های ذرت در شرایط مزرعه‌ای، این ژنوتیپ‌ها را در ۵ گروه دسته‌بندی کردند و با تجزیه تابع‌تشخیص، نشان دادند که ۸۰ درصد از گروه‌بندی انجام گرفته، صحیح بوده‌است. خورشیدی و همکاران (Shafiee Khorshidi *et al*., 2013) نیز با مطالعه ۴۹ ژنوتیپ لوبیای معمولی در دو شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی، این ژنوتیپ‌ها را در هر دو شرایط در ۴ گروه دسته‌بندی نمودند و با تجزیه تابع تشخیص نشان دادند که این گروه‌بندی، ۱۰۰ درصد صحیح بوده است.

تنش‌خشکی در تمام مراحل گیاه تاثیر می‌گذارد. این تنش در مرحله گیاهچه‌ای باعث جلوگیری از استقرار گیاه می‌شود. می‌توان برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه‌ای به ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس از صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی از جمله صفات مرتبط با ریشه و اندام هوایی استفاده نمود (Zheng *et al*., 2008). گیاهچه‌های تازه پژمرده‌شده قدرت‌رشد مجدد بالاتری نسبت به گیاهچه‌هایی که تحت تنش طولانی‌تری بوده‌اند، خواهند داشت که این به‌دلیل خشکی خاک و تعرق گیاهچه می‌باشد. برای تحمل تنش‌های خشکی شدید، گیاه از استراتژی "بقا" استفاده می‌کند که در این فرآیند، ابتدا گیاهچه پژمرده می‌شود و بدین‌وسیله تبخیر و تعرق کاهش یافته و نقطه رشد گیاه پایین نگه داشته می‌شود و موجب حفظ توانایی گیاه جهت رشد مجدد می‌گردد. در شرایط تنش‌خشکی ملایم، گیاه از استراتژی "تقویت رشد" استفاده می‌کند و بدین طریق، در شرایط تنش‌خشکی، رشد خود را حفظ می‌نماید (Chen *et al*., 2010). در منابع مختلف، تاثیر تنش خشکی روی گیاهچه‌های جو مطالعه گردیده است. ماتئوز و همکاران (Mateusz *et al*., 2014) اثرات تنش خشکی در مرحله خشکی با شدت‌های مختلف از ۶۵ درصد تا ۱۰ درصد رطوبت خاک را روی صفات فیزیولوژیکی ژنوتیپ‌های جو را بررسی کردند و گزارش کردند که محتوای نسبی آب برگ و وزن خشک بوته روند کاهشی، کارآیی مصرف آب (WUE) روند افزایشی و سرعت فتوسنتر با تشدید تنش خشکی روند کاهشی داشت. همچنین کوچوا و همکاران (Kocheva *et al*., 2004) با مطالعه تنش اسمزی روی گیاهچه‌های دو رقم جو نشان دادند که تنش خشکی موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ و کاهش پایداری غشای سلولی گردید. مطالعه حاضر، جهت گروه‌بندی لاین‌های اینبرد نوترکیب جو حاصل از دو جفت تلاقی V×S و CC×S در دوشرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای با استفاده از تجزیه‌های چند متغیره از جمله تجزیه خوشه‌ای و تجزیه تابع‌تشخیص انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۱۲ لاین اینبرد نوترکیب (RIL= Recombinant Inbred Lines) حاصل از تلاقی دو رقم جو Vada×Susptrit (Jafari *et al*., 2006a) و ۸۹ لاین RIL حاصل از تلاقی Cebad Capa×Susptrit (Jafari *et al*., 2006b) در این آزمایش مورداستفاده قرارگرفتند که در دانشگاه واخنینگن هلند ایجاد شده‌اند. رقم Suptrit به‌عنوان رقم مقاوم به تنش خشکی و ارقام Vada و Cebada Capa به‌عنوان ارقام حساس بودند (Nguyen *et al*., 2012). آزمایش در یک گلخانه با شرایط کامل کنترل شده از لحاظ دما و رطوبت در سال ۱۳۹۴ و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی استان‌زنجان انجام‌گرفت. لاین‌های هر دو جمعیت به همراه والدین‌شان به‌طور جداگانه در شرایط نرمال و تنش‌خشکی در گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد ۲۵×۱۵ سانتی متر کشت شدند. به‌دلیل یکنواختی محیط گلخانه و بستر خاکی مورد استفاده، هر آزمایش تحت طرح آماری کاملاً تصادفی با دو تکرار اجرا گردید. از هر لاین و همچنین ارقام والدینی، ۵ عدد بذر سالم برداشته شد و پس از ضدعفونی با الکل اتیلیک ۷۰ درصد، در بستر گلدان‌ها کشت شدند و مخلوط بستر ترکیب ۱:۱ خاک زراعی و ماسه انتخاب‌گردید. پس از سبز شدن، با عمل تنک‌کردن، تعداد گیاهچه‌ها در هر گلدان به ۳ عدد کاهش یافت. تا مرحله ۴ برگی، همه آزمایشات به‌طور یکنواخت آبیاری شدند و همچنین جهت اطمینان از تامین کافی مواد غذایی، دو مرحله از محلول غذایی استاندارد هوگلند استفاده‌شد. در مرحله‌ای که گیاهچه‌ها دارای چهار برگ کامل شدند، در آزمایش تنش هر دو جمعیت، آبیاری قطع گردید ولی در آزمایش نرمال، آبیاری به‌طور مرتب صورت گرفت. تنش تا زمان رسیدن رطوبت خاک گلدان‌ها به میزان ۲۰ درصد ظرفیت زراعی ادامه‌یافت. در این هنگام، صفات مورد نظر در هردو آزمایش اندازه‌گیری شدند. برای تعیین اینکه چه زمانی رطوبت گلدان‌ها به ۲۰ درصد ظرفیت زراعی می‌رسد، تعداد ۳ گلدان در نظر گرفته شد و مقداری از همان ترکیب خاکی در آون و در دمای ۸۰ درجه به مدت ۲۴ ساعت کاملا خشک گردید و این ۳ گلدان با این ترکیب خاکی خشک شده پر شدند و سپس وزن خاک

به همراه گلدان با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و یادداشت گردید. سپس به‌صورت تدریجی به آن‌ها آب اضافه گردید تا به رطوبت اشباع برسند و قطرات آب از سوراخ‌های زه‌کش آن‌ها خارج شود. در این زمان، بلافاصله روی گلدان‌ها با نایلون پوشیده شده و به مدت ۷۲ ساعت در همان شرایط گلخانه نگهداری شدند تا رطوبت آن‌ها به مقدار ظرفیت زراعی برسد و دوباره گلدان‌ها توزین شدند. در نهایت با کسر وزن ثانویه از وزن خاک خشک، میزان رطوبت ظرفیت زراعی محاسبه گردید. سپس گلدان‌های اصلی با مقدار مساوی ترکیب خاکی مورد نظر پر شده و هم‌زمان کشت شدند. سه گلدان ذکر شده فقط جهت تعیین مقدار رطوبت در ظرفیت زراعی در نظر گرفته شدند. گلدان‌های اصلی با مقدار مساوی از ترکیب خاکی پر شده و بذور کشت شدند. پس از شروع زمان تنش در آزمایش تنش، هر روز تعداد ۴ گلدان از محل‌های مختلف وزن می‌شدند و با کسر از وزن گلدان‌ها در مرحله ظرفیت زراعی (با توجه به سه گلدان اولیه) و نسبت‌گیری، درصد رطوبت نسبت به رطوبت ظرفیت زراعی به‌دست می‌آمد. تا مرحله چهار برگی، هر دو آزمایش در هر دو جمعیت، به‌طور یکسان آبیاری شدند. در مرحله چهار برگی، آخرین آبیاری انجام شد و سپس هر روز، تعداد ۴ گلدان از محل‌های مختلف گلخانه، توزین می‌گردیدند تا اینکه میانگین رطوبت آن‌ها به ۲۰ درصد ظرفیت زراعی برسد. در این زمان، کلیه صفات مورد نظر در گلدان‌های اصلی، اندازه‌گیری شدند.

محتوای کلروفیل برگ

این صفت در آزمایش تنش‌خشکی، در طول مدت تنش در ۳ مرحله در زمان‌هایی که رطوبت گلدان‌ها به ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (۵۰٪ FC)، ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (۳۰٪ FC) و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی (۲۰٪ FC)، و در آزمایش نرمال این صفت، یک مرحله با دستگاه کلروفیل‌متر پرتابل (SPAD) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (Hamam *et al.*, 2005). برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل برگ، از آخرین برگ کاملاً توسعه‌یافته و از قسمت وسط پهنک برگ، استفاده شد. این صفت در هر ۳ بوته موجود در هر گلدان، اندازه‌گیری شده و میانگین آن‌ها یادداشت‌برداری شد.

محتوای نسبی آب برگ (RWC)

از هر لاین در هر دو آزمایش و هر دو جمعیت، چندین قطعه برگی از آخرین برگ کاملاً توسعه‌یافته نمونه‌برداری گردید. برای اندازه‌گیری این صفت از روش بار و ویزرلی (Barr and Wetherley, 1962) استفاده شد. نمونه‌برداری از برگ، بعد از ساعت ۱۱ صبح صورت گرفت. وزن تر (FW) نمونه‌های برگی بلافاصله با یک ترازوی حساس پرتابل با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌های برگی در داخل مخزن حاوی تکه‌های یخ به آزمایشگاه منتقل شدند و بلافاصله در ظروف جداگانه حاوی مقدار کافی از آب مقطر غوطه‌ور شده و در دمای ۲۵ درجه آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از ۴۸ ساعت، وزن آماس (TW) نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید. سپس نمونه‌های برگی در داخل پاکت‌های جداگانه، به مدت ۲۴ ساعت در آون و در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند و بلافاصله وزن خشک (DW) نمونه‌های برگی یادداشت گردید. در نهایت محتوای نسبی آب برگ بر اساس رابطه شماره ۱ محاسبه گردید.

$$RWC\% = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$ رابطه شماره ۱

وزن خشک اندام هوایی

برای اندازه‌گیری این صفت، اندام هوایی هر ۳ بوته در هر گلدان برداشت گردید و در آون و در دمای ۷۵ درجه به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و سپس بلافاصله توزین شدند. میانگین وزن خشک ۳ بوته محاسبه و یادداشت گردید.

دمای سطح برگ

این صفت فقط در جمعیت حاصل از تلاقی CC×S اندازه گیری شد. برای این منظور از دستگاه دماسنج مادون‌قرمز، استفاده گردید و اندازه‌گیری‌ها روی آخرین برگ کاملاً توسعه‌یافته صورت گرفت. این صفت روی هر ۳ بوته موجود در هر گلدان، اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها یادداشت‌برداری گردید.

برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزارهای آماری SPSS 22 و Statistica 10 استفاده‌گردید. تجزیه واریانس مرکب، محاسبه آماره‌های توصیفی، مقایسات میانگین‌های گروه‌ها، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه تابع‌تشخیص با استفاده از نرم‌افزار SPSS 22 انجام‌گرفت و برای محاسبه فواصل ماهالانوبیس بین گروه‌ها از نرم‌افزار Statistica 10 استفاده شد. قبل از تجزیه واریانس، آزمون همگنی واریانس خطاها با استفاده از آزمون لون (Levene Test) انجام‌گرفت. مقایسه میانگین

گروه‌ها از روش دانکن و در سطح احتمال یک درصد انجام گرفت، بدین‌صورت که هر گروه به‌عنوان یک تیمار در نظر گرفته‌شد و تعداد اعضای هر گروه به‌عنوان تکرار در نظر گرفته شد. تجزیه‌خوشه‌ای از طریق روش وارد و فاصله اقلیدسی صورت گرفت و انتخاب محل برش دندروگرام حاصل براساس نتایج تجزیه تابع تشخیص کانونیکی و آزمون شاخص ویلکس لامبدا انجام شد.

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی و تجزیه واریانس

براساس مقادیر آماره‌های توصیفی در آزمایش نرمال جمعیت V×S، بیشترین مقدار ضریب تغییرات، مربوط به وزن خشک اندام هوایی و کمترین مقدار مربوط به محتوای نسبی آب برگ و دمای برگ بوده و در آزمایش تنش این جمعیت نیز صفات وزن خشک اندام هوایی و محتوای کلروفیل در رطوبت ۲۰ درصد ظرفیت زراعی به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقدار ضریب تغییرات را به خود اختصاص دادند. در هر دو آزمایش جمعیت CC×S، بیشترین و کمترین مقدار ضریب تغییرات به ترتیب مربوط به وزن خشک اندام هوایی و دمای برگ بود (جدول ۱).

به‌منظور انجام آزمون همگنی واریانس خطاهای آزمایشی، از آزمون لون (Leven test) استفاده شد که در هر دو جمعیت و برای همه صفات غیرمعنی‌دار بود. تجزیه واریانس مرکب صفات در دو جمعیت V×S و CC×S، نشان داد که در کلیه صفات، اثرات اصلی محیط و ژنوتیپ و برهمکنش ژنوتیپ × محیط در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول‌های ۲ و ۳). این نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب تغییر معنی‌دار در صفات مورد مطالعه و نیز تفاوت بین ژنوتیپ‌های جو در هر دو جمعیت و هر دو آزمایش شد و از همه مهم‌تر معنی‌دار بودن برهمکنش ژنوتیپ × محیط نشان داد که ژنوتیپ‌ها واکنش‌های متفاوتی نسبت به تغییر محیط از خود نشان‌دادند.

تجزیه‌های خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای در شرایط نرمال در جمعیت V×S، ژنوتیپ‌ها را در پنج گروه مجزا قرارداد که این گروه‌بندی بر اساس نتایج تجزیه تابع تشخیص کانونیکی و آزمون شاخص ویلکس لامبدا صورت گرفت. این شاخص هم در آزمایش آبیاری نرمال و هم تنش‌خشکی برای همه توابع در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱۰). دندروگرام حاصل در شکل ۱- a، میانگین خوشه‌ها از لحاظ صفات مختلف در جدول ۴ و فاصله ماهالانوبیس بین گروه‌ها در جدول ۶ ارایه شده است. بر اساس نتایج این تجزیه، ۲۷ درصد از لاین‌ها در خوشه اول، ۱۷ درصد در خوشه دوم، ۲۵ درصد در خوشه سوم به‌همراه والد Vada، ۹ درصد در خوشه چهارم و ۲۲ درصد در خوشه پنجم به‌همراه والد Susptrit واقع شدند. مقایسه میانگین گروه‌ها نیز نشان داد که لاین‌های گروه اول دارای محتوای نسبی آب برگ بالاتر از میانگین کل، از لحاظ محتوای کلروفیل متوسط و از لحاظ وزن خشک اندام هوایی دارای بالاترین میانگین بودند. گروه دوم از لحاظ هر سه صفت، بالاترین میانگین را نسبت به میانگین کل و سایر گروه‌ها داشت. گروه سوم نیز دارای محتوای کلروفیل بالاتر از میانگین کل و سایر گروه‌ها و از لحاظ وزن خشک اندام هوایی مقداری بالاتر از میانگین کل، گروه چهارم از نظر محتوای کلروفیل برگ در حد میانگین کل و از لحاظ محتوای کلروفیل برگ و وزن خشک اندام هوایی دارای کمترین میانگین نسبت به سایر گروه‌ها و گروه پنجم از نظر محتوای نسبی آب برگ دارای بالاترین میانگین، از لحاظ محتوای کلروفیل نزدیک به میانگین کل و از نظر وزن خشک اندام هوایی دارای کمترین میانگین بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین گروه‌ها، می‌توان این‌طور استنباط کرد که خوشه دوم با دارا بودن بالاترین میانگین از لحاظ هر سه صفت در نقطه مقابل گروه چهارم قرار دارد که دارای کمترین میانگین از نظر محتوای نسبی آب برگ و محتوای کلروفیل بود و وزن خشک اندام هوایی پایین‌تر از میانگین کل را داشت.

نتایج این مرحله با نتایج فاصله ماهالانوبیس (جدول ۳) که بیشترین فاصله را بین این دو گروه نشان داد، مطابقت داشت. همچنین با توجه به مقادیر فواصل ماهالانوبیس، فاصله بین گروه‌های سوم و پنجم که به‌ترتیب والدین Vada و Susptrit در آن‌ها قرار داشتند، بالا بود که نشان‌دهنده این است که این دو والد از لحاظ صفات اندازه‌گیری شده، فاصله زیادی از هم دارند و می‌توان از جمعیت حاصل از تلاقی آن‌ها در مطالعات مکان‌یابی ژن‌های مرتبط با این صفات استفاده کرد.

جدول ۱- مقادیر آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی در دو جمعیت Vada×Susptrit و Cebad Capa×Susptrit

Table 1. Descriptive values of the studied traits under normal and drought stress conditions in two populations Vada×Susptrit and Cebad Capa×Susptrit

صفت Trait	میانگین Mean	حداقل Min	حداکثر Max	دامنه تغییرات Range	انحراف معیار Standard deviation	ضریب تغییرات CV (%)
آزمایش آبیاری نرمال در جمعیت Vada×Susptrit Normal experiment in population Vada×Susptrit						
محتوای نسبی آب برگ (درصد) Leaf relative water content (%)	87.61	68.18	99.5	31.33	5.67	6.47
محتوای کلروفیل Chlorophyll content	36.81	23.3	46.6	23.3	4.44	12.06
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	0.246	0.045	0.633	0.588	0.101	41.06
آزمایش تنش خشکی در جمعیت Vada×Susptrit Drought stress experiment in population Vada×Susptrit						
محتوای نسبی آب برگ (درصد) Leaf relative water content (%)	73.28	50.55	89.42	38.87	11.41	15.57
کلروفیل در رطوبت ۲۰ ٪ ظرفیت زراعی Chlorophyll in %20 FC of soil water	38.80	23.8	49.5	25.7	4.47	11.52
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	0.136	0.050	0.275	0.225	0.43	31.62
آزمایش آبیاری نرمال در جمعیت Cebad Capa×Susptrit Normal experiment experiment in population Cebad Capa×Susptrit						
محتوای نسبی آب برگ (درصد) Leaf relative water content (%)	87.93	79.1	98.27	19.17	4.04	4.6
محتوای کلروفیل Chlorophyll content	34.53	22	46.5	24.5	4.47	12.96
دمای برگ (درجه سلسیوس) Leaf temperature (°C)	32.93	29.4	38.6	9.2	1.64	4.5
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	0.273	0.080	0.590	0.510	0.097	35.53
آزمایش تنش خشکی در جمعیت Cebad Capa×Susptrit Drought stress experiment in population Cebad Capa×Susptrit						
محتوای نسبی آب برگ (درصد) Leaf relative water content (%)	70.30	47.27	88.32	41.05	9.99	14.21
کلروفیل در رطوبت ۲۰ ٪ ظرفیت زراعی Chlorophyll in %20 FC of soil water	33.64	22	41.4	19.40	3.97	11.8
دمای برگ (درجه سلسیوس) Leaf temperature (°C)	34.83	31.6	39.8	8.20	1.58	4.54
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	0.159	0.038	0.3	0.262	0.056	35.22

جدول ۲- تجزیه واریانس مرکب صفات مورد مطالعه در جمعیت Vada×Susptrit

Table 2. Combined analysis of variance for the traits studied in population Vada×Susptrit

منابع تغییرات Source of variations	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares		
		محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	محتوای کلروفیل Chlorophyll content	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight
محیط Experiment (E)	1	22652.96**	431.84**	1.34**
تکرار درون محیط Replication / R	2	60.53	38.56	0.046
ژنوتیپ Genotype (G)	111	169.79**	44.68**	0.011**
ژنوتیپ × محیط G×E	111	119.63**	21.46**	0.005**
خطای آزمایشی Error	222	17.92	6.52	0.004

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪. **: Significant at 1% probability level.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات در جمعیت Cebad Capa×Susptrit

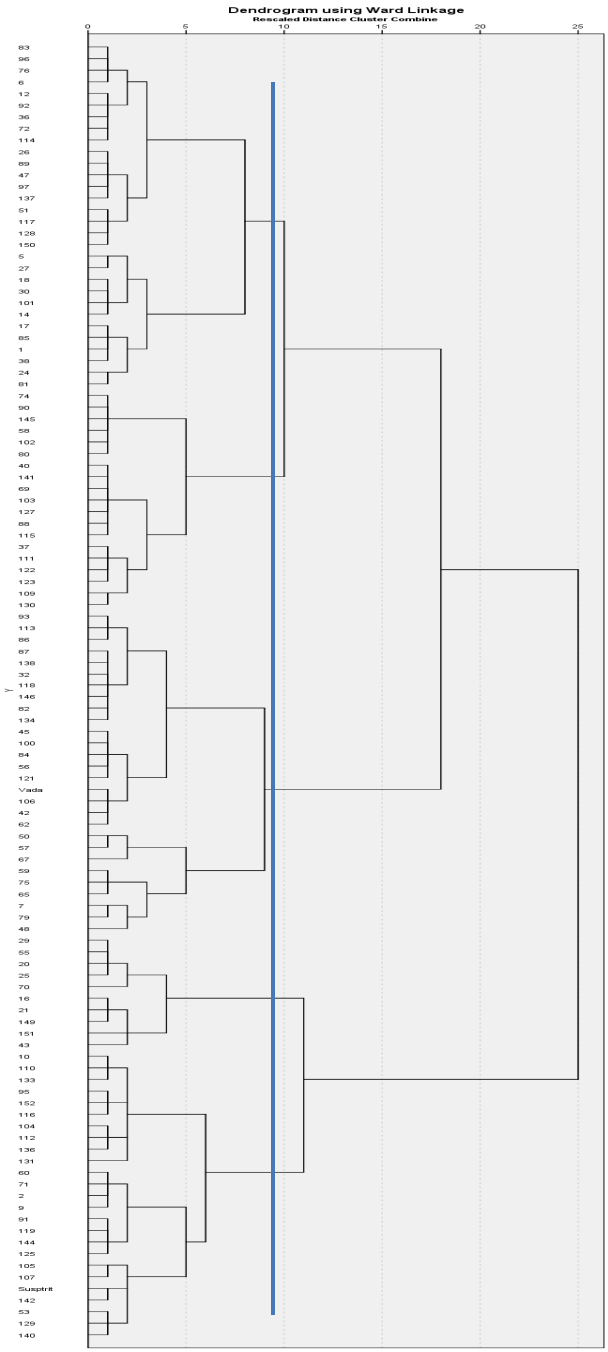
Table 3. Results of compound ANOVA of traits in population Cebad Capa×Susptrit

منابع تغییرات Source of variations	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	محتوای کلروفیل Chlorophyll content	دمای برگ Leaf temperature	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight
محیط Experiment (E)	1	26610.14**	95.01**	310.17**	1.103**
تکرار درون محیط Replication / E	2	208.91	16.98	11.59	0.019
ژنوتیپ Genotype (G)	88	89.41**	45.41**	3.89**	0.013**
ژنوتیپ × محیط G×E	88	75.66**	17.53**	3.30**	0.006**
خطای آزمایشی Error	176	31.95	4.32	1.50	0.003

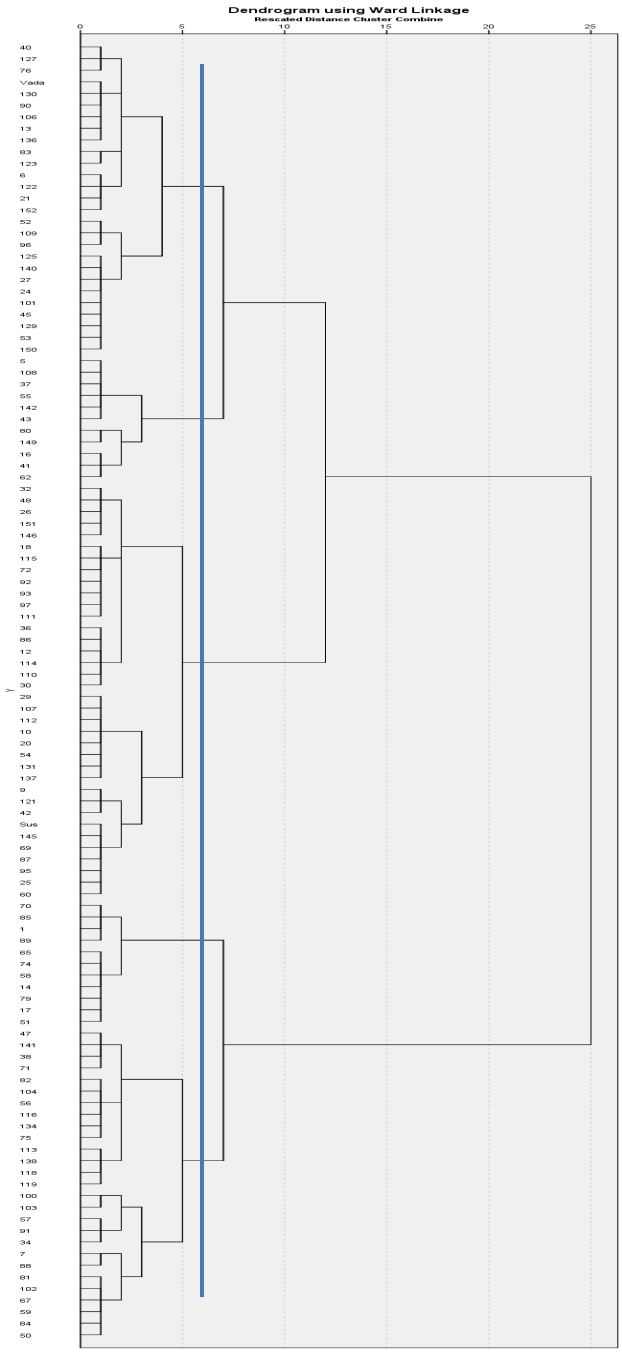
**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪. **: Significant at 1% probability level.

بر اساس دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای در آزمایش تنش خشکی در جمعیت V×S، ژنوتیپ‌ها در ۵ خوشه مجزا گروه‌بندی شدند (شکل ۱- b). تعیین محل برش دندروگرام بر اساس نتایج تجزیه تابع تشخیص کانونیک و آماره ویلکس لامبدا صورت گرفت که این آماره هم در آزمایش آبیاری نرمال و هم در تنش خشکی برای هر سه تابع تشخیص شناسایی شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱۱). ۲۴ درصد از ژنوتیپ‌ها در خوشه اول به‌همراه والد Vada، ۱۰ درصد در خوشه دوم، ۳۲ درصد در خوشه سوم به‌همراه والد Susptrit، ۱۰ درصد در خوشه چهارم و ۲۴ درصد از آن‌ها نیز در خوشه پنجم واقع شدند (جدول ۴). بر اساس مقایسه میانگین گروه‌ها، خوشه اول فقط از نظر محتوای نسبی آب برگ بالاتر از میانگین کل و سایر گروه‌ها بود و از لحاظ سایر صفات، مقادیری کمتر از میانگین کل داشت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که اعضای این خوشه، به‌همراه والد Vada، از لحاظ تحمل به خشکی، نیمه‌حساس بودند. اعضای خوشه دوم نیز فقط از نظر وزن خشک اندام هوایی دارای مقادیر بالاتری از میانگین کل بودند.

(a)



(b)



شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های جمعیت Vada×Susptrit تحت شرایط آبیاری معمول (a) و تنش خشکی (b)

Figure 1. Dendrograms of cluster analysis of the Vada×Susptrit lines under normal irrigation (a) and drought stress (b) conditions

بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای، خوشه سوم از نظر محتوای نسبی آب برگ دارای میانگین بالاتر از میانگین کل و سایر گروه‌ها بوده و از لحاظ محتوای کلروفیل در هر سه شرایط رطوبتی، بالاتر از میانگین کل و از نظر وزن خشک اندام هوایی نیز پایین‌تر از میانگین کل بود (جدول ۴). در نتیجه می‌توان اظهار نمود که ژنوتیپ‌های این خوشه، به‌همراه والد Susptrit، متحمل‌ترین به تنش‌خشکی بودند. خوشه چهارم، دارای محتوای کلروفیل در رطوبت ۲۰ درصد ظرفیت زراعی بالاتر از میانگین کل و دارای بالاترین میانگین وزن خشک اندام هوایی بود. اعضای گروه پنجم، از نظر محتوای نسبی آب برگ، پایین‌تر از میانگین کل بوده و از نظر محتوای کلروفیل در هر سه شرایط رطوبتی دارای بالاترین میانگین و از لحاظ وزن خشک اندام هوایی، مقداری بالاتر از میانگین کل را به خود اختصاص داد. با توجه به جدول ۵، بیشترین فاصله ماهالانوبیس بین گروه‌های ۲ و ۵ به‌دست آمد که با نتایج مقایسه میانگین گروه‌ها مطابقت داشت. همچنین فاصله بین گروه‌های ۱ و ۵ نیز بالا بود.

جدول ۴- میانگین خوشه‌ها و نتایج مقایسه میانگین بین آن‌ها برای صفات مورد مطالعه در جمعیت Vada×Susptrit تحت دو شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی

Table 4. Means of clusters and means comparisons among them for the studied traits in population Vada×Susptrit under normal and drought stress conditions

صفت Trait	خوشه اول Cluster 1	خوشه دوم Cluster 2	خوشه سوم Cluster 3	خوشه چهارم Cluster 4	خوشه پنجم Cluster 5	میانگین کل Grand Mean
	شرایط آبیاری نرمال Normal irrigation condition					
محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	89.29^{a}	90.42^{a}	81.93^{c}	86.20^{b}	90.38^{a}	87.61
محتوای کلروفیل Chlorophyll content	35.41^{b}	40.22^{a}	38.74^{a}	29.55^{c}	36.64^{b}	36.81
وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	0.296^{a}	0.292^{a}	0.270^{a}	0.174^{b}	0.151^{b}	0.246
	شرایط تنش خشکی Drought stress condition					
صفت Trait	خوشه اول Cluster 1	خوشه دوم Cluster 2	خوشه سوم Cluster 3	خوشه چهارم Cluster 4	خوشه پنجم Cluster 5	میانگین کل Tatal mean
محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	79.77^{a}	70.93^{b}	80.07^{a}	57.28^{d}	65.22^{c}	73.28
کلروفیل برگ در رطوبت ۵۰٪ ظرفیت زراعی Chlorophyll in %50 FC of soil water	35.40^{d}	37.45^{bc}	39.60^{b}	38.68^{b}	42.74^{a}	39.04
کلروفیل برگ در رطوبت ۳۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll in %30 FC of soil water	35.40^{c}	33.07^{d}	38.24^{b}	37.55^{b}	41.01^{a}	37.65
کلروفیل برگ در رطوبت ۲۰٪ ظرفیت زراعی Chlorophyll in %20 FC of soil water	34.81^{c}	34.50^{c}	39.14^{b}	41.72^{a}	42.91^{a}	38.80
وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	0.103^{e}	0.171^{b}	0.126^{d}	0.191^{a}	0.149^{c}	0.136

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر سطر، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means followed by the same letters in each row are not significantly different at 5% probability level.

جدول ۵- فاصله ماهالانوبیس بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت Vada×Susptrit تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی

Table 5. Mohalanobis distances among the groupes from cluster analysis of the Vada×Susptrit under normal and drought stress conditions

	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4	Cluster 5
شرایط آبیاری نرمال Normal irrigation condition					
Cluster 1	0				
Cluster 2	3.80**	0			
Cluster 3	6.55**	7.53**	0		
Cluster 4	11.83**	24.91**	15.89**	0	
Cluster 5	7.60**	8.61**	10.25**	10.16**	0
شرایط تنش خشکی Drought stress condition					
Cluster 1	0				
Cluster 2	8.91**	0			
Cluster 3	7.72**	13.47**	0		
Cluster 4	22.47**	12.36**	15.74**	0	
Cluster 5	26.74**	26.75**	8.44**	11.28**	0

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪ . **: Significant at 1% probability level.

تجزیه خوشه‌ای لاین‌های جمعیت CC×S تحت شرایط آبیاری نرمال، لاین‌های این جمعیت را در چهار خوشه قرار داد (شکل ۲- a). در خوشه اول ۳۷ درصد، در خوشه دوم ۹ درصد به‌همراه والدCebada Capa ، در خوشه سوم ۲۳ درصد به‌همراه والد Susptrit و در خوشه چهارم ۳۱ درصد از ژنوتیپ‌ها گروه‌بندی شدند. مقایسه میانگین گروه‌ها (جدول ۶) نشان داد که گروه اول از لحاظ محتوای نسبی آب برگ دارای مقداری متوسط، محتوای کلروفیل مقداری بالاتر از میانگین کل و از نظر سایر صفات، مقادیری پایین‌تر از میانگین کل را به خود اختصاص داد. اعضای گروه دوم، از لحاظ صفات محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل و وزن خشک اندام هوایی دارای بالاترین میانگین بودند. گروه سوم از لحاظ محتوای نسبی آب برگ، متوسط بوده و از لحاظ محتوای کلروفیل و وزن خشک اندام هوایی، پایین‌ترین از میانگین و از نظر دمای سطح برگ بالاترین میانگین را دارا بود. گروه چهارم از لحاظ محتوای نسبی آب برگ و محتوای کلروفیل برگ، کمترین میانگین را داشت، ولی از نظر وزن خشک اندام‌هوایی بالاتر از میانگین کل بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۶)، گروه دوم از لحاظ کلیه صفات، بالاترین میانگین را به خود اختصاص داد و گروه‌های اول و سوم از لحاظ صفات اندازه‌گیری شده کمترین مقدار و یا در حد متوسط بودند که با نتایج فاصله ماهالانوبیس که بیشترین فاصله را بین گروه‌های ۱ و ۲ و سپس ۲ و ۳ نشان داد، مطابقت دارد (جدول ۷). همچنین با توجه به اینکه دو والد Cebada Capa و Susptrit به ترتیب در گروه‌های ۲ و ۳ واقع شده‌اند، دارای اختلاف بالایی هستند و می‌توان از جمعیت حاضر به کمک مارکرهای مولکولی جهت نقشه‌یابی مکان‌های ژنی صفات اندازه‌گیری شده استفاده کرد.

تجزیه خوشه‌ای لاین‌های جمعیت CC×S تحت شرایط تنش خشکی، ژنوتیپ‌های این جمعیت را در چهار گروه قرار داد (شکل ۲- b). در خوشه اول، ۲۹ درصد از ژنوتیپ‌ها، ۲۱ درصد در خوشه دوم به‌همراه والد Susptrit ، ۲۷ درصد در خوشه سوم و ۲۳ درصد در خوشه چهارم به‌همراه والد Cebada Capa گروه‌بندی شدند. بر اساس نتایج مقایسه میانگین گروه‌ها (جدول ۶)، گروه اول، از لحاظ محتوای نسبی آب برگ دارای مقادیر بالاتر از میانگین کل و از لحاظ محتوای کلروفیل در هر سه شرایط رطوبتی دارای میانگینی نزدیک به میانگین کل بود. با توجه به این نتایج، این گروه نیمه‌متحمل به خشکی است. گروه دوم از لحاظ کلیه صفات، میانگینی بالاتر از میانگین کل را به خود اختصاص داد و می‌توان گفت که با در نظر گرفتن کلیه صفات، متحمل‌ترین

گروه به تنش خشکی بوده و والد Susptrit نیز در این گروه واقع شده است. اعضای گروه سوم دارای بالاترین میانگین از نظر وزن خشک اندام‌هوایی بودند، از لحاظ دمای سطح برگ، مقادیر متوسط و از لحاظ سایر صفات میانگینی کمتر از میانگین کل را دارا بودند و می‌توان نتیجه گرفت که اعضای این گروه نیمه‌حساس به خشکی هستند. گروه چهارم فقط از لحاظ دمای سطح برگ دارای بالاترین میانگین بود، ولی از لحاظ سایر صفات کمترین میانگین را به خود اختصاص داد و بنابراین اعضای گروه چهارم به‌همراه والد Cebada Capa، حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی بودند. نتایج فاصله ماهالانوبیس (جدول ۷)، بیشترین فاصله را بین گروه ۲ و ۴ و سپس بین ۲ و ۳ نشان داد که با نتایج مقایسه میانگین گروه‌ها مطابقت داشت. همچنین با توجه به اینکه دو والد Susptrit و Cebada Capa به‌ترتیب در گروه‌های ۲ و ۴ واقع شده‌اند، در مجموع کل صفات دارای اختلاف بالایی هستند و می‌توان از جمعیت موجود در جهت فعالیت‌های اصلاحی برای تحمل یا مقاومت به خشکی، از جمله مکان‌یابی ژن‌های مرتبط با تحمل به خشکی استفاده کرد.

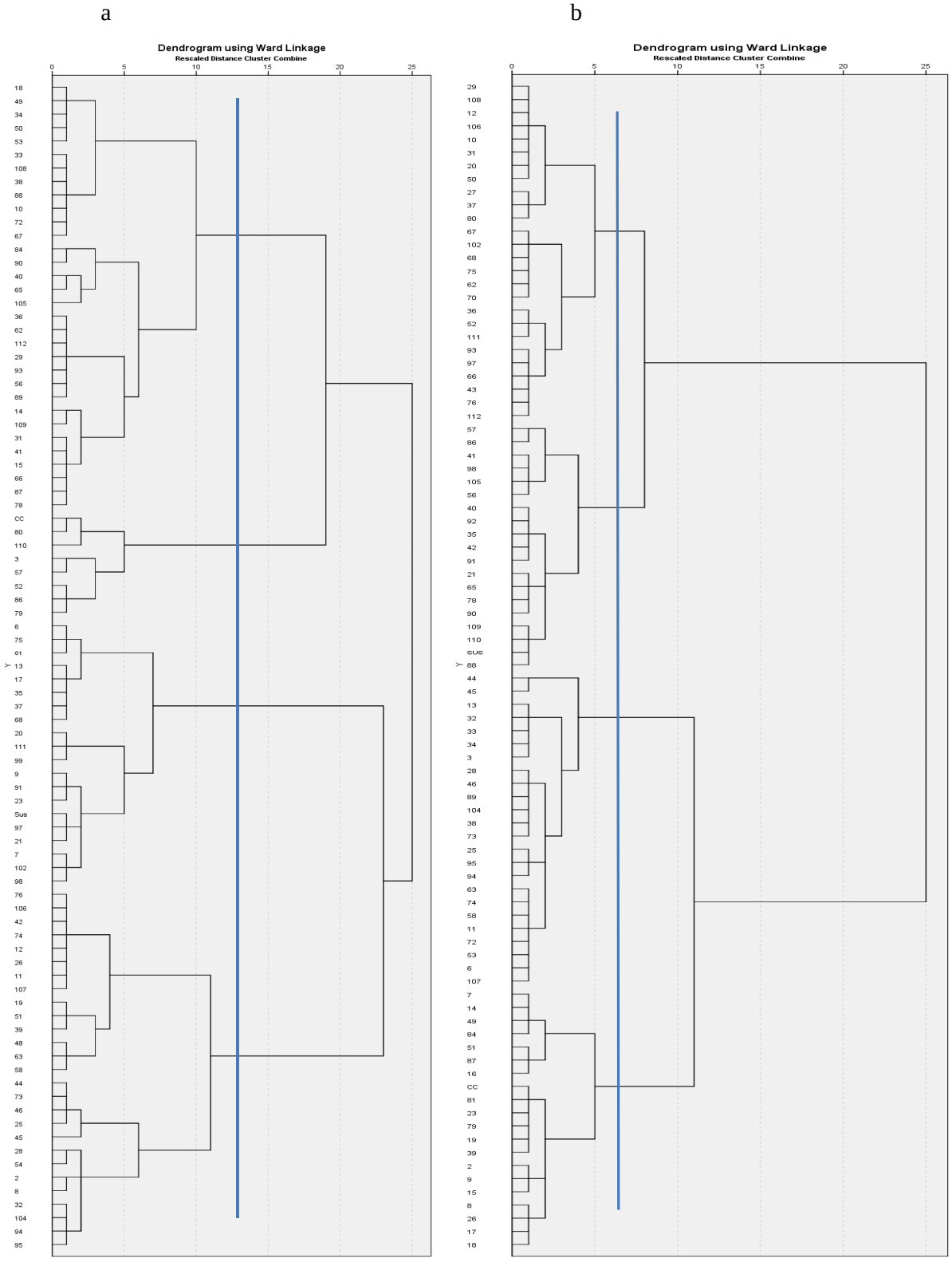
جدول ۶- میانگین خوشه‌ها و نتایج مقایسه میانگین بین آن‌ها برای صفات مورد مطالعه در جمعیت Cebad Capa×Susptrit تحت دو شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی

Table 6. Means of clusters and means comparisons among them for the studied traits in population Cebad Capa×Susptrit under normal and drought stress conditions

صفت Trait	شرایط آبیاری نرمال Normal irrigation condition				
	خوشه اول Cluster 1	خوشه دوم Cluster 2	خوشه سوم Cluster 3	خوشه چهارم Cluster 4	میانگین کل Grand Mean
محتوای نسبی آب برگ (درصد) Leaf relative water content	87.81^{b}	91.34^{a}	88.15^{b}	86.90^{b}	87.93
محتوای کلروفیل Chlorophyll content	36.35^{b}	39.99^{a}	33.63^{c}	31.43^{c}	34.53
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	0.237^{b}	0.365^{a}	0.202^{b}	0.341^{a}	0.273
دمای سطح برگ (درجه سلسیوس) Leaf temperature (°C)	31.80^{d}	33.73^{b}	34.41^{a}	32.93^{c}	32.93
صفت Trait	شرایط تنش خشکی Drought stress condition				
	خوشه اول Cluster 1	خوشه دوم Cluster 2	خوشه سوم Cluster 3	خوشه چهارم Cluster 4	میانگین کل Grand Mean
محتوای نسبی آب برگ (درصد) Leaf relative water content	73.10^{a}	72.61^{a}	66.63^{bc}	68.90^{ab}	70.30
کلروفیل برگ در رطوبت ۵۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll in %50 FC of soil water	34.97^{b}	39.18^{a}	32.97^{c}	29.60^{d}	34.12
کلروفیل برگ در رطوبت ۳۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll in %30 FC of soil water	33.90^{b}	37.41^{a}	31.84^{c}	30.05^{d}	33.23
کلروفیل برگ در رطوبت ۲۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll in %20 FC of soil water	34.57^{b}	38.38^{a}	31.85^{c}	30.08^{d}	33.64
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم) Shoot dry weight (mg)	0.130^{c}	0.164^{b}	0.208^{a}	0.130^{c}	0.159
دمای سطح برگ (درجه سلسیوس) Leaf temperature (°C)	34.58^{bc}	35.11^{ab}	34.07^{cd}	35.87^{a}	34.83

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر سطر، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

Means followed by the same letters in each row are not significantly different at 5% probability level.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های Cebad Capa×Susptrit در شرایط نرمال (a) و تنش خشکی (b)

Figure 2. Dendrograms of cluster analysis of the Cebad Capa×Susptrit lines under normal (a) and drought stress (b) conditions

جدول ۷- فاصله ماهالانوبیس بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای جمعیت Cebad Capa×Susptrit در شرایط نرمال و تنش خشکی

Table 7. Mohalanobis distances among the groupes from cluster analysis of the Cebad Capa×Susptrit under normal and drought stress conditions

شرایط آبیاری نرمال
Normal irrigation condition

	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4
Cluster 1	0			
Cluster 2	14.92**	0		
Cluster 3	9.33**	14.02**	0	
Cluster 4	8.52**	11.5**	9.85**	0

شرایط تنش خشکی
Drought stress condition

	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4
Cluster 1	0			
Cluster 2	7.20**	0		
Cluster 3	8.22**	20.27**	0	
Cluster 4	13.48**	37.58**	11.30**	0

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪. **: Significant at 1% probability level.

نتایج تجزیه تابع تشخیص

برای بررسی صحت گروه‌بندی‌های انجام شده با روش تجزیه خوشه‌ای، از تجزیه تابع تشخیص کانونیک استفاده شد که نتایج مربوط به دو شرایط جمعیت V×S در جدول ۸ و نتایج مربوط به دو شرایط جمعیت CC×S در جدول ۹ ارایه شده است. میانگین موفقیت تابع تشخیص در شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی در جمعیت V×S به‌ترتیب ۸۹/۴ درصد و ۹۴/۸ درصد و در جمعیت CC×S به‌ترتیب ۹۷/۵ درصد و ۹۳/۳ درصد بود. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهند، میزان موفقیت در هر چهار مورد بالا بود که حاکی از موفقیت تجزیه خوشه‌ای در گروه‌بندی مناسب لاین‌های مورد مطالعه بوده است. جینز و همکاران (Jaynes *et al.*, 2003) در تحقیقی که روی داده‌های مزرعه‌ای ذرت انجام دادند، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه را در پنج گروه دسته‌بندی کردند و با تابع تشخیص نشان دادند که ۸۰ درصد از گروه بندی انجام‌گرفته صحیح بوده است. اهری‌زاد و همکاران (Aharizad *et al.*, 2010) نیز با مطالعه لاین‌های اینبرد نوترکیب گندم تایید گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را با تجزیه تابع تشخیص کانونیک گزارش کردند. ولی‌زاده صومعه و همکاران (Valizadeh Soumeh *et al.*, 2014) با مطالعه ۳۲ ژنوتیپ برنج در شرایط خشکی از لحاظ صفات مورفولوژیک و ارتباط آن‌ها با نشانگرهای ریزماهواره نشان دادند که تجزیه تابع تشخیص به میزان ۱۰۰ درصد توانست گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای را تایید کند. سراوانی و همکاران (Saravani *et al.*, 2015) نیز با مطالعه ژنوتیپ‌های تست‌کراس چغندرقند برای صفات گیاهچه‌ای و مزرعه‌ای تحت تنش خشکی، گزارش کردند که نتایج تجزیه تابع تشخیص، صحت گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای را در هر دو شرایط تایید کرد. تجزیه تابع تشخیص برای آزمون صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط محققین دیگر نیز بررسی شده است (Sabouri *et al.*, 2008; Rabiei and Rahimi, 2009). مقادیر ضرایب توابع تشخیص استاندارد شده برای هر یک از صفات در دو آزمایش مربوط به هر دو جمعیت در جدول‌های ۱۲ و ۱۳ آمده است. در همه تجزیه‌ها، دو تابع اول دارای مقادیر ویژه بالاتر از یک بودند و برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. در جمعیت V×S، دو تابع اول و دوم با مقادیر ویژه بالاتر از یک، در مجموع ۷۸/۲ و ۹۶/۴ درصد از تغییرات کل را به‌ترتیب تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی توجیه کردند. در جمعیت CC×S نیز دو تابع اول و دوم با مقادیر ویژه بالاتر از یک، به‌ترتیب ۷۸/۸ درصد و۹۰ درصد از واریانس کل را تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی توجیه کردند.

جدول ۸- بررسی میزان موفقیت تجزیه خوشه‌ای در گروه‌بندی جمعیت Vada×Susptrit با استفاده از تجزیه تابع تشخیص تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی

Table 8. Evaluating the success rate of cluster analysis for grouping Vada×Susptrit population using discrimnant function analysis under normal and drought stress conditions

شرایط آبیاری نرمال
Normal irrigation condition

گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای Grouping of cluster analysis		گروه‌بندی حاصل از تجزیه تابع تشخیص Grouping of discrimnant function analysis					
		1	2	3	4	5	Total
تعداد ژنوتیپ‌ها Number of genotypes	1	26	2	0	0	2	30
	2	1	18	0	0	0	19
	3	0	2	24	1	1	28
	4	0	0	0	10	0	10
	5	1	2	0	2	20	25
درصد موفقیت Success rate (%)	1	86.7	6.7	0	0	6.7	100
	2	5.3	94.7	0	0	0	100
	3	0	7.1	85.7	3.6	3.6	100
	4	0	0	0	100	0	100
	5	4	8	0	8	80	100
متوسط میزان موفقیت (درصد) Mean of success (%)		89.4					

شرایط تنش خشکی
Drought stress condition

گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای Grouping of cluster analysis		گروه‌بندی حاصل از تجزیه تابع تشخیص Grouping of discrimnant function analysis					
		1	2	3	4	5	Total
تعداد ژنوتیپ‌ها Number of genotypes	1	25	0	0	2	0	27
	2	0	11	0	0	0	11
	3	1	1	32	1	1	36
	4	0	0	0	11	0	11
	5	0	0	2	0	25	27
درصد موفقیت Success rate (%)	1	92.26	0	0	7.4	0	100
	2	0	100	0	0	0	100
	3	2.9	2.9	88.9	2.9	2.9	100
	4	0	0	0	100	0	100
	5	0	0	7.4	0	92.6	100
متوسط میزان موفقیت (درصد) Mean of success (%)		94.8					

جدول ۹- بررسی میزان موفقیت تجزیه خوشه‌ای در گروه‌بندی جمعیت Cebad Capa×Susptrit با استفاده از تجزیه تابع تشخیص تحت شرایط نرمال و تنش خشکی

Table 9. Evaluating the success rate of cluster analysis for grouping Cebad Capa×Susptrit population using discrimnant function analysis under normal and drought stress conditions

شرایط آبیاری نرمال
Normal irrigation condition

گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای Grouping of cluster analysis		گروه‌بندی حاصل از تجزیه تابع تشخیص Grouping of discrimnant function analysis				
		1	2	3	4	Total
تعداد ژنوتیپ‌ها Number of genotypes	1	30	0	1	1	32
	2	0	8	0	0	8
	3	0	0	20	0	20
	4	1	0	0	26	27
درصد موفقیت Success rate (%)	1	93.8	0	3.1	3.1	100
	2	0	100	0	0	100
	3	0	0	100	0	100
	4	3.7	0	0	96.3	100
متوسط میزان موفقیت (درصد) Mean of success (%)		97.5				

شرایط تنش خشکی
Drought stress condition

گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای Grouping of cluster analysis		گروه‌بندی حاصل از تجزیه تابع تشخیص Grouping of discrimnant function analysis				
		1	2	3	4	Total
تعداد ژنوتیپ‌ها Number of genotypes	1	24	1	0	1	26
	2	0	19	0	0	19
	3	0	0	23	1	24
	4	1	0	2	17	20
درصد موفقیت Success rate (%)	1	92.3	3.8	0	3.8	100
	2	0	100	0	0	100
	3	0	0	95.8	4.2	100
	4	5	0	10	85	100
متوسط میزان موفقیت (درصد) Mean of success (%)		93.3				

ضرایب تابع تشخیص استاندارد شده، در واقع همبستگی خطی ساده بین متغیرهای اصلی و متغیرهای کانونیکی را نشان داده و منعکس‌کننده واریانس مشترکی است که متغیرهای اندازه‌گیری شده با متغیرهای کانونیک دارند و می‌تواند در ارزیابی توجیه نسبی هر متغیر در هر معادله کانونیک مورد تفسیر قرارگیرد (Cruz-castillo *et al.*, 1994). رنشر (Rencher, 1992) نیز توصیه می‌کند که برای تفسیر توابع تشخیص از ضرایب تشخیص استانداردشده استفاده شود. این ضرایب تاثیرات هر صفت را پس از حذف اثرات سایر صفات در توابع تشخیص به‌دست می‌آورد و در حقیقت اثرات خالص هر صفت را در تابع تشخیص محاسبه می‌کند. براساس مقادیر ضرایب توابع تشخیص (جدول ۱۲)، در آزمایش آبیاری نرمال جمعیت V×S، هر سه صفت محتوای نسبی آب برگ، محتوای کلروفیل و وزن خشک اندام هوایی، ضرایب بالایی با تابع اول داشتند و در تابع دوم نیز محتوای نسبی آب برگ دارای ضریب بالایی بود که این نتایج نشان می‌دهد که تجزیه تابع تشخیص به خوبی توانسته‌است با استفاده از تنوع کلیه صفات، ژنوتیپ‌ها را گروه‌بندی نماید.

جدول ۱۰- آزمون ویلکس لامبدا جهت بررسی گروه‌بندی لاین‌ها در جمعیت Vada×Susptrit در شرایط نرمال و تنش خشکی
Table 10. Test of Wilk's lambda for grouping lines in population Vada×Susptrit under normal and drought stress conditions

تابع تشخیص Discriminant function	آماره ویلکس لامبدا Wilks lambda statistics	کای اسکوئر Chi-square	درجه آزادی df	سطح احتمال معنی‌دار Significance level
شرایط آبیاری نرمال Normal irrigation condition				
1	0.095	251.326	12	0.0001
2	0.262	143.414	6	0.0001
3	0.556	62.741	2	0.001
شرایط تنش خشکی Drought stress condition				
1	0.096	249.86	15	0.0001
2	0.455	83.839	8	0.0001
3	0.913	9.666	3	0.002

جدول ۱۱- آزمون ویلکس لامبدا جهت بررسی گروه‌بندی لاین‌ها در جمعیت Cebad Capa×Susptrit در شرایط نرمال و تنش خشکی
Table 11. Test of Wilk's lambda for grouping lines in population Cebad Capa×Susptrit under normal and drought stress conditions

تابع تشخیص Discriminant function	آماره ویلکس لامبدا Wilks lambda statistics	کای اسکوئر Chi-square	درجه آزادی df	سطح احتمال معنی‌دار Significance level
شرایط آبیاری نرمال Normal irrigation condition				
1	0.091	196.334	12	0.0001
2	0.237	117.912	6	0.0001
3	0.547	49.54	2	0.0001
شرایط تنش خشکی Drought stress condition				
1	0.073	217.064	18	0.0001
2	0.410	74.051	10	0.0001
3	0.893	9.362	4	0.003

در آزمایش تنش خشکی در این جمعیت، محتوای کلروفیل در هر سه شرایط رطوبتی ۵۰، ۳۰ و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی، دارای ضریب بالا در تابع اول و صفات محتوای نسبی آب برگ و وزن خشک اندام هوایی دارای ضرایب بالای در تابع دوم بودند. با توجه به توجیه بالای واریانس کل توسط توابع اول و دوم در هر دو آزمایش در این جمعیت، از این توابع برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شد. نتایج این گروه‌بندی در شکل ۳ نشان داده شده است. تحت شرایط آبیاری نرمال، صفات وزن خشک اندام هوایی و دمای برگ دارای ضرایب بالا در تابع اول بودند و در مورد تابع دوم نیز وزن خشک اندام هوایی دارای ضریب منفی بالا و دمای برگ دارای ضریب مثبت بالا بود (جدول ۱۳). در شرایط تنش خشکی در این جمعیت نیز محتوای کلروفیل در هر سه شرایط رطوبتی ۵۰، ۳۰ و ۲۰ درصد ظرفیت زراعی دارای ضرایب بالایی در تابع اول بود که با نتایج شرایط تنش در جمعیت V×S مشابهت داشت. در تابع دوم، وزن خشک اندام هوایی دارای ضریب مثبت بالا و دمای برگ دارای ضریب منفی بالا بود. با توجه به توجیه درصد قابل توجه‌ای از واریانس در هر دو شرایط نرمال و تنش، از این توابع در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها استفاده شد (شکل ۴). در هر دو شرایط، ژنوتیپ‌ها در چهار دسته گروه‌بندی شدند.

جدول ۱۲- توابع تشخیص کانونی، مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده توسط هر تابع در جمعیت Vada×Susptrit تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی

Table 12. Canonical discrimnant functions, eigen values and the variance explained by each function in Vada×Susptrit population under normal and drought stress conditions

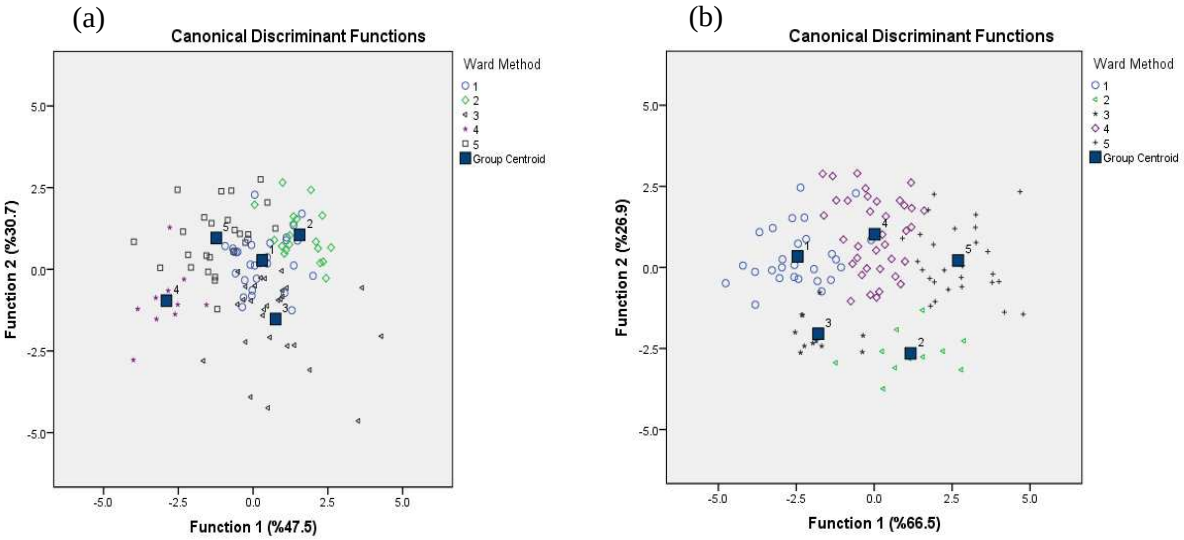
شرایط آبیاری نرمال Normal irrigation condition			
صفت Trait	تابع اول Function 1	تابع دوم Function 2	تابع سوم Function 3
محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	0.470	0.982	0.238
محتوای کلروفیل Chlorophyll content	0.691	0.238	-0.692
وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	0.699	-0.095	0.718
درصد واریانس کل Total variance (%)	47.5	30.7	21.8
درصد واریانس تجمعی Cumulative variance (%)	47.5	78.2	100
مقدار ویژه Eigen value	1.74	1.13	0.80

شرایط تنش خشکی Drought stress condition				
صفت Trait	تابع اول Function 1	تابع دوم Function 2	تابع سوم Function 3	تابع چهارم Function 4
محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	-0.285	0.618	0.616	0.483
محتوای کلروفیل برگ در رطوبت ۵۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll content in %50 FC of soil water	0.559	0.316	0.606	-0.485
محتوای کلروفیل برگ در رطوبت ۳۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll content in %30 FC of soil water	0.469	0.364	-0.438	0.107
محتوای کلروفیل برگ در رطوبت ۲۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll content in %20 FC of soil water	0.421	0.059	-0.133	0.764
وزن خشک اندام هوایی (میلی‌گرم) Shoot dry weight	0.108	0.662	0.566	0.349
درصد واریانس کل Total variance (%)	66.5	26.9	5.1	1.5
درصد واریانس تجمعی Cumulative variance (%)	66.5	93.4	98.5	100
مقدار ویژه Eigen value	3.823	1.545	0.296	0.084

جدول ۱۳- توابع تشخیص کانونی به‌همراه مقادیر ویژه و درصد واریانس توجیه شده توسط هر تابع در جمعیت Cebad Capa×Susptrit تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی

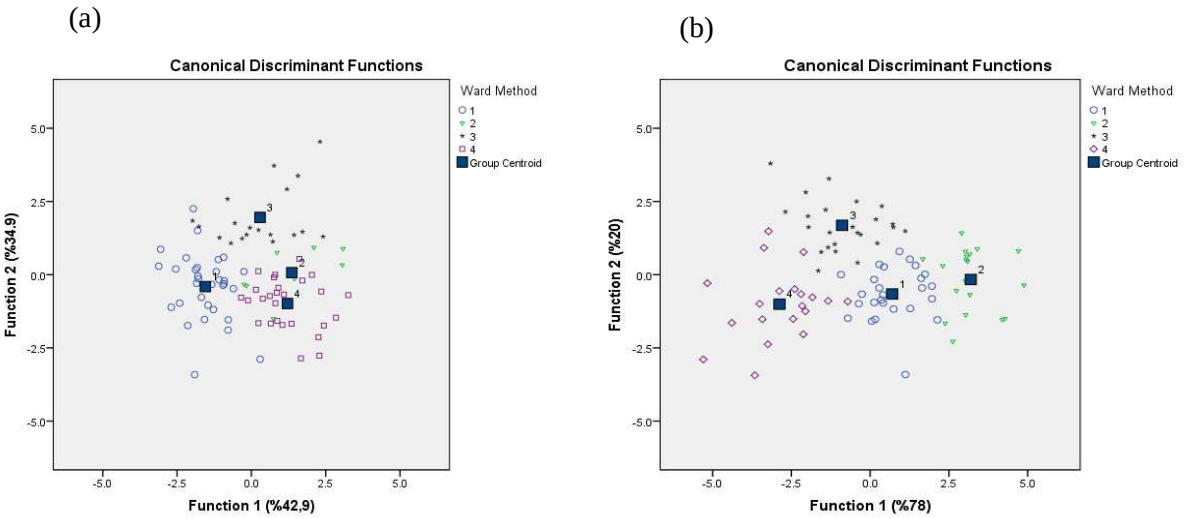
Table 13. Canonical discrimnant functions, eigen values and the variance explained by each function in Cebad Capa×Susptrit population under normal and drought stress conditions

شرایط آبیاری نرمال Normal irrigation condition			
صفات Traits	تابع اول Function 1	تابع دوم Function 2	تابع سوم Function 3
محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	0.234	-0.034	0.603
محتوای کلروفیل Chlorophyll content	-0.419	0.265	0.813
وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	0.785	-0.652	0.322
دمای سطح برگ Leaf temperature	0.649	0.745	0.090
درصد واریانس کل Total variance (%)	42.9	34.9	22.2
درصد واریانس تجمعی Cumulative variance (%)	42.9	78.8	100
مقدار ویژه Eigen value	1.60	1.30	0.83
شرایط تنش خشکی Drought stress condition			
صفات Traits	تابع اول Function 1	تابع دوم Function 2	تابع سوم Function 3
محتوای نسبی آب برگ Leaf relative water content	0.242	-0.124	-0.148
محتوای کلروفیل برگ در رطوبت ۵۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll content in %50 FC of soil water	0.550	0.044	-0.066
محتوای کلروفیل برگ در رطوبت ۳۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll content in %30 FC of soil water	0.420	-0.151	0.099
محتوای کلروفیل برگ در رطوبت ۲۰ درصد ظرفیت زراعی Chlorophyll content in %20 FC of soil water	0.518	0.030	0.062
وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	0.004	0.913	0.370
دمای سطح برگ Leaf temperature	-0.304	-0.528	0.811
درصد واریانس کل Total variance (%)	78	20	2
درصد واریانس تجمعی Cumulative variance (%)	78	90	100
مقدار ویژه Eigen value	4.602	1.180	0.119



شکل ۳- گروه‌بندی لاین‌های جمعیت Vada×Susptrit بر اساس توابع تشخیص اول و دوم تحت شرایط آبیاری نرمال (a) و شرایط تنش خشکی (b).

Figure 3. Grouping the lines of Vada×Susptrit population according to the first and second discriminant functions under noraml irrigation (a) and drought stress conditions (b).



شکل ۴- گروه‌بندی لاین‌های جمعیت Cebad Capa×Susptrit بر اساس توابع تشخیص اول و دوم تحت شرایط آبیاری نرمال (a) و شرایط تنش خشکی (b).

Figure 4. Grouping the lines of Cebad Capa×Susptrit population according to the first and second discriminant functions under noraml irrigation (a) and drought stress conditions (b).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد که تنوع بسیار زیاد و قابل توجه‌ای از لحاظ کلیه صفات اندازه‌گیری‌شده بین لاین‌های جو در هر دو جمعیت Vada×Susptrit و Cebad Capa×Susptrit تحت هر دو شرایط بدون تنش (آبیاری نرمال) و تنش خشکی وجود داشت. تشخیص تنوع صفات بین ژنوتیپ‌های گیاهی، این امکان را به به‌نژادگر می‌دهد که روی صفات مشخصی که دارای تنوع قابل ملاحظه‌ای در جمعیت اصلاحی هستند، سرمایه‌گذاری و تمرکز کند و میزان موفقیت خود را در اصلاح جمعیت‌ها به‌طور آگاهانه افزایش دهد. نتایج تجزیه و تحلیل‌های چندمتغیره مانند تجزیه خوشه‌ای و تجزیه تابع تشخیص نیز به‌خوبی توانستند این تنوع را نشان دهند. از تنوع موجود در هر دو جمعیت می‌توان به‌کمک نشانگرهای مولکولی جهت مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمی در هر دو شرایط نرمال و تنش استفاده کرد.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان و نیز ایستگاه تحقیقات زیتون طارم به‌خاطر تامین امکانات گلخانه‌ای و آزمایشگاهی لازم جهت اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Aharizad, S., Ahmadi, V. and Mohammadi, A. 2010. Response of bread wheat recombinant inbred lines to drought stress and their grouping. **Journal of Crop and Weed Ecophysiology** 4 (3): 67-78. (In Persian with English Abstract).

Andere, K.B., Hammer G. L. and Henzell, R. G. 2000. Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry mater production and yield. **Crop Science** 40: 1037-1048.

Araus, J. L., Slafer, G. A., Royo, C. and Dolores, S. M. 2008. Breeding for yield potential and stress adaptation in cereals. **Critical Reviews in Plant Science** 27: 377-412.

Barr, H. D. and Weatherley, P. E. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. **Australian Journal of Biology Science** 15: 413-428.

Bouslama, M. and Schapaugh, W. T. 1984. Stress tolerance in soybean. Part 1: Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. **Crop Science** 24: 933-937.

Chen, G., Krugman, T., Fahima, T., Chen, K., Hu, Y., Roder, M., Nevo, E. and Koral, A. 2010. Chromosomal regions controlling seedling drought resistance in Israeli wild barley, *Hordeum spontaneum* C. Koch. **Genetics Resources of Crop Evolution** 57: 85-99.

Cruz-Castillo, J. G., Ganeshanandam, S., MacKay, B. R., Lawes, G. S., Lawoko, C. R. O. and Woolley, D. J. 1994. Applications of canonical discriminant analysis in horticultural research. **Horticultural Science** 29: 1115-1119.

Dillon, W. R. and Goldstein, M. 1984. Multivariate analysis methods and applications. John Wiley and Sons, New York.

Farshadfar, E., Ghasempour, H. and Vaesi, H. 2008. Molecular aspects of drought tolerance in bread wheat. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 11 (1): 118-122. (In Persian with English Abstract).

Fisher, J. 2007. The biology of *Hordeum vulgare* L. **Journal of Office of the Gene Technology Regulator** 1: 19-25.

Good, A. and Malagan, J. L. 1993. Effects of drought stress on the water relations in *Brassica* spacies. **Canadian Journal of Plant Science** 73: 525-529.

Gosal, S. S., Wani, S. H and Khan, M. S. 2009. Biotechnology and drought tolerance. **Journal of Crop Improvement** 23 (1): 19-54.

Guertin, W. H. and Bailey, J. P. 1982. Introduction to modern factor analysis. Edward, Brothers. Inc., Michigan.

Hamam, K. A., Von Korff, M., Wang, H., Pillen, K. and Léon, J. 2005. Improving crop varieties of spring barley for drought and heat tolerance with AB-QTL-analysis. **Plant Breeding** 67: 46-52.

Jafary H, Szabo, L. J. and Niks, R. E. 2006a. Innate nonhost immunity in barley to different heterologous rust fungi is controlled by sets of resistance genes with overlapping specifcities. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 19: 1270-1279.

Jafary, H., Albertazi, G. and Niks, R. E. 2006b. Diversity of loci carrying genes for resistance of barley to heterologous rust species. In: Gullner, G. (Ed.). Proceedings of the Non-Specific and Specific Innate and Acquired Plant Resistance Symposium. August 31-September 3, 2006, Plant Protection Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary.

Jaynes, D. B., Kaspar, T. C., Colvin, T. S. and James, D. E. 2003. Cluster analysis of spatiotemporal corn yield patterns in an Iowa field. **Agronomy Journal** 95 (3): 574-586.

Jobson, J. D. 1992. Applied multivariate data analysis. Vol. H. Categorical and multivariate methods. Springer-Verlag, New York. pp: 65-86.

Kocheva, K., Lambrev, P., Georgiev, G., Goltsev, V. and Karabaliev, M. 2004. Evaluation of chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress. **Bioelectrochemistry** 63: 121-124.

Koszegi, B., Farshadfar, E., Vagujfalvi, A. and Sutka, J. 1996. Drought tolerance studies on wheat/rye disomic chromosome addition lines. **Acta Agronomica Hungarica** 44 (2): 161-166.

Ludlow, M. M. and Muchow, R. C. 1990. A critical evaluation of traits for improving crop yield in winter limited environments**. Advanced Agronomy** 43: 107-153.

Mateusz, de M., Turska-Taraska, A., Kaczmarek, Z., Glowacka, K., Swarcewicz, B. and Rorat, T. 2014. Differential physiological and molecular response of barley genotypes to water deficit. **Plant Physiology and Biochemistry** 80: 234-248.

Nguyen, V. L. 2012. Identification of traits and QTLs contributing to salt tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). Ph. D. Dissertation,Wageningen University. http://edepot.wur.nl/237754.

Rabiei, B. and Rahimi, M. 2009. Evaluation of grouping methods of canola genotypes using Fisher's linear discriminant function analysis. **Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources** 48: 519-534. (In Persian with English Abstract).

Rencher, A. C. 1992. Interpretation of canonical discriminant functions, canonical variates and principalcomponents. **American Statistic** 46: 217-225.

Riggs, T. J. 1973. The use of canonical analysis for selection within a cultivar of spring barley. **Annual Applied Biology** 74: 249-258.

Sabouri, H., Nahvi, M., Torabi, A. and Kanoni, M. 2008. Classification of rice varieties at different levels from the osmotic potential of sorbitol based on cluster analysis and fisher linear functions. Iranian Congress of Agronomy and Plant Breeding, August 28-30, Karaj, Iran. (In Persian).

Saravani, S., Sobhani, A. and Ahmadi, M. 2015. Invasigation of variation of test cross genotyps of sugar beet for seedling and field traits under drought stress. **Invironment Stresses in Crop Sciences** 8 (2): 233-247. (In Persian with English Abstract).

Seraj, R. and Sinclair,T. R. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop under drought conditions? **Plant Cell Environment** 25: 333-341.

Shafiee Khorshidi, M., Bihamta, M. R., Khialparast, F. and Naghavi, M. R. 2013. Assessment of genetic variation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes under drought condition using cluster and canonical discriminant analysis (CDA). **Journal of Crop Breeding** 4 (10): 1-16. (In Persian with English Abstract).

Toker, C., Canci H. and Yildirim, T. 2007. Evaluation of perennial wild cicer species for drought resistance. **Genetic Resources of Crop Evolution** 54: 1781-1786.

Valizadeh Soumeh, Z., Samizadeh Lahiji, H. and Rabiei, B. 2014. Assessment of morphologic and genetic diversity of rice varieties using SSR markers associated with drought tolerance characteristics. **Cereal Research** 4 (2): 81-101. (In Persian with English Abstract).

Vaylay, R. and Van Santen, E. 2002. Application of canonical discriminant analysis for the assessment of genetic variation in tall fescue. **Crop Science** 42: 534-539.

Yeater, K. M., Bollero, G. A., Bullock, D. G., Rayburn, A. L. and Rodriguez, S. 2004. Assessment of genetic variation in hairy vetch using canonical discriminant analysis. **Crop Science** 44: 185-189.

Zheng, B., Yang, L., Mao, C., Huang, Y. and Wu, P. 2008. Comparison of QTLs for rice seedling morphology under different water supply conditions. **Journal of Genetics and Genomics** 35: 473-484.

University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research
Vol. 7, No. 3, Automn 2017 (399-420)

Assessing the genetic diversity of two populations of barley under normal and drought stress conditions in seedlling stage using multivariate analyses

Arash Mohammadi[1], Omid Sofalian[2*], Hossein Jafari[3], Ali Asghari[4] and Farid Shekari[5]

Received: July 31, 2016 Accepted: June 8, 2017

Abstract

To assess the genetic diversity of recombinant inbred lines of barley (*Hordeum vulgare* L.) under two non-stress and drought stress conditions in seedling stage, two populations,Vada×Susptrit (V×S) with 112 RILs and Cebada Capa×Susptrit (CC×S) with 89 RILs, were studied in completely randomized design with two replication in greenhouse. The traits studied were four physiological traits including leaf relative water content, leaf chlorophyll content, shoot dry weight and leaf temprature. Under drought stress conditions, leaf chlorophyll content also measured in three soil water conditions (%50, %30 and %20 field capasity). According to cluster analysis in both populations, V×S and CC×S, the genotypes were grouped in five and four clusters under normal and drought stress conditions, respectively. Discrimnant function analysis powerfully confirmed the results of cluster analysis in two populations under both experimental conditions. In the population V×S, the first and second discriminant functions with eigen values significant and more than one justified %78.2 and %93.4 of the total variance under normal and drought stress conditions, respectively. In the population CC×S, the first and second functions with eigen values more than one also justified %78.8 and %90 of the total variations under non-stress and drought stress conditions, respectively. Additionally, grouping the studied lines in both populations under two conditions was investigated and confirmed by the Mahalanobis distance. The results of this study showed that discrimnant function analysis is a very usfull multivariate statistical method for evaluating and confirming the grouping of barley genotypes under normal and drought stress conditions. The results of current research also showed that there is a high and considerable variation in both populations under both conditions, so that these populations can be utilized for mapping quantitative trait loci related to drought tolerance in barley using molecular markers.

Keywords: Cluster analysis, Discrimnant analysis, Mahalanobis distance, Physiological traits

1. Ph. D. Student, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
2. Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
3. Research Assoc. Prof., Dept. of Plant Protection Research, Zanjan Agriculture and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Zanjan, Iran
4. Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
5. Assoc. Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
* Corresponding author: sofalian@gmail.com