



بررسی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مختلف گندم با استفاده از تجزیه و تحلیل‌های چندمتغیره

*علی آرمینیان^۱، سعیداله هوشمند^۲ و بهروز شیران^۲

^۱گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، ^۲اعضای هیات علمی، گروه

اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۰۸/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۱۲

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی و ارزیابی تنوع فنوتیپی و ژنتیکی در جمعیتی متشکل از ۹۴ لاین دبل‌هاپلوئید، والدین و ۵ رقم بومی ایرانی گندم نان (*Triticum aestivum* L.) انجام گردید. سیزده صفت زراعی و مورفولوژیک شامل عملکرد دانه در واحد سطح، شاخص برداشت، طول سنبله، تعداد دانه در سنبله، تراکم سنبلچه، وزن صد دانه، تعداد پنجه کل، تعداد پنجه بارور، تعداد پنجه نابارور، طول و عرض برگ پرچم، ارتفاع بوته و تعداد گره طی ۴ سال زراعی (۱۳۸۵-۱۳۸۸) در شرایط مزرعه در قالب طرح‌های مستطیل لاتیس سه‌گانه بررسی گردید. نتایج حاصل از تجزیه تشخیص متعارف (CDA) نشان داد که دو متغیر (مؤلفه) متعارف معنی‌دار بوده و متغیر متعارف اول که شامل صفات تعداد دانه در سنبله (۰/۶۸)، تعداد پنجه (۰/۱۹-)، تراکم سنبلچه (۰/۴۰-)، وزن صد دانه (۰/۳۳)، طول سنبله (۰/۳۰)، تعداد پنجه‌بارور (۰/۱۹-) و عملکرد دانه (۰/۲۷) بود، بیشترین نقش (۰/۸۵) را در تفکیک ارقام داشت زیرا این صفات بیشترین ضرایب را (صرفنظر از علامت) در تابع یک داشتند. همچنین متغیرهای متعارفی که نقش مهمی داشتند در گروه‌بندی ارقام به زیرگروه‌ها استفاده گردیدند. تجزیه خوشه‌ای نیز تقریباً در تأیید نتایج تشخیص متعارف، ارقام را به گروه‌های مشابه تفکیک نمود. در این تحقیق، تجزیه تشخیص متعارف در بررسی تنوع ژنتیکی صفات زراعی که بهترین توصیف را از تنوع بین ارقام داشتند، مؤثرتر از روش‌های تجزیه خوشه‌ای و مؤلفه‌های اصلی واقع گردید.

واژه‌های کلیدی: تجزیه تشخیص متعارف، تنوع ژنتیکی، گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

* مسئول مکاتبه: a.arminian@mail.ilam.ac.ir

مقدمه

گندم نان بی شک در بین گیاهانی که به عنوان منابع غذایی در سطح گسترده‌ای کشت می‌شوند نقش عمده‌ای ایفا می‌نماید و احتمالاً محوری برای شروع کشاورزی بوده است (هارلان، ۱۹۸۱). این گیاه در بین تمامی گیاهان زراعی بیشترین سطح زیر کشت را در جهان به خود اختصاص داده است (اسلافر و همکاران، ۱۹۹۴).

با تجزیه‌های تک‌متغیره همانند تجزیه واریانس، هر صفت بطور جداگانه تجزیه می‌شود. اما این روش‌ها میزان تفاوت ارقام را زمانی که صفات اندازه‌گیری شده با یکدیگر ارتباط دارند، را تشریح نمی‌کند (بیتر و همکاران، ۲۰۰۴). تجزیه همبستگی متعارف^۱ و تجزیه تشخیص متعارف^۲ از روش‌های تجزیه آماری چند متغیره در بررسی تنوع ژنتیکی و رابطه بین صفات زراعی ارقام هستند (ژائو و مک‌لین، ۲۰۰۰؛ جانسن و ویچرن، ۲۰۰۷؛ رایکو و مارکولیدس، ۲۰۰۸؛ وایلا و وانسانتن، ۲۰۰۲؛ بیتر و همکاران، ۲۰۰۴). استفاده از صفات زراعی، مورفولوژیک و فیزیولوژیک می‌تواند جهت سازماندهی ژرم‌پلاس، انتخاب والدین مطلوب برای هیبریداسیون و ایجاد جمعیت‌های در حال تفرق سودمند باشد. در تجزیه تشخیص متعارف همه صفات بطور همزمان در تفاوت بین ارقام مورد توجه قرار می‌گیرند (صفری و همکاران، ۲۰۰۷). این روش، جمعیت‌ها را نسبت به تجزیه تک‌متغیره بسیار قویتر تفکیک می‌نماید (بیتر و همکاران، ۲۰۰۴). تجزیه تشخیص متعارف روشی مرکب از مؤلفه‌های اصلی و تجزیه همبستگی متعارف می‌باشد که با استفاده از آن ترکیبات خطی صفات اصلی که بیشترین تفاوت‌ها را بین گروه‌ها فراهم می‌سازد، مشخص می‌گردد (وایلا و وانسانتن، ۲۰۰۲). متغیرهای متعارف که لازمه تجزیه CDA هستند، ترکیبات خطی صفاتی‌اند که بیشترین همبستگی چندگانه را با هرگروه دارند، و با هم همبستگی ندارند، بطوری‌که تفاوت گروه‌ها بر اساس همبستگی میان متغیرهای مستقل (صفات اندازه‌گیری شده) و ارتباط آنها با متغیرهای وابسته (ارقام) می‌باشد (وایلا و وانسانتن، ۲۰۰۲). بهتر است ضرایب تشخیص استاندارد شده صفات اندازه‌گیری شده در معادلات تشخیص کانونیک بررسی شود.

از اطلاعات بدست آمده از تجزیه تشخیص متعارف می‌توان جهت گروه‌بندی و خوشه‌بندی ارقام و جمعیت‌ها استفاده نمود. این راهکار قادر است تنوع بین جوامع ناشی از اثرات محیطی و ژنتیکی را

1- CCA, canonical correlation analysis
2- CDA, canonical discriminate analysis

از اثرات درون جوامع جداسازی و تشخیص دهد. به دنبال برآورد تنوع درون جمعیتی، پارامتر مربع فاصله ژنتیکی ماهالانوبیس (D^2) جهت تشخیص تفاوت بین جمعیت‌ها برآورد می‌گردد. به کمک اطلاعات حاصل از روش CDA می‌توان توده‌ها و ارقام را به گروه‌های کوچکتر با شباهت درونی بیشتر گروه‌بندی نمود (خاتری و نایک، ۲۰۰۰).

صفری و همکاران (۲۰۰۷)، پانزده صفت مورفولوژیکی و زراعی را در ۳۹ رقم بادام زمینی با تجزیه تشخیص متعارف مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که دو متغیر کانونی معنی‌دار بودند و متغیر کانونی شامل وزن یکصد دانه، عملکرد روغن، تعداد غلاف در بوته و وزن یکصد غلاف و ...، بیشترین نقش را در تفکیک ارقام داشت. همچنین گروه‌بندی ارقام به کمک متغیرهای کانونیکی، ارقام را به سه زیرگروه تقسیم نمود. آزمایش مذکور نشان داد که تجزیه‌های تشخیص کانونی و خوشه‌ای در گروه‌بندی و بررسی تنوع ارقام بادام زمینی مفید و مؤثر بودند. وایلا و وانسانتن (۲۰۰۲) نیز جهت بررسی تنوع ژنتیکی ارقام نوعی چمن مرتعی^۱ نشان دادند که تجزیه تشخیص متعارف روش مناسبی جهت بررسی رابطه بین صفات مختلف و نیز تنوع ژنتیکی بین ارقام مختلف است. در این خصوص مکینده و آریو (۲۰۱۰) نیز در بررسی ۲۲ رقم بادام‌زمینی اکثر صفات زراعی (۳۳ صفت) را مورد ارزیابی قرار دادند.

در گندم تحقیقات کمتری (اتیشا و همکاران، ۲۰۰۶؛ استلاسی و همکاران، ۲۰۱۲؛ کنیالی، ۲۰۰۸؛ روبرت و همکاران، ۱۹۹۲، واتانابه، ۱۹۸۳) با راهکار تجزیه تشخیص متعارف نسبت به دیگر گیاهان (اتیشا و همکاران، ۲۰۱۰؛ استلاسی و همکاران، ۲۰۱۲؛ ژائو و مکین، ۲۰۰۰؛ رایکوف و مارکولیدس، ۲۰۰۸؛ متیو و همکاران، ۱۹۹۴؛ مکینده و آریو، ۲۰۱۰؛ وایلا و وانسانتن، ۲۰۰۲؛ بیتتر و همکاران، ۲۰۰۴) بر روی صفات مختلف زراعی یا فیزیولوژیکی انجام شده است. در این رابطه اتیشا و همکاران (۲۰۰۶) در ۲۵۵۹ ژنوتیپ گندم با انجام تجزیه تشخیص متعارف برای صفات مختلفی همانند رنگ ریشک، رنگ دانه و رنگ گلوم و بخصوص تراکم سنبلچه دریافتند که دو تابع متعارف در مجموع ۹۵/۶ درصد از تنوع بین ارقام را توجیه نموده و ضریب صفتی همانند تراکم سنبله در تابع اول متعارف ۰/۴۱ و در تابع دوم ۰/۴۷۰ بود. همچنین آنها جهت صحت گروه‌بندی ارقام گندم از تابع تشخیص استفاده نمودند. اخیراً استلاسی و همکاران (۲۰۱۲) با تلفیق روش‌های تجزیه به مؤلفه‌های

1- Tall Fescue (*Festuca arundinacea*)

اصلی و تجزیه تشخیص متعارف در گندم به عنوان راهکاری ترکیبی و نوین، به بررسی صفات رویشی از جنبه اکولوژیکی در گندم پرداخته و به مطلوب و مؤثر بودن راهکار CDA تأکید نمودند. تحقیق حاضر در جمعیتی از ژنوتیپ‌های گندم نان متشکل از لاین‌های دبل‌هپلوئید، والدین و برخی از ارقام بومی جهت بررسی و مطالعه تنوع ژنتیکی برخی از صفات ریختی و زراعی جهت شناخت بهتر صفات و روابط آنها با انجام تجزیه‌های آماری پیشرفته‌تر همانند روش چند متغیره تجزیه تشخیص متعارف اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در طی ۴ سال زراعی ۱۳۸۸-۱۳۸۵ در مزارع تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد (مرکز استان چهارمحال و بختیاری) با ارتفاع ۲۰۶۰ متر از سطح دریا در طول شرقی ۴۹ درجه و ۲۲ دقیقه تا ۵۰ درجه و ۴۹ دقیقه و عرض جغرافیایی شمالی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه تا ۳۳ درجه و ۳۱ دقیقه انجام گردید. در این تحقیق، ۹۴ لاین دبل‌هپلوئید گندم نان (*Triticum aestivum* L.) بهاره با منشأ کانادا و حاصل از دو رقم والدی (CKi) P8911-G1D3 و ES32 که به روش تلاقی با ذرت به دست آمده بودند (ناکس و همکاران، ۲۰۰۰) به همراه ۵ رقم گندم بومی ایران شامل روشن، امید، نیک‌نژاد، بک‌کراس روشن، و الوند به‌عنوان شاهد مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات مزرعای در قالب طرح مستطیل لاتیس سه‌گانه اجرا گردید. کرت‌های آزمایشی شامل ۴ ردیف از بوته‌ها با ۲ متر طول و ۲۰ سانتی‌متر فاصله خطوط، با فاصله بوته‌ها حدود ۴ سانتی‌متر روی ردیف بود. عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم اواخر اسفند ماه، دیسک، تسطیح، کرت‌بندی و عملیات زراعی بطور معمول و با دقت انجام گرفت. همچنین کار کنترل علف‌های هرز و مراقبت‌های مرحله داشت و کود شیمیائی ازته (نیترات آمونیوم یا اوره) با رعایت اثر حاشیه به مقدار لازم صورت گرفت.

در تحقیق، ۱۳ صفت زراعی و مورفولوژیک شامل عملکرد دانه در واحد سطح (مترمربع)، شاخص برداشت، طول سنبله (سانتی‌متر)، تعداد دانه در سنبله، تراکم سنبلچه (تعداد سنبلچه بر طول سنبله)، وزن صد دانه (گرم)، تعداد پنجه کل، تعداد پنجه بارور، تعداد پنجه نابارور، طول و عرض برگ پرچم (سانتی‌متر)، ارتفاع بوته (سانتی‌متر) و تعداد گره در مزرعه یا در مراحل پس از برداشت به روش‌های موجود (اقبال، ۲۰۰۴؛ رشیدی و همکاران، ۲۰۰۶) اندازه‌گیری و یادداشت گردیدند.

به دنبال تعیین تعداد گروه‌ها، از تجزیه تشخیص جهت صحت گروه‌بندی استفاده شده و برآورد و تشخیص میزان شباهت درون‌گروهی جهت تجزیه خوشه‌ای براساس میزان شباهت صورت گرفت. در تجزیه تشخیص متعارف، میزان شباهت بر اساس متغیرهای متعارف (کانونیک) بطور مستقیم حاصل می‌شود، بطوریکه میانگین متغیرهای متعارف بعنوان مراکز گروه‌ها در نظر گرفته می‌شود (بیتر و همکاران، ۲۰۰۴). همچنین تابع تشخیص متعارف به صورتی محاسبه می‌گردد که نسبت شاخص اختلاف بین گروهی به درون گروهی در آن به حداکثر برسد. به این ترتیب متغیر متعارفی به دست می‌آید که ضرایب آن مقادیر بردار ویژه (بردار مشخصه) ماتریس $W^{-1}B$ است که W و B بترتیب ماتریس‌های مجموع مربعات درون‌گروهی و بین‌گروهی نمونه‌ها می‌باشد (رنچر، ۲۰۰۲). تفاوت بین مقدار مرکزی دو گروه را فاصله ماهالانویس (D^2) می‌نامند که بصورت زیر محاسبه می‌گردد:

$$D^2 = (X_1 - X_2)' S^{-1} (X_1 - X_2)$$

که در آن S^{-1} معکوس ماتریس واریانس-کواریانس نمونه و X_1 و X_2 بترتیب بردارهای میانگین صفات اندازه‌گیری شده گروه‌های ۱ و ۲ است (رنچر، ۲۰۰۲). در این تحقیق بعد از استاندارد نمودن داده‌ها، محاسبات و آنالیزهای تجزیه تشخیص (جهت صحت گروه‌بندی) و تجزیه تشخیص متعارف با نرم افزار STATA-11 ([Http://www.stata.com](http://www.stata.com)) و ترسیم بای‌پلات تجزیه تشخیص متعارف و نیز مقایسه میانگین‌ها با روش Fisher's LSD با برنامه‌های رایانه‌ای XLSTAT-2011 ([Http://www.xlstat.com](http://www.xlstat.com)) و MINITAB-16 ([Http://www.minitab.com](http://www.minitab.com)) انجام گرفت.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای (شکل ۱)، تمامی لاین‌های دبل‌هاپلوئید، ارقام بومی و والدین لاین‌ها در ۴ دسته قرار گرفت. بطوری‌که والد شماره ۲ و اکثر ارقام بومی به همراه برخی از لاین‌ها در گروه اول دیاگرام خوشه‌ای (شکل ۱) جای گرفتند. همانطور که در ادامه مشاهده می‌شود، این دسته‌بندی با دسته‌بندی حاصل از روش CDA قرابت بسیار زیادی نشان می‌دهد. جهت بررسی صحت دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها در تجزیه مؤلفه‌های اصلی و خوشه‌ای از توابع تشخیص (DA) نیز استفاده گردید که نتایج آن در جدول یک آورده شده است. در این جدول دقت گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها

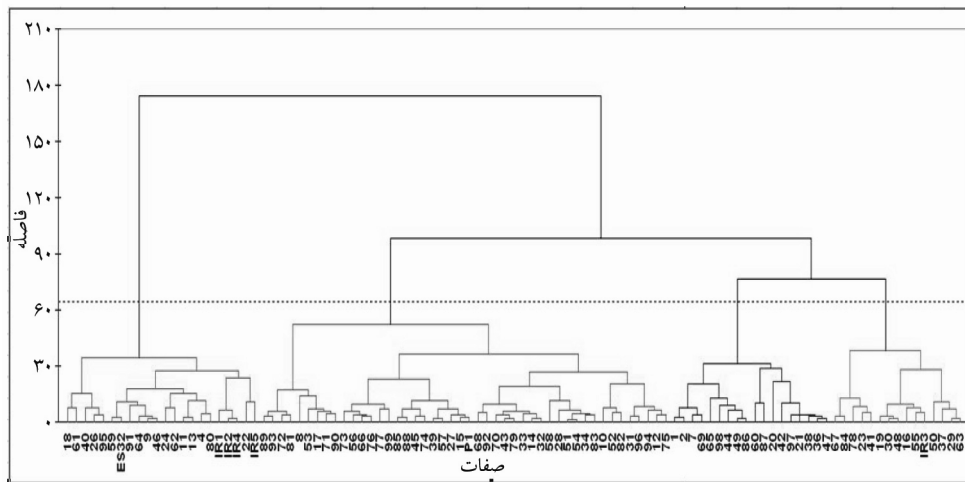
به روش تجزیه تشخیص خطی با برنامه STATA-11 برابر با ۹۴/۱ و به روش اعتبارسنجی^۱ با برنامه MINTAB برابر با ۸۷/۱ درصد بود.

جدول ۱- نتایج تابع تشخیص خطی برای صحت گروه‌بندی لاین‌های دبل‌هاپلوئید و ارقام بومی برای ۱۳ صفت زراعی.

	مجموع	اعضای گروه				گروه‌بندی
		۱	۲	۳	۴	
	۲۲	۲۲	۰	۰	۰	
	۴۶	۰	۴۴	۱	۱	
مجموع	۱۸	۰	۲	۱۵	۱	
	۱۵	۰	۰	۱	۱۴	
	۱۰۱	۲۲	۴۶	۱۷	۱۶	
	۱۰۰	۱۰۰	۰	۰	۰	اصلی
	۱۰۰	۰	۹۵/۶۵	۲/۱۷	۲/۱۷	
درصد	۱۰۰	۰	۱۱/۱۱	۸۳/۳۳	۵/۵۶	
	۱۰۰	۰	۰	۶/۶۷	۹۳/۳۳	
	۲۱/۷۸	۴۵/۵۴	۱۶/۸۳	۱۵/۸۴		

در جدول (۱) گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها به کمک تابع تجزیه تشخیص خطی مشاهده می‌شود. نتایج تابع فوق نشان می‌دهد که تمامی لاین‌ها و ارقام بومی در این تحقیق به‌طور صحیحی (۹۴/۱ درصد) گروه‌بندی شده‌اند. البته تجزیه تشخیص به روش اعتبارسنجی با دقت ۸۷/۱ درصد، گروه‌بندی را انجام داد. بنا به نتایج تجزیه تشخیص، این تابع در گروه‌بندی یا تشخیص بین گروه‌ها موفقیت زیادی داشته است. در جدول (۲)، همبستگی‌های متعارف، ریشه مشخصه، نسبت واریانس متغیر، واریانس جمععی، نسبت درست‌نمایی، درجه آزادی‌ها، پارامتر F ، و تست معنی‌دار بودن متغیر برای لاین‌های موجود در این تحقیق آورده شده است. هر متغیر متعارف، ترکیب خطی مجموعه متغیرهای پیش‌بینی‌کننده و متغیرهای مجموعه اندازه‌گیری شده را محاسبه می‌کند (وایلائی و وانسانتن، ۲۰۰۲). وجود همبستگی متعارف معنی‌دار بین ارقام با اولین ($Rc=0/۸۵$)، دومین ($Rc=0/۷۸$) و سومین متغیر متعارف

($RC=0/62$) همانگونه که صفری و همکاران (۲۰۰۷) بیان داشته‌اند نشان‌دهنده این است که متغیرهای کانونیک توانسته‌اند تفاوت بین ارقام را نشان دهند.



شکل ۱- گروه‌بندی ۱۰۱ ژنوتیپ گندم هگزاپلوئید نان متشکل از ۹۶ لاین هاپلوئید مضاعف، والدین و ۵ رقم بومی در ۴ سال برای ۱۳ صفت آگرونومیکی به روش Ward و فاصله اقلیدسی. در این شکل، اعداد محور افقی مبین لاین‌های دبل‌هاپلوئید، عبارات IR1 تا IR5 ارقام بومی ایران، اصطلاحات P1 و ES32 والدین لاین‌ها هستند. ترسیم خط برش خوشه‌بندی با روش انتروپی و نرم افزار XLSTAT صورت گرفته است.

جدول ۲- آماره‌های تجزیه تشخیص متعارف برای سه مؤلفه ۱۳ صفت زراعی در جمعیت دبل‌هاپلوئید و ارقام بومی گندم.

مؤلفه (Fen)	همبستگی متعارف	ریشه مشخصه	سهم واریانس مؤلفه	واریانس جمعی	لگاریتم درست نمایی ^۱	درجه آزادی ۱	درجه آزادی ۲	F	سطح معنی‌داری (Prob>F)
۱	۰/۸۵	۲/۵۸	۰/۵۵	۰/۵۵	۰/۰۷	۳۹	۲۵۲/۵	۹/۵۳	۰/۰۰۰۰۱
۲	۰/۷۸	۱/۵۲	۰/۳۲	۰/۸۷	۰/۲۴	۲۴	۱۷۲	۷/۳۲	۰/۰۰۰۰۱
۳	۰/۶۲	۰/۶۲	۰/۱۳	۱/۰۰	۰/۶۲	۱۱	۸۷	۴/۹۴	۰/۰۰۰۰۱

واژه‌های a و e در جدول فوق به ترتیب به F تقریبی و F دقیق اشاره دارند.

برای همبستگی خطی ساده بین متغیرهای اصلی و کانونیک، از ضرایب تشخیص استاندارد استفاده شد. این ضرایب نشان‌دهنده واریانس مشترک بین متغیرهای اندازه‌گیری شده با متغیرهای کانونیک

1 - LL, Log likelihood

بوده و می‌تواند جهت ارزیابی و تفسیر توجیه نسبی هر متغیر در هر معادله کانونیک استفاده گردد (بیتر و همکاران، ۲۰۰۴). برای ۱۳ صفت در این تحقیق، ضرایب مذکور برای سه مؤلفه موجود در مدل تجزیه تشخیص کانونیک آورده شده است (جدول ۳).

جدول ۳- ضرایب کانونیک استاندارد صفات زراعی در ۴ سال در ۹۴ لاین دبل‌هاپلوئید و والدین به همراه ۵ رقم بومی گندم نان.

صفات	تابع ۱	تابع ۲	تابع ۳
عملکرد	۰/۲۷	۰/۰۷	۰/۰۸
شاخص برداشت	-۰/۱۱	۰/۲۲	-۰/۱۸
طول سنبله	۰/۳۰	-۰/۲۶	۰/۲۷
تعداد دانه در سنبله	۰/۶۸	۰/۲۱	-۰/۴۲
تراکم سنبلچه	-۰/۴۰	-۰/۳۷	۰/۶۲
وزن صد دانه	۰/۳۳	۰/۱۲	۰/۴۸
تعداد پنجه	-۰/۱۹	-۰/۲۶	۰/۰۴
تعداد پنجه بارور	-۰/۲۸	-۰/۰۷	-۰/۲۱
تعداد پنجه نابارور	۰/۴۲	-۰/۲۵	۰/۲۷
طول برگ پرچم	۰/۱۳	-۰/۳۹	-۰/۲۹
عرض برگ پرچم	۰/۰۲	-۰/۱۰	-۰/۳۴
ارتفاع بوته	۰/۰۵	-۰/۵۷	-۰/۲۸
تعداد گره	۰/۲۲	-۰/۲۸	۰/۱۸

همانطور که در جدول فوق (۳) دیده می‌شود، ضرایب استاندارد شده کانونی صفات تعداد دانه در سنبله، تعداد پنجه، تراکم سنبله، وزن صد دانه، طول سنبله، تعداد پنجه بارور و عملکرد دانه در اولین معادله تابع تشخیص، قابل توجه و بیشتر از بقیه صفات است. در دومین معادله تشخیص نیز ضریب ارتفاع بوته، طول برگ پرچم، تراکم سنبله و تعداد گره و پنجه بالاست. در سومین معادله نیز ضریب صفات تراکم سنبله، وزن صد دانه و تعداد دانه در سنبله و عرض برگ پرچم بالاتر از دیگر صفات است. در اینجا می‌توان به مؤلفه اول (Can₁)، مؤلفه مربوط به صفات مهم یا اجزای عملکرد اطلاق نمود. وجود ضرایب مثبت و منفی صفات در مؤلفه‌ها به تأثیر مثبت و یا منفی صفات مذکور بر

مؤلفه‌ها اشاره دارد و عوامل دیگر را بایستی در مجموع نیز در مؤلفه در نظر گرفت. همانگونه که اتیسا و همکاران (۲۰۱۰) بر روی تجزیه تشخیص کانونی در جو اشاره داشته‌اند، صفاتی که ارزش‌های بالاتر (مقادیر)ی در مؤلفه اول دارند، میتوانند به خوبی در متمایز نمودن ارقام از هم ایفای نقش نمایند. لذا مقدار عددی صفات در مؤلفه‌ها مهم است. از این جدول (۳) نتیجه گرفته می‌شود که صفات مذکور (دارای بیشترین ضرایب) بیشترین تأثیر را در تنوع بین ارقام دارند. در آزمایش‌هایی که توسط صفری و همکاران (۲۰۰۷) در بادام زمینی انجام شد، صفات وزن غلاف، تعداد غلاف در بوته، وزن صد دانه در معادله اول تابع تشخیص قابل توجه بوده که چنین روندی برای صفات مشابه در آزمایش‌های دیگر نیز به دست آمده است. البته در گزارش مکینده و آریو (۲۰۱۰) در بادام زمینی، تعداد چهار مؤلفه اول در مجموع ۹۹/۳ درصد تنوع بین ژنوتیپ‌ها را توجیه نموده که مؤلفه اول با طول برگچه همبستگی مثبت بالا و با تعداد برگ در بوته در زمان گلدهی همبستگی منفی بلایی داشت. همانطور که گفته شد، در گندم تحقیقات کمتری (اتیسا و همکاران، ۲۰۰۶؛ استلاسی و همکاران، ۲۰۱۲؛ کنیالی، ۲۰۰۸؛ روبرت و همکاران، ۱۹۹۲، واتانابه، ۱۹۸۳) با روش تجزیه تشخیص متعارف نسبت به دیگر گیاهان (ژائو و مک‌لین، ۲۰۰۰؛ رایکوف و مارکولیدس، ۲۰۰۸؛ مکینده و آریو، ۲۰۱۰؛ صفری و همکاران، ۲۰۰۷؛ وایلی و وانسانتن، ۲۰۰۲؛ بیتر و همکاران، ۲۰۰۴) بر روی صفات مختلف زراعی یا بیوشیمیایی (مثل کروماتوگرافی) انجام شده است. با توجه چنین گزارشاتی در گندم نیز همانند دیگر گیاهان می‌توان با توجه به قابلیت بالای روش تجزیه تشخیص متعارف در بررسی تنوع فنوتیپی و ژنتیکی ارقام، از این روش استفاده نموده و نسبت به روش‌هایی مثل تجزیه خوشه‌ای با قطعیت بیشتری نسبت به تمایز ارقام اقدام نمود. در این رابطه اتیسا و همکاران (۲۰۰۶) در ۲۵۵۹ ژنوتیپ گندم با انجام تجزیه متعارف برای صفات مختلفی همانند رنگ ریشک، رنگ دانه و رنگ گلوم و بخصوص تراکم سنبله دریافتند که دو تابع کانونی در مجموع ۹۵/۶ درصد از تنوع بین ارقام را توجیه نموده، بطوریکه ضریب صفت تراکم سنبله در تابع اول کانونی ۰/۴۱ و در تابع دوم ۰/۴۷۰ و در تابع سوم ۰/۰۷۴- بوده که البته این محققان از تابع تشخیص جهت صحت گروه‌بندی ارقام گندم استفاده نمودند.

در تحقیق حاضر، همانطور که در جدول (۲) دیده شد، دو تابع یا متغیر کانونیکی اول و دوم در بررسی ۱۳ صفت، حدود ۹۰ درصد از تنوع کل بین ارقام را توجیه نمودند که می‌توان از این دو مؤلفه معنی‌دار برای کلاستر بندی یا گروه‌بندی ارقام استفاده نمود (شکل ۲). نکته قابل توجه در خصوص

کلاستر بندی به دست آمده این است که نتیجه گروه بندی حاصل از تجزیه تشخیص متعارف (کانونیک) (شکل ۲) با گروه بندی حاصل از تجزیه به مؤلفه های اصلی (داده ها آورده نشده) و تجزیه خوشه ای (شکل ۱) با هم مطابقت داشتند. البته پراکنش ژنوتیپ ها در فضای ترسیم شده در روش های مؤلفه های اصلی و تجزیه تشخیص متعارف درون هر گروه مقداری تغییر نموده که این کار خللی در کار گروه بندی و تعداد و فاصله گروه ها از هم ایجاد نکرد. همانطور که در شکل (۲) دیده می شود، گروه بندی حاصل از روش تجزیه تشخیص متعارف با روش خوشه بندی حداقل واریانس (Ward) با هم همخوانی دارند. همچنین فواصل گروه های حاصله مجزا به وسیله فاصله ماهالانوبیس (D^2) محاسبه و در جدول (۴) آورده شده است. بر این اساس، گروه های ۲ و ۳ کمترین و گروه های ۱ و ۳ بیشترین فاصله ماهالانوبیس را با هم داشتند. لذا به عنوان نمونه، استفاده از گروه های ۱ و ۳ جهت تعیین والدین تلاقی های فرضی در کارهای به نژادی احتمالاً مفید خواهد بود. بر آورد فاصله گروه ها از هم و آزمون معنی دار بودن آنها در روش تجزیه تشخیص متعارف، مزیت بسیار مهمی از این روش محسوب شده که با آماره ماهالانوبیس انجام شده و بهتر از راهکار تجزیه به مؤلفه های اصلی و تجزیه خوشه ای معمول، زیرجوامع را از هم تفکیک می نماید. بنابراین نباید چنین استنباط نمود که تجزیه به مؤلفه های اصلی و خوشه ای معمول می تواند جایگزین تجزیه CDA شود. همانطور که استرلچنکو و همکاران (۲۰۱۰) بیان داشته اند، روش تجزیه تشخیص متعارف درگندم توانسته است نه تنها گروه ها را بلکه حتی Accession ها را نیز درون گروه ها با دقت بیشتری متمایز نماید.

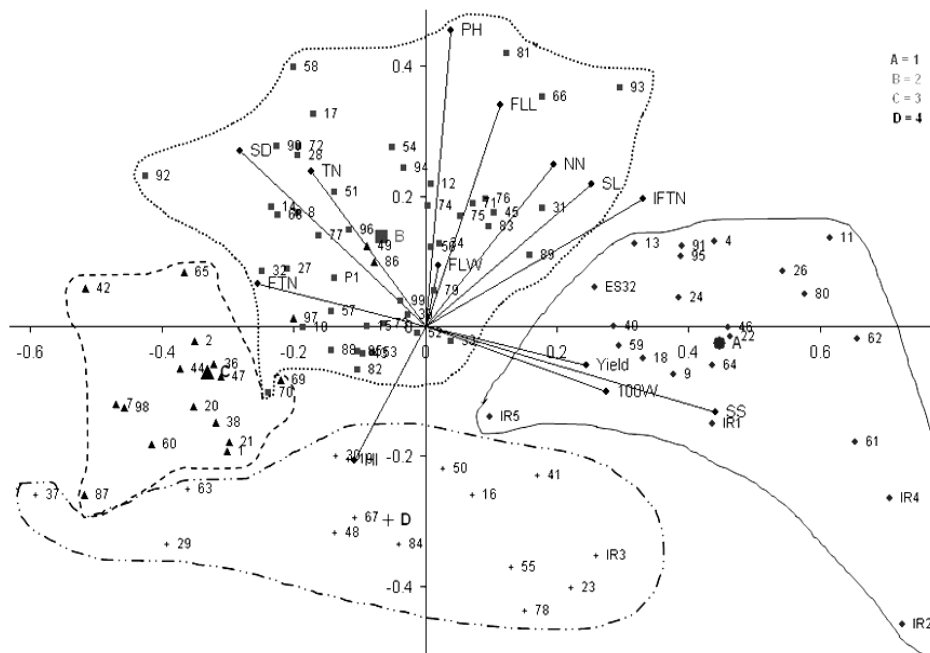
جدول ۴- فواصل ماهالانوبیس (D^2) بین گروه های حاصل از خوشه بندی به روش تجزیه تشخیص متعارف بر اساس دو تابع کانونیک اول و دوم.

گروه	۱	۲	۳
۲	۱۲/۵۸***		
۳	۲۳/۴۸***	۸/۳۰***	
۴	۱۶/۸۶***	۱۲/۴۷***	۱۱/۴۹***

*** معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۰۱

بر اساس خوشه بندی حاصل از تجزیه تشخیص متعارف (شکل ۲) تعداد ۴ گروه حاصل شده که هر گروه تنوع ژنتیکی درون گروهی کمتری نسبت به تنوع ژنتیکی بین گروهی داشت. فواصل

ماهالانویس نیز نشان داد که گروه‌های حاصله به روش تجزیه تشخیص متعارف به چه میزان از هم دور و در حقیقت متفاوت هستند. همانگونه که به میان آمد، خوشه‌بندی بر پایه تجزیه تشخیص متعارف از جمله روش‌های مهم و پرکاربردی است که از آن می‌توان در کارهای به‌نژادی مثل انتخاب بهتر والدین تلاقی‌ها و شناسایی صفات کمی مؤثر در عملکرد استفاده و بهره‌برداری نمود.



شکل ۲- گروه‌بندی ۱۰۱ ژنوتیپ گندم هگزاپلوئید نان متشکل از ۹۶ لاین هاپلوئید مضاعف، والدین و ۵ رقم بومی در ۴ سال برای ۱۳ صفت آگرونومیکی به روش تجزیه تشخیص متعارف. شماره‌های روی نمودار به شماره لاین‌های دبل‌هاپلوئید اشاره دارد و برای سهولت مثلاً لاین DH4 به صورت ۴ نوشته شده است تا عدم همپوشانی در دیاگرام صورت گیرد. حروف بزرگ A تا D مابین گروه‌ها می‌باشد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس گروه‌های حاصل از تجزیه تشخیص متعارف که گروه‌های حاصله به عنوان تیمار و ژنوتیپ‌های درون هر گروه به عنوان تکرار، در قالب طرح کاملاً تصادفی نامتعادل لحاظ گردید، نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها برای تمامی ۱۳ صفت زراعی بود (جدول ۵). به‌عنوان نمونه برای عملکرد دانه، ۴ گروه به‌دست آمده، تفاوت معنی‌داری را نشان دادند (شکل ۲، جدول‌های ۵ و ۶).

جدول ۵- تجزیه واریانس برای مقایسه میانگین گروه‌بندی حاصل از تجزیه تشخیص متعارف.

متغیر	MS خطا	MS مدل	R ²
عملکرد	۸۳/۶	۱۶/۴۲***	۰/۱۶
شاخص برداشت	۸۸/۷	۱۱/۳۹***	۰/۱۱
طول سنبله	۷۳/۲۳	۲۶/۸۷***	۰/۲۷
تعداد دانه در سنبله	۴۲/۶۲	۵۷/۴۴***	۰/۵۶
تراکم سنبله	۵۵/۳۰	۴۴/۸۲***	۰/۴۳
وزن صد دانه	۶۹/۳۲	۳۰/۷۵***	۰/۲۹
تعداد پنجه	۸۳/۶۷	۱۶/۳۹***	۰/۱۴
تعداد پنجه بارور	۸۰/۴۶	۱۹/۵۷***	۰/۱۷
تعداد پنجه نابارور	۶۳/۰۳	۳۷/۰۷***	۰/۳۵
طول برگ پرچم	۷۵/۱۳	۲۴/۹۰***	۰/۲۳
عرض برگ پرچم	۹۱/۹۲	۸/۰۸***	۰/۰۵
ارتفاع بوته	۶۵/۰۰	۳۵/۰۶***	۰/۳۳
تعداد گره	۷۹/۱۶	۰/۹۷***	۰/۱۹

در این جدول تعداد مشاهدات (ارقام) ۱۰۱، درجه آزادی مدل ۳، درجه آزادی خطا ۹۷، ***معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱. MS=میانگین مربعات و R²=ضریب تبیین.

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات برای گروه‌های حاصل از تجزیه تشخیص متعارف برای ۱۳ صفت زراعی در گندم.

میانگین کل	SE میانگین گروه‌ها				صفت
	۴	۳	۲	۱	
۵۸۳/۵۴	۵۷۵/۵۵ ± ۰/۳۱b	۵۳۴/۵۰ ± ۰/۳۰b	۵۴۹/۵۱ ± ۰/۲۴b	۶۷۴/۵۹ ± ۰/۲۰a	عملکرد دانه
۰/۳۱	۰/۳۴ ± ۰/۳۲a	۰/۳۰ ± ۰/۳۰ab	۰/۳۰ ± ۰/۲۴b	۰/۲۸ ± ۰/۲۰b	شاخص برداشت
۹/۷۳	۹/۱۷ ± ۰/۲۹c	۹/۴۶ ± ۰/۲۸bc	۱۰/۰۶ ± ۰/۲۳b	۱۰/۲۲ ± ۰/۱۹a	طول سنبله
۴۰/۷۶	۴۲/۵۲ ± ۰/۰۸b	۳۴/۷۲ ± ۰/۰۸d	۳۹/۳۷ ± ۰/۰۹c	۴۶/۴۱ ± ۰/۰a	تعداد دانه در سنبله
۰/۳۲	۰/۲۴ ± ۰/۲۵c	۰/۳۶ ± ۰/۲۴b	۰/۴۱ ± ۰/۲۰a	۰/۲۵ ± ۰/۱۶c	تراکم سنبله
۳۳/۱۱	۲۷/۶۹ ± ۰/۲۸b	۲۹/۷۶ ± ۰/۲۷b	۲۵/۳۱ ± ۰/۲۲b	۴۹/۶۹ ± ۰/۱۸a	وزن صد دانه
۳/۰۸	۲/۸۲ ± ۰/۳۱b	۳/۳۶ ± ۰/۳۰a	۳/۳۷ ± ۰/۲۴a	۲/۷۷ ± ۰/۲۰b	تعداد پنجه
۲/۷۰	۲/۷۷ ± ۰/۳۱a	۲/۸۱ ± ۰/۲۹a	۲/۸۵ ± ۰/۲۴a	۲/۳۶ ± ۰/۱۹b	تعداد پنجه بارور
۲/۱۳	۱/۷۶ ± ۰/۲۷c	۱/۸۱ ± ۰/۲۶c	۲/۱۴ ± ۰/۲۱b	۲/۸۱ ± ۰/۱۷a	تعداد پنجه نابارور
۱۹/۹۱	۱۹/۱۱ ± ۰/۳۰b	۱۸/۹۶ ± ۰/۲۸b	۲۱/۰۰ ± ۰/۲۳a	۲۰/۵۶ ± ۰/۱۹a	طول برگ پرچم
۲/۷۴	۳/۰۴ ± ۰/۳۳ab	۲/۳۰ ± ۰/۳۱b	۳/۰۶ ± ۰/۲۵a	۲/۵۷ ± ۰/۲۱ab	عرض برگ پرچم
۸۶/۴۵	۸۲/۲۲ ± ۰/۲۷c	۸۳/۵۰ ± ۰/۲۶bc	۹۳/۲۸ ± ۰/۲۱a	۸۶/۷۹ ± ۰/۲۷b	ارتفاع بوته
۴/۰۶	۳/۹۱ ± ۰/۳۰c	۴/۰۱ ± ۰/۲۹bc	۴/۱۰ ± ۰/۲۳ab	۴/۲۰ ± ۰/۱۹a	تعداد گره

میانگین‌ها در هر ردیف با حداقل یک حرف لاتین مشترک در آزمون LSD فیشر، با هم تفاوتی در سطح ۵ درصد ندارند.

براساس مقایسه میانگین گروه‌ها، برای تمامی صفات، حداقل بین دو گروه از چهار گروه (A تا D) در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌دار وجود دارد. به عنوان نمونه عملکرد دانه گروه یک (۶۷۴/۵۹ گرم در مترمربع) به‌طور معنی‌داری از گروه‌های دیگر بیشتر بود. عبارت R^2 در جدول فوق به ضریب تبیین مدل اشاره داشته و مبین میزان خطا و یا دقت مدل ANOVA برای صفت مورد نظر و در حقیقت نشان‌دهنده ضریب تنوع (C.V.) مدل می‌باشد. اگر به این گروه توجه کنیم می‌بینیم که اکثر ارقام بومی ایرانی و یکی از والدین در این گروه قرار دارد. همچنین این گروه از نظر صفاتی به ویژه طول سنبله، تعداد دانه در سنبله و وزن صد دانه نسبت به گروه‌های دیگر بالاتر بود (جدول ۶) که عملکرد بالای این گروه را می‌توان به‌طور ویژه‌ای به این صفات حیاتی نسبت داد. همچنین بنا به خلاصه محاسبات انجام شده برای سه تابع متعارف (جدول کامل آورده نشده است)، گروه یک (A) در شکل ۲، برای تابع کانونیک اول، بیشترین ضریب (۲/۷۵) را نسبت به سه گروه دیگر (به ترتیب ۰/۴۰، -۲/۰۳ و -۰/۳۶) داشت. این مؤلفه بیشترین میزان تنوع (۰/۵۵) موجود را نیز توجیه نمود. برای تابع دوم نیز ضرایب گروه‌های اول (A)، دوم (B)، سوم (C) و چهارم (D) به ترتیب ۰/۲۱، -۱/۱۰، ۰/۵۵ و ۲/۳۸ می‌باشد که سهم یا ضریب گروه چهارم از سه گروه دیگر بیشتر است. در جدول ۳ دیده می‌شود که صفات مذکور (عملکرد دانه، طول سنبله و تعداد دانه در سنبله و وزن صد دانه) ضرایب کانونیک بزرگی نیز در متغیرهای کانونیک دارند. ارقام گروه چهارم، با وجود عملکرد زیاد، دارای فاصله ژنتیکی کمتری با هم بوده و همچنین علاوه بر عملکرد بالاتر، از نظر فاصله نیز از گروه‌های دیگر متمایز بوده و لذا در برنامه‌های به نژادی جهت ایجاد ارقام هیبرید، مناسب تلاقی با دیگر گروه‌ها بوده و بهتر است معمولاً از ارقام گروه‌های متفاوت استفاده شود. به عنوان نمونه از آنجایی که والدین لاین‌ها (تلاقی‌ها) در دو گروه جداگانه قرار گرفته‌اند، لذا به خوبی توانسته‌اند به عنوان والد نقش خود را ایفا نمایند. همچنین به دلیل بیشترین فاصله بین گروه‌های اول و سوم و همچنین اول و چهارم بهتر است والدین را از بین این دو گروه انتخاب نمود. به‌طوری‌که اکثر ارقام ایرانی در گروه یک و فقط یکی از ارقام بومی ایرانی در گروه چهارم قرار گرفته است. بنابراین می‌توان این رقم (روشن) را با ارقام دیگر گروه یک به خوبی با هم تلاقی داد.

به‌طور کلی به کمک تجزیه تشخیص معمول و تجزیه تشخیص متعارف (کانونیک) مشخص شد که ارقام تحقیق حاضر تنوع ژنتیکی معنی‌داری داشته و برخی از ژنوتیپ‌ها با وجود توان تولید بالا و یا صفات مطلوب دیگر می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی به کار گرفته شده و منشأ تولید واریته‌های جدید

و اصلاح شده گردند. تجزیه تشخیص متعارف، همانند تجزیه کلاستر و مؤلفه‌های اصلی و حتی بهتر، می‌تواند در تشخیص (بررسی) میزان تنوع ژنتیکی و شناسایی صفات مؤثر بر تنوع (بخصوص در گندم نان) موفق عمل نماید (صفری و همکاران، ۲۰۰۷). صفات مؤثر شناسایی شده در ایجاد تنوع در این جامعه شامل عملکرد و اجزای عملکرد بخصوص صفات مهمی مثل تعداد دانه در سنبله، طول سنبله و وزن صد (هزار) دانه می‌باشد. بررسی تنوع چنین صفاتی، میان ارقام گندم (و قانداً گیاهان زراعی مشابه) فرصتی را برای اصلاحگر نباتات فراهم می‌سازد که توسط آن روی صفات و ویژگی‌های مشخصی که موجب تنوع شده‌اند، مثل صفات مذکور، تمرکز نماید (صفری و همکاران، ۲۰۰۷) و آنها را به خوبی و باشناخت کافی در کارهای به‌نژادی به کار گیرد.

منابع

1. Eticha, F., Belay, G. and Bekele, E. 2006. Species diversity in wheat landrace populations from two regions of Ethiopia. *Genet. Res. Crop Evol.* 53: 387-393.
2. Eticha, F., Grausgruber, H. and Berghoffer, E. 2010. Multivariate analysis of agronomic and quality traits of hull-less spring barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Plant Breeding Crop Sci.* 2: 81-95.
3. Harlan, J.R. 1981. The early history of wheat: Earliest traces to the sack of Rome. In: LT Evans and WJ Peacock (eds), *Wheat science today and tomorrow*. Cambridge Univ. Press, Cambridge UK.
4. Iqbal, M. 2004. Diallelic analysis of some physio-morphological traits in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). Ph.D. thesis, Dept. Plant Breeding and Genetics. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan., p 225.
5. Johnson, R.A. and Wichern D.W. 2007. *Applied Multivariate Statistical Analysis* (5th Edition). Prentice Hall. p 773.
6. Khatree, R. and Naik, D.N. 2000. Multivariate data reduction and discrimination with SAS software. SAS Institute Inc. p 558.
7. Knox, R.E., Clarke, J.M. and DePauw, R.M. 2000. Dicamba and growth condition effects on double haploid production in durum wheat crossed with maize. *Plant Breeding.* 119:289-293.
8. Konyali, S. 2008. Classification of the variables used in wheat production according to their productivity by discriminant analysis: the case of Thrace Region. *World Appl. Sci. J.* 5:177-181.
9. Makinde, S.C.O., Ariyo, O.J. 2010. Multivariate analysis of genetic divergence in twenty two genotypes of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *J. Plant Breeding Crop Sci.* 2:192-204.

10. Matthew, C., Lawoko, C.R.O. and Korte, C.J. 1994. Application of canonical discriminant analysis, principal component analysis, and canonical correlation analysis as tools for evaluating differences in pasture botanical composition. *New Zealand J. Agri. Res.* 37: 509-520.
11. Rashidi, V., Majidi, A., Mohammady, S.A. and Moghadam, M.M. 2006. Determining relationships of Durum wheat lines using cluster analysis and identification of important morphologic traits of each group. *J. Iran Agr. Sci.* 13:439-450.
12. Raykov, T. and Marcoulides, G.A. 2008. An introduction to applied multivariate analysis. Routledge/Psychpress, p 498.
13. Rencher, A.C. 2002. Methods of multivariate analysis. John Wiley and Sons Inc. p 708.
14. Robert, P., Bertrand, D., Devaux, M.F. and Sire, A. 1992. Identification of chemical constituents by multivariate near-infrared spectral imaging. *Anal. Chem.* 64:664-667.
15. Saastamoinen, M. 2008. Heritability of dispersal rate and other life history traits in the Glanville fritillary butterfly. *Heredity.* 100:39-46.
16. Safari, P., Honarnezhad, R. and Esfehiani, M. 2007. Evaluation of genetic diversity in groundnut cultivars using canonical discriminant analysis. *J. Iran Agr. Res.* 6:327-334.
17. Slafer, G.A., Satore, E.A. and Andrade, F.H. 1994. Increases in grain yield in bread wheat from breeding and associated physiological changes. In: G.A. Slafer (ed.). Genetic improvement of field crops Marcel Dekker, New York.
18. Stellacci, A.M., Castrignano, A., Diacono, M., Troccoli, A., Ciccarese, A., Armenise, E., Gallo, A., De Vita, P., Lonigro, A., Mastro, M.A., Rubino, P. 2012. Combined approach based on principal component analysis and canonical discriminant analysis for investigating hyperspectral plant response. *Italian J. Agron.* 7: 247-253.
19. Strelchenko, P., Mitrofanova, O., Konarev, A. and Terami, F. 2010. Evaluation of genetic differentiation of wheat resources using RAPD markers. Research project. Available at: <http://www.cryo.affrc.go.jp/kankobutu/kenkyusiryoy/65/65-3-1.htm>
20. Vaylay, R. and van Santen, E. 2002. Application of canonical discriminant analysis for the assessment of genetic variation in tall fescue. *Crop Sci.* 42:534-539.
21. Watanabe, N. 1983. Variation of D genomes affecting the morphological characters of common wheat. *Jap. J. Breeding.* 33: 296-302.
22. Yeater, K.M., Bollero, A.G., Bullock, D.G., Rayburn, A.L. and Rodriguez-Zas, S. 2004. Assessment of genetic variation in hairy vetch using canonical discriminant analysis. *Crop Sci.* 44: 185-189.
23. Zhao, G. and Maclean, A. 2000. A comparison of canonical discriminant analysis and principal component analysis for spectral transformation. *Photo. Eng. Rem. Sen.* 66: 841-847.



Investigating genetic diversity and classification of diverse wheat genotypes using multivariate analysis methods

* **A. Arminian¹, S. Hoshmand² and B. Shiran²**

¹Scientific staff, Dept. of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Ilam University, ²Scientific staffs, Department of Plant Breeding and Biotechnology, College of Agriculture, Shahrekord University

Received: 2010-11-04 ; Accepted: 2012-02-01

Abstract

This experiment was conducted to investigate and evaluate the phenotypic and genotypic diversity of a population including of 94 doubled-haploids lines, their parents and five Iranian local bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Thirteen agronomic and morphologic traits were recorded including; grain yield per unit area, harvest index, spike length, seed number per spike, spikelet density, total tiller number, fertile & infertile tiller number, flag leaf length & width, plant height and number of node during four cultivation years (2006-2009) at field conditions using lattice design. The results of canonical discriminate analysis (CDA) showed that two canonical variables (components) were significant, where the 1st canonical variables including; seed number per spike(0.68), tiller number(-0.19), spikelet density(-0.4), 100 grain weight(0.33), spike length(0.3), fertile tiller number(-0.19) and grain yield(0.27), had a great contribution(0.85) in fractionating the cultivars because these trait had the most coefficients of function 1(irrespective to related sign). Moreover, the canonical factors which had important role classify were used to the groups. Cluster analysis could also categorize the cultivars in accordance to the results of CDA. In this study, the CDA has been effectively utilized to investigate genetic diversity of agronomic traits, which had the best interpretation of traits of diversity among cultivars.

Keywords: Bread wheat (*Triticum aestivum* L.); Canonical discriminant analysis (CDA); Genetic diversity.

*Corresponding Author; Email: a.arminian@mail.ilam.ac.ir