



علوم و تحقیقات بذر ایران

سال سوم / شماره دوم / ۱۳۹۵ (۶۵ - ۵۳)

گروه‌بندی ژنوتیپ‌های کلزا در تیمارهای مختلف تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی بر اساس تجزیه‌های آماری چند متغیره

محمد محسن‌زاده گلفزانی^۱، فائقه محمد^۲، سید حسن حسنی کومله^۳، حبیب‌الله سمیع‌زاده لاهیجی^{۴*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۳/۲۳

چکیده

این مطالعه به منظور گروه‌بندی ۱۰ ژنوتیپ کلزا با استفاده از نشانگرهای مولکولی و همچنین بررسی مقاومت به خشکی این ژنوتیپ‌ها انجام شده است. در این تحقیق با استفاده از ۱۹ آغازگر تکی و ترکیبی ISSR و رتروترانسپوزون، ۸۵ نوار چندشکل به دست آمد و درصد چندشکلی نشانگرها بین ۵۰ تا ۱۰۰ متغیر بود. تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌ها را در سه گروه که به ترتیب ۵، ۳ و ۲ ژنوتیپ، قرار داد. نتایج حاصل از واکنش ژنوتیپ‌های کلزا به خشکی در مرحله جوانه‌زنی در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک با سه تکرار تجزیه و تحلیل شد. تجزیه خوشه‌ای داده‌های جوانه‌زنی به روش UPGMA و فاصله اقلیدوسی، تیمارها را در چهار گروه مجزا قرار داد. تجزیه تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر نشان داد که خوشه‌بندی به روش UPGMA با ۹۵ درصد صحت، انجام شده است. گروه دوم از لحاظ اکثر صفات دارای ارزش بالایی بود و با قرار گرفتن تیمارهای مختلف ژنوتیپ SLM046 در این گروه می‌توان آن را به‌عنوان ژنوتیپ متحمل معرفی کرد. نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی پس از چرخش وریماکس سه مؤلفه با نام‌های ساقه‌چه، ریشه‌چه و درصد جوانه‌زنی را مشخص نمود که در مجموع ۸۸/۳۱ درصد از تغییرات بین صفات را توجیه کردند و بررسی دیاگرام پراکنش براساس دو مؤلفه اول، ناحیه اول را به‌عنوان ناحیه مطلوب تشخیص داد و تیمارهای مربوط ژنوتیپ‌های که در این ناحیه قرار دارند، ژنوتیپ‌های با عکس‌العمل مطلوب نسبت به تنش خشکی هستند و می‌توان آن‌ها را به‌عنوان ژنوتیپ متحمل در مرحله جوانه‌زنی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: پتانسیل اسمزی، پلی اتیلن گلیکول، تنوع، سرعت رشد، نشانگر مولکولی

۱- دانشجوی دکترا بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲- کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

* نویسنده مسئول: hsamizadeh@guilan.ac.ir

مقدمه

در بخش بزرگی از مناطق کشاورزی در جهان، کمبود آب عامل محدودکننده مهم رشد و بهره‌وری از محصولات کشاورزی است. برای زنده ماندن در برابر استرس، گیاهان پاسخ‌های مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مختلفی دارند. اثر تنش خشکی بر رشد و عملکرد، بستگی به ژنوتیپ، طول مدت استرس، شرایط آب و هوایی، رشدی و مراحل نمو گیاهان زراعی دارد (Naghavi *et al.*, 2015). تنش خشکی محدودیت عمده‌ای برای رشد گیاه در مناطق خشک و نیمه‌خشک هستند (Huzsvai and Rajkai, 2009). یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در سرتاسر جهان و شایع‌ترین تنش محیطی، کمبود آب است، که به کارخانه محدودیت بقا در مناطق خشک و نیمه‌خشک معروف شده است (Chaves *et al.*, 2003). کلزا یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی دانه روغنی در جهان است (Bybordi, 2012). در ایران و برخی از کشورهای دیگر، تولید گیاه کلزا توسط شوری و خشکی خاک محدود شده است. بنابراین، بهبود واریته‌ها یا انتخاب با افزایش تحمل به خشکی از اهمیت زیادی برای رشد این گیاه در مناطق که آب محدود است، مقرون به صرفه می‌باشد. درک بیوشیمی و فیزیولوژی سازگاری کلزا به تنش آب، به توسعه گونه‌های متحمل به تنش کمک خواهد کرد (Naghavi *et al.*, 2015).

کمبود آب می‌تواند عملکرد دانه کلزا را تحت تأثیر قرار دهد، اما این اثر بستگی به رقم، مرحله رشد و سازگاری گیاه به خشکی دارد. گزارش‌های مختلفی در مورد تحمل تنش خشکی کلزا وجود دارد. مطالعات قبلی تا حد زیادی کاهش تولید کلزا با توجه به درجه حرارت بالا و تنش خشکی شدید تأیید کرده‌اند (Johnson *et al.*, 1995). از سوی دیگر، با توجه به تحقیقات نیلسن (Nielsen, 1997)، عملکرد کلزا به‌طور قابل توجهی در هیچ یک از مراحل رشد در تنش آب، تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد.

جوانه‌زنی زود، سریع، یکنواخت و کامل بذرها، باعث سطح سبز مطلوب و رشد اولیه و سریع گیاهان زراعی می‌شود و رشد اولیه مطلوب، باعث دریافت بهتر تشعشع خورشید و افزایش عملکرد می‌گردد (Jajarmi, 2009). تنش‌های خشکی می‌توانند در کاهش سرعت جوانه‌زنی و هم درصد جوانه‌زنی تأثیرگذار باشند و ناکافی بودن رطوبت الزام جهت جوانه‌زنی در سطح خاک و به دنبال آن تنش

خشکی در مرحله گیاهچه یکی از عوامل مهم در عدم استقرار مطلوب گیاهچه در مناطق خشک می‌باشد (Paulsen, 1987).

بذرهای کلزا که در شرایط تنش خشکی بوده‌اند مدت زمان بیش‌تری را برای جوانه‌زنی نیاز داشتند و باعث کاهش میانگین جوانه‌زنی روزانه شده است (Akbari and Abadi, 2007). بین ارقام مختلف کلزا اختلاف زیادی در حداقل رطوبت لازم جهت جوانه‌زنی دیده می‌شود، و بذوری که بتوانند در شرایط تنش، جوانه‌زنی قابل قبولی داشته باشند، در مناطق خشک و نیمه‌خشک، ارزش زیادی خواهند داشت. به‌طور کلی با افزایش پتانسیل اسمزی، کلیه شاخص‌های جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (Andalibi *et al.*, 2005).

در مطالعه‌ای ۴۵ ژنوتیپ کلزا را با استفاده از ۱۵ آغازگر ISSR و ۱۲ آغازگر RAPD مورد بررسی قرار دادند (Safari *et al.*, 2013). تجزیه خوشه‌ای داده‌ها با استفاده از نزدیک‌ترین همسایه‌ها و روش ضریب تشابه دایس توسط نشانگرهای RAPD، ISSR، ترکیب داده‌های هر دو نشانگر، ژنوتیپ‌ها را به ترتیب به ۷، ۵ و ۳ گروه اصلی جداسازی کرد. آن‌ها اظهار داشتند همبستگی کمی بین ماتریس تشابه دو نشانگر در این مطالعه وجود داشت. با بررسی کارایی ۲۵ آغازگر ISSR و ۱۰ آغازگر RAPD روی ۱۰ ژنوتیپ کلزا مشاهده کردند که فقط ۵ آغازگر برای هر کدام از دو نوع نشانگر این توانایی را دارند که چندشکلی واضح و تکرارپذیر بین ژنوتیپ‌ها ایجاد کنند (Abdelmidg, 2014). در این مطالعه از ۷۷ باند تولید شده توسط آغازگرهای RAPD، ۶۷ باند چندشکل بودند، تعداد باندهای تولیدشده بین ۲۱-۸ باند و درصد چندشکلی برای این نشانگر بین ۶۸/۴ تا ۱۰۰ درصد بود. از ۵ آغازگر ISSR ۹۴ باند تولید شد که ۷۶ باند آن چندشکل بودند. تعداد باند تولیدشده از ۴ تا ۳۲ باند متغیر بود. درصد چندشکلی برای این نشانگر بین ۲۵ تا ۱۰۰ درصد بود.

در سال‌های اخیر مطالعات در زمینه میزان تنوع ژنتیکی تحمل به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی در کلزا در حال انجام می‌باشد. این‌گونه مطالعات می‌تواند منجر به راهکارهایی برای غربال سریع ارقام گردد. اگر بتوان ارقام را به‌طور همزمان براساس همه شاخص‌ها و متغیرها ارزیابی و انتخاب نمود، احتمال موفقیت در گزینش افزایش می‌یابد.

در مرحله جوانه‌زنی و شناسایی ارقام متحمل با بهره‌گیری از روش‌های پیشرفته آماری انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه با هدف آزمون اثر تیمارهای مختلف اعمال تنش خشکی با پلی‌اتیلن گلیکول روی مؤلفه‌های جوانه‌زنی بذور ده ژنوتیپ کلزا انجام شد (جدول ۱). بذور نوکلئوس از موسسه تحقیقات اصلاح و نهال بذر کرج تهیه و در سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه دانشکده علوم کشاورزی گیلان مورد بررسی قرار گرفتند.

یکی از روش‌های بسیار کارآمد برای کاهش ابعاد داده‌ها و خلاصه کردن تغییرات آن‌ها در تعداد کمی مؤلفه روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی می‌باشد. با توجه به این که بیش از نیمی از اراضی قابل کشت در ایران در مناطق خشک و نیمه‌خشک قرار دارد و کلزا نیز در بین گیاهان دانه روغنی کشور سطح زیرکشت نسبتاً بالایی را به خود اختصاص داده است، شناسایی ارقام برتر از نظر تحمل به خشکی در مرحله جوانه‌زنی از اهمیت بسزایی برخوردار است. این پژوهش به‌منظور ارزیابی واکنش ارقام کلزا به تنش خشکی

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌های کلزا مورد ارزیابی

Table 1. The names of evaluated canola genotypes

ردیف No.	نام ژنوتیپ Genotype	ردیف No.	نام ژنوتیپ Genotype
1	Cooper	6	SLM046
2	Sarigol	7	RGS003
3	Hyola401	8	Okapi
4	Hyola308	9	Zabol-9
5	Zarfam	10	Zabol-16

نوارها زیر نور UV انجام گردید. الگوی نواری بر اساس وجود (یک) یا عدم وجود (صفر) نوارهای مشاهده‌شده نمره‌دهی شدند. داده‌های حاصل به‌صورت یک ماتریس 10×85 وارد نرم افزار Excel شد که در آن ۱۰ ژنوتیپ کلزا و ۸۵ نوار چندشکل مشاهده گردید.

در این بررسی برای سنجش پاسخ اولیه ارقام به سطوح پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در مرحله جوانه‌زنی و شرایط آزمایشگاهی با چهار سطح مختلف شامل صفر، ۴، ۱۰ و ۱۲ درصد بر روی ژنوتیپ‌ها در سه تکرار در قالب فاکتوریل با دو فاکتور بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد مقایسه قرار گرفتند، که فاکتور اول ژنوتیپ و فاکتور دوم سطوح مختلف تنش بود. هر واحد آزمایشی مشتمل بر ۱۰ بذر از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود که یک لایه کاغذ واتمن در زیر آن‌ها قرار گرفت. بذور توسط هیپوکلرید سدیم $2/5$ درصد ضدعفونی شده و هر ۲ دقیقه و به مدت ۵ مرتبه توسط آب مقطر شستشو و پس از آن در پتری‌دیش‌های ۹ میلی‌متری حاوی محلول‌های PEG تیمار قرار گرفته و در اتاقک کشت در دمای ۲۱ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

در این تحقیق از ۶ آغازگر ISSR و ۴ آغازگر رتروترانسپوزن، همچنین ۹ آغازگر ترکیبی استفاده گردید. نمونه‌گیری از برگ‌های جوان کلزا در مرحله ۳ تا ۴ برگی انجام شد، استخراج DNA با استفاده از روش CTAB (Saghai-Marooft *et al.*, 1984) با اندکی تغییر انجام، و کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA با روش الکتروفورز ژل آگارز و اسپکتروفتومتری تعیین شد. واکنش PCR در حجم ۱۰ مایکرولیتر شامل ۳۰ تا ۴۰ نانوگرم DNA الگو، ۰/۱ میلی‌مول dNTP، ۰/۳ میلی‌مول آغازگر، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$ ، بافر 1X PCR و ۱ واحد آنزیم Taq پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra انجام شد. چرخه حرارتی به‌صورت ۴ دقیقه واسرشته‌سازی اولیه در $94^{\circ}C$ و ۳۵ سیکل به‌صورت ۴۰ ثانیه واسرشته‌سازی در $94,40^{\circ}C$ ثانیه مرحله اتصال آغازگر بسته به دمای اتصال (Tm آغازگر (جدول ۲)، ۲ دقیقه مرحله بسط در دمای $72^{\circ}C$ و یک چرخه نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای $72^{\circ}C$ بود، در نهایت نگهداری در دمای $4^{\circ}C$ بود. محصول تکثیرشده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تفکیک و رنگ-آمیزی ژل با استفاده از اتیدیوم بروماید و آشکارسازی

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای ISSR و رتروترانسپوزن مورد استفاده

Table 2. List of primers, primer sequence, annealing temperature, and polymorphism (%)

ردیف No.	نام name	دمای اتصال annealing temperature	پلی مورفیسم % polymorphi c	توالی Sequence	
ISSR	1	UBC 8736	43	100	(AC) ₈ A
	2	UBC 827	50	88/88	(AC) ₈ G
	3	UBC 834	48/5	75	(AC) ₈ C
	4	UBC 807	43	100	(AG) ₈ T
	5	UBC 808	45	71/5	(AG) ₈ C
	6	UBC825	48	75	(AC) ₈ T
رتروترانسپوزن Retrotransposons	7	TOS 1	60	50	TGTTGGGAATAGTCCCACA
	8	TOS 2	45	100	TGTTGAATAGTTCCACATT
	9	TOS 3	37/5	75	TGTTAGAAGTATAAATATGT
	10	RTR 2	57	85/7	AAGTTGTCTGAGGCTTATGTGACTT
ترکیبی combinatory	11	TOS1+UBC807	51/5	80	
	12	TOS1+UBC827	55	100	
	13	TOS2+UBC807	44	80	
	14	TOS2+UBC808	45	60	
	15	TOS2+UBC827	47/5	50	
	16	TOS2+UBC834	46/5	75	
	17	TOS3+UBC807	41	100	
	18	TOS3+UBC808	41	100	
	19	TOS3+UBC827	44	85/71	

شاخص بنیه با رابطه ۱ محاسبه گردید که در آن R طول ریشه‌چه، S طول ساقه‌چه و GP درصد جوانه‌زنی می‌باشد.

$$VI = (R + S) \times GP \quad \text{رابطه (۱)}$$

ضریب آلومتریکی از تقسیم طول ریشه‌چه به ساقه‌چه به‌دست آمد. درصد آب بافت ریشه‌چه و ساقه‌چه با رابطه ۲ محاسبه گردید که در آن FW وزن تر بافت و DW وزن خشک بافت می‌باشد.

$$PW = \left(\frac{FW - DW}{FW} \right) \times 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

سرعت رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه نیز پس از آخرین مرحله اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و ریشه‌چه توسط رابطه ۳ محاسبه گردید. که در آن GR سرعت رشد، L_i طول ساقه-چه یا ریشه‌چه در روز اندازه‌گیری و D_i تعداد روز از ابتدای کشت می‌باشد.

$$GR = \sum \frac{Li}{Di} \quad \text{رابطه (۳)}$$

برای تجزیه آماری تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹، ضریب تشابه ژنتیکی و رسم نمودار

به‌منظور تعیین درصد جوانه‌زنی در هر پتری تعداد بذور جوانه‌زده (با ۲ میلی‌متر رشد ریشه‌چه) در آخرین روز آزمایش شمارش شد و شمارش تا روز چهاردهم، زمانی که افزایشی در تعداد بذور جوانه‌زده مشاهده نشده و به مدت سه روز متوالی تعداد بذور جوانه‌زده در هر پتری دیش ثابت ماند، ادامه یافت. در نهایت درصد بذورهای جوانه‌زده از تقسیم کردن تعداد بذورهای جوانه‌زده بر کل بذورهای هر پتری محاسبه گردید. در اندازه-گیری رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه، هر یک از بذور جوانه‌زده از پتری خارج و توسط کولیس طول ریشه‌چه و ساقه‌چه آن‌ها در بازه زمانی هر سه روز و به‌مدت سه مرتبه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک و تر، ساقه‌چه و ریشه‌چه جدا و وزن آن‌ها به‌طور جداگانه اندازه‌گیری شد. به‌منظور تعیین وزن خشک هر کدام داخل فویل قرار گرفته و به‌مدت ۴۸ ساعت در داخل آون با درجه حرارت ۸۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. همچنین بعد از رشد کافی گیاهچه‌ها، در روز دوازدهم طول ساقه‌چه و ریشه‌چه از هر پتری دیش اندازه‌گیری شد و با درصد جوانه‌زنی و میانگین طول کلی گیاهچه‌ها،

بهترین روش گروه‌بندی از بین روش‌های مورد بررسی بود. گروه‌بندی بر اساس ضریب تشابه با ترسیم خط برش در فاصله ۰/۴۵، ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه را در سه کلاستر قرار داد (شکل ۳). گروه‌های یک تا سه به ترتیب شامل ۵، ۳ و ۲ ژنوتیپ بودند. آغازگرهای مورد استفاده توانستند ژنوتیپ‌ها را به خوبی از هم جدا و بازشناسی کنند. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر ۹۰ درصد برآورد شد. به این ترتیب می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تابع تشخیص تقسیم ژنوتیپ‌ها در سه گروه به وسیله تجزیه خوشه‌ای را تأیید می‌نماید.

بر اساس آغازگرهای بررسی شده، ژنوتیپ‌های SLM046 و Zabol-9، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۷۴، SLM046 و Zabol-9، Cooper و Zabol-9، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۷۳، همچنین Zarfam و Sarigol، RGS003 و Hyola308، RGS003 و Zabol-9، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۷۱، به ترتیب بیش‌ترین قرابت ژنتیکی را داشتند. با توجه به مقادیر تشابه بین ارقام می‌توان نتیجه‌گیری کرد ژنوتیپ‌هایی که بیش-ترین تشابه را دارند احتمالاً دارای عکس‌العمل مشابهی به شرایط محیطی باشند.

ژنوتیپ‌های Zabol-16 و Sarigol، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۴، Sarigol و Hyola308، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۴۷، Hyola308 و Okapi، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۴۸، Okapi و Zabol-16، همچنین Hyola401 و Sarigol، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۵۱ و Okapi و Zabol-9، با ضریب تشابه ژنتیکی ۰/۵۲، به ترتیب کم‌ترین شباهت ژنتیکی را از نظر نشانگرهای مورد بررسی داشتند. نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد در گروه اول ژنوتیپ‌های Zabol-16، Zabol-9، SLM046، Cooper، Hyola401 و Hyola308 شامل RGS003 و Zarfam و گروه سوم شامل ژنوتیپ‌های Sarigol و Okapi می‌باشد (شکل ۲).

خوشه‌ای با استفاده از نرم‌افزار GenStat نسخه ۱۲ و از تجزیه تابع تشخیص برای بررسی صحت گروه‌بندی به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. تجزیه‌تابع تشخیص و تجزیه به عامل‌ها به روش مؤلفه‌های اصلی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گردید، نام‌گذاری مؤلفه‌ها با توجه به صفاتی که بیش‌ترین ضریب عاملی را از نظر قدرمطلق دارا بودند، صورت گرفت. به‌منظور گروه‌بندی تیمارهای مورد ارزیابی، با رسم نمودار دوگانه بر اساس مؤلفه اول و دوم، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گروه‌بندی و لاین‌های مناسب بر مبنای موقعیت قرارگیری آن‌ها در نمودار تعیین شدند، به این ترتیب که ابتدا مقادیر عددی مؤلفه اول و دوم حاصل از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در هر یک از تیمارهای مورد بررسی، برآورد گردید و با رسم نمودار دیاگرام پراکنش این دو مؤلفه، موقعیت هر ژنوتیپ در محور مختصات دوبعدی به‌دست آمد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بر اساس طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی نشان داد تفاوت معنی‌داری در بین ژنوتیپ‌ها، سطوح تنش و اثر متقابل ژنوتیپ × تنش برای صفات مطالعه شده در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. وجود اثر متقابل معنی‌دار ژنوتیپ × تنش نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌ها واکنش متفاوتی در سطوح مختلف تنش داشتند.

در این پژوهش با استفاده از ۱۹ ترکیب آغازگری در مجموع امتیازدهی ۱۰۲ نوار را نتیجه داد که از بین آن‌ها ۸۵ نوار چندشکل بودند (جدول ۲) و میانگین مکان‌های چندشکل به ازای هر آغازگر معادل ۴/۴۷ به‌دست آمده است. درصد چندشکلی به‌دست آمده برای آغازگرهای UBC8736، UBC807، TOS2، TOS1+UBC827، TOS3+UBC807 و TOS3+UBC808 صد در صد و برای آغازگرهای TOS 1، TOS2+UBC827 با ۵۰ درصد و ترکیب آغازگری TOS2+UBC808 با ۶۰ درصد کم‌ترین میزان چندشکلی مشاهده شد.

تجزیه خوشه‌ای به روش‌های مختلف و اندازه‌گیری سه ضریب تشابه تطابق ساده، جاکارد و دایس، نشان داد که گروه‌بندی بر اساس ضریب جاکارد و روش پیوستگی کامل^۱

^۱ Complete Linkage

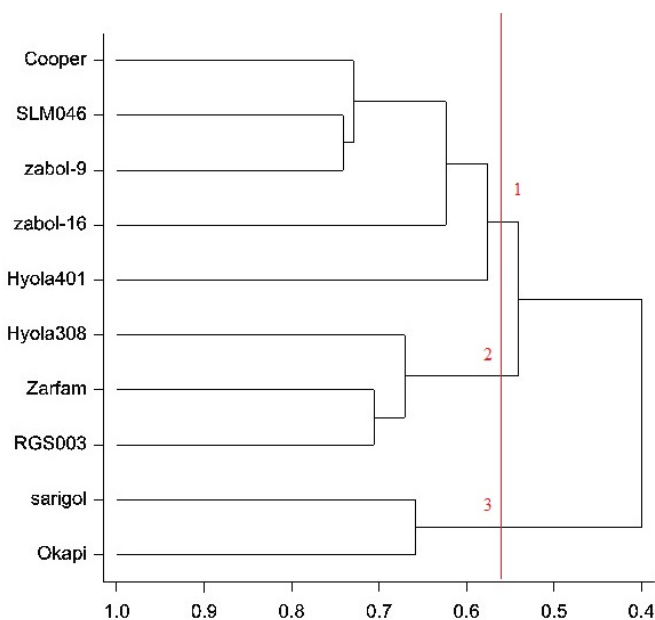
جدول ۳- ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد ژنوتیپ‌های کلزا براساس نشانگرهای ISSR و IRAP

Table 3. Jaccard similarity coefficients of canola genotypes based on ISSR and IRAP markers

	Cooper	Sarigol	Hyola401	Hyola308	Zarfam	SLM046	RGS003	Okapi	Zabol-9	Zabol-16
Cooper	1.00									
Sarigol	0.61	1.00								
Hyola401	0.66	0.51	1.00							
Hyola308	0.58	0.47	0.56	1.00						
Zarfam	0.69	0.71	0.64	0.67	1.00					
SLM046	0.73	0.65	0.58	0.54	0.68	1.00				
RGS003	0.61	0.58	0.60	0.71	0.71	0.58	1.00			
Okapi	0.55	0.66	0.61	0.48	0.67	0.54	0.54	1.00		
Zabol-9	0.73	0.58	0.60	0.59	0.66	0.74	0.65	0.52	1.00	
Zabol-16	0.62	0.40	0.59	0.62	0.60	0.68	0.61	0.51	0.71	1.00

مقایسه قرار گرفت. از آن جایی که روش UPGMA با روش فاصله اقلیدوسی بهترین نتیجه را در گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ارائه داد، بنابراین تنها نتایج این روش گزارش گردید (شکل ۲).

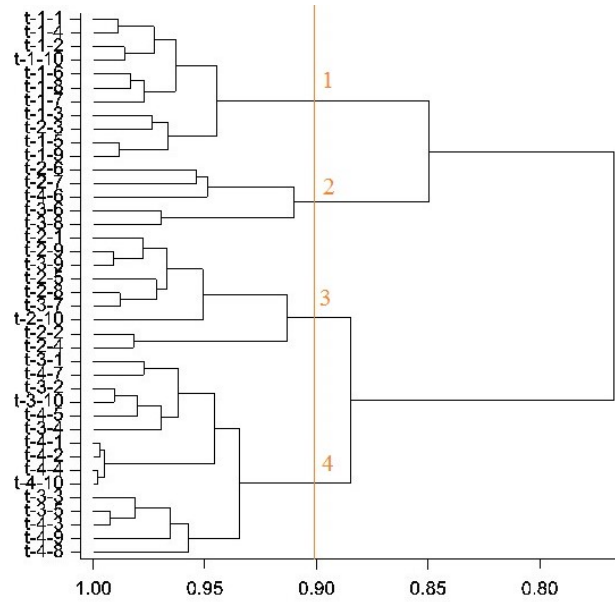
برای این که ایده‌ای از میزان شباهت‌ها و تفاوت‌های بین ۱۰ ژنوتیپ مورد مطالعه از نظر صفات اندازه‌گیری شده در چهار سطح تنش به دست آید، تجزیه خوشه‌ای به روش‌های مختلف انجام شد و گروه‌بندی حاصل از آن‌ها مورد



شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای تیمارهای کلزا با استفاده از معیار ضریب تشابه جاکارد و روش پیوستگی کامل
Figure 1. Cluster analysis of canola genotypes using Jaccard similarity coefficient and Complete Linkage method

تشخیص کانونی به روش خطی فیشر ۹۵ درصد بود (جدول ۲).

با برش دندروگرام در ناحیه ۰/۹، چهار گروه ایجاد گردید که به ترتیب ۱۱، ۵، ۹ و ۱۵ تیمار را در بر گرفت. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تابع



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای تیمارهای کلزا با استفاده از معیار فاصله اقلیدوسی و روش UPGMA (عدد اول تیمار تنش ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب شاهد، -۴، -۱۰ و -۱۲) و عدد دوم، شماره ژنوتیپ که نام آن‌ها در جدول ۱ آمده است.)
Figure 2. Cluster analysis of canola genotypes based on Euclidean distance with UPGMA method

بررسی گروه‌های حاصل براساس انحراف میانگین هر گروه از میانگین کل نشان داد که بیش‌ترین طول ساقچه در اندازه‌گیری اول تا سوم، وزن تر ساقچه، ضریب آلومتریک، اختلاف وزن تر و خشک ساقچه، درصد آب بافت ریشه‌چه و ساقچه و کم‌ترین سرعت رشد ریشه‌چه را دارا بودند (فایل ضمیمه). صفات وزن خشک ساقچه و ریشه‌چه در سطح پایین‌تر از میانگین کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و از لحاظ سایر صفات، دارای ارزش‌های بالاتر بودند. در این گروه همه ژنوتیپ‌های تیمار شاهد در یک خوشه قرار گرفتند که این نشان می‌دهد که جوانه‌زنی بذور کلزا ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در وضعیت شاهد هماهنگ خواهد بود. همچنین قرار گرفتن تیمار ۴ درصد ژنوتیپ Hyola401 همراه با شاهد بیانگر این موضوع می‌باشد که تیمار تنش ۴ درصد PEG روی جوانه‌زنی آن تأثیر نداشته است. برخی از منابع ضریب آلومتریکی را نمایانگر نوعی از تحمل به تنش‌ها یاد نموده‌اند. اگرچه نسبت بین قسمت‌های هوایی و ریشه تحت کنترل ژنتیکی است، ولی به‌طور شدیدی تحت تأثیر محیط هم قرار می‌گیرد (Hosseini *et al*, 2000). بنابراین بالا بودن این شاخص نیز می‌تواند تحمل به تنش خشکی را نشان دهد.

در گروه اول همه ژنوتیپ‌های مربوط به تیمار شاهد همراه با تیمار ۴ درصد ژنوتیپ Hyola401، گروه دوم شامل تیمار ۴، ۱۰ و ۱۲ درصد ژنوتیپ SLM046، تیمار ۴ درصد ژنوتیپ RGS003 و تیمار ۱۰ درصد ژنوتیپ‌های Okapy، در گروه سوم تیمار ۴ درصد ژنوتیپ‌های Cooper، Hyola308، Okapi، sarigol، Zabol-16، Zabol-9 و Zarfam و تیمار ۱۰ درصد ژنوتیپ‌های RGS003 و Zabol-9 و در گروه چهارم تیمارهای ۱۰ و ۱۲ درصد مربوط به ژنوتیپ‌های Cooper، Hyola308، Zarfam، Zabol-16، Sarigol، Hyola401 و تیمار ۱۲ درصد مربوط به ژنوتیپ‌های Okapi، RGS003 و Zabol-9 قرار داشتند.

بر اساس دندروگرام ژنوتیپ‌های تیمار شاهد در یک خوشه قرار گرفتند که این نشان می‌دهد که عکس‌العمل ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال یکسان بود. در خوشه دوم سه تیمار تنش ۴، ۱۰ و ۱۲ درصد ژنوتیپ SLM046 کنار یکدیگر قرار گرفته بودند که نشان دهنده شباهت عکس‌العمل آن در تیمارهای تنش متفاوت است و می‌توان اظهار داشت در سطوح مختلف تنش ژنوتیپ SLM046 عکس‌العمل آن یکسان است.

در خوشه دوم بیش‌ترین طول ریشه‌چه در اندازه‌گیری اول تا سوم، وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، سرعت رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه، اختلاف وزن تر و خشک ریشه‌چه و شاخص بنیه و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به ژنوتیپ‌های این گروه بود. سایر صفات در سطح بالاتر از میانگین کل تیمارهای مورد مطالعه قرار داشتند. بنابراین تیمارهایی که در این گروه قرار دارند را می‌توان به‌عنوان ژنوتیپ متحمل خشکی در مرحله جوانه‌زنی معرفی نمود. با قرارگرفتن تیمارهای مختلف ژنوتیپ SLM046 در این خوشه می‌توان آن را به‌عنوان ژنوتیپ مقاوم معرفی کرد.

در خوشه سوم، بیش‌ترین سرعت رشد ریشه‌چه و درصد جوانه‌زنی و صفات طول ساقه‌چه در اندازه‌گیری اول تا سوم، وزن تر ساقه‌چه، ضریب آلومتریک، اختلاف وزن تر و خشک ساقه‌چه و درصد آب بافت ریشه‌چه در سطح پایین‌تر از میانگین کل ژنوتیپ‌های مورد مطالعه قرار داشت، اما این گروه از لحاظ سایر صفات مورد مطالعه ارزش‌های بالاتری از میانگین کل ژنوتیپ‌ها داشت. در خوشه چهارم صفات سرعت رشد ریشه‌چه و درصد جوانه‌زنی در سطح بالاتر از میانگین کل تیمارهای مورد مطالعه داشتند و از نظر سایر صفات کم‌ترین مقدار را به خود اختصاص داد. از آن‌جائی‌که تیمارهایی که در این خوشه قرار گرفته‌اند از نظر اکثر دارای کم‌ترین میزان هستند نشان می‌دهد که در اثر تنش PEG خصوصیات جوانه‌زنی این ژنوتیپ‌ها کاهش یافته است. به‌طورکلی می‌توان اظهار داشت ژنوتیپ‌های گروه سه و چهار ژنوتیپ‌های حساس به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی می‌باشند.

بر اساس نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تعداد سه مؤلفه اصلی و مستقل با مقادیر ویژه بیش از یک استخراج شدند. این مؤلفه‌ها پس از چرخش توانستند ۸۸/۳۰۹ درصد از تنوع کل داده‌ها را توجیه نمایند. واریانس مشترک مؤلفه‌ها، بار مؤلفه‌های دوران‌یافته، واریانس توجیهی هر مؤلفه، واریانس تجمعی توجیه شده و ریشه مشخصه حاصل از تجزیه به مؤلفه‌ها در جدول ۴ نشان داده شده است.

بالا بودن واریانس مشترک اکثر صفات نشان‌دهنده انتخاب مناسب تعداد مؤلفه‌ها می‌باشد، زیرا واریانس مشترک در حقیقت قسمتی از واریانس یک متغیر است

که به مؤلفه‌های مشترک مرتبط می‌باشد و بالا بودن آن، دقت بالای برآورد واریانس متغیر را نمایش می‌دهد. سرعت رشد ساقه و درصد جوانه‌زنی صفاتی بودند که به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین سهم را در واریانس مشترک مؤلفه‌های استخراج شده دارا بودند. سهم هر یک مؤلفه‌های یک تا چهار پس از دوران به ترتیب ۴۸/۴۸، ۳۰/۵۵ و ۹/۸۲ درصد بود. به‌طورکلی در این ارزیابی، صفات با ضرایب مؤلفه بالای ۰/۵ به‌عنوان ضرایب معنی‌دار و مؤثر در مدل در نظر گرفته شدند.

در مؤلفه اول طول ساقه‌چه در اندازه‌گیری اول تا سوم، وزن تر ساقه‌چه، ضریب آلومتریک، اختلاف وزن تر و خشک ساقه‌چه، درصد آب بافت ریشه‌چه و ساقه‌چه ضرایب مثبت و بالایی را به خود اختصاص دادند، بنابراین مؤلفه اول به‌عنوان ساقه‌چه نام‌گذاری گردید، ضرایب بالای صفات مذکور نشان می‌دهد که این صفات در این مؤلفه دارای بالاترین میزان تنوع بوده و سایر صفات دارای تنوع کم‌تری هستند. بنابراین انتخاب جهت بهبود یا افزایش این صفات در این مؤلفه کارآیی خواهد داشت. مؤلفه دوم با ضرایب مثبت و معنی‌دار، طول ریشه‌چه در اندازه‌گیری اول تا سوم، وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه، سرعت رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه، اختلاف وزن تر و خشک ریشه‌چه و شاخص بنیه به‌عنوان مؤلفه ریشه‌چه نام‌گذاری گردید. در این مؤلفه صفات مذکور دارای بالاترین میزان تنوع بوده و گزینش لاین‌ها براساس آن‌ها می‌تواند مفید واقع شود. در مؤلفه سوم وزن خشک ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی دارای ضرایب معنی‌دار بودند، این مؤلفه به‌عنوان مؤلفه درصد جوانه‌زنی نام‌گذاری گردید. جهت تأیید نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی اعتبارسنجی داده‌ها نیز انجام شد، به این طریق که ژنوتیپ‌ها ابتدا به دو گروه تصادفی تقسیم شد و در هر گروه تجزیه به مؤلفه‌ها صورت گرفت، نتایج حاصل از هر دو گروه از نظر مؤلفه‌هایی که صفات را گروه‌بندی کردند یکسان بود.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، علاوه بر تفسیر ضرایب همبستگی و گروه‌بندی صفات در قالب مؤلفه‌های مشترک، به‌منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های کلزا مورد بررسی استفاده گردید. پراکنش دوگانه بر اساس مؤلفه‌های اول (مؤلفه ساقه‌چه) و دوم (مؤلفه ریشه‌چه) در شکل ۳ ارائه شده است.

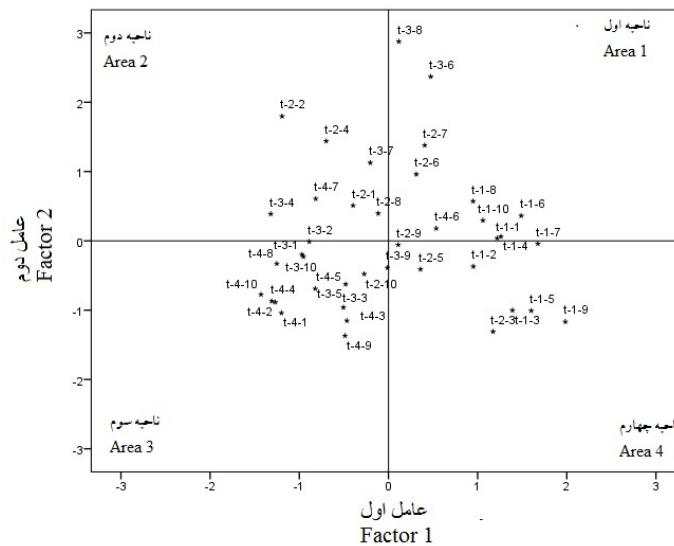
جدول ۴- نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی برای کلیه صفات در تیمارهای مختلف کلزا

Table 4. Result of principal component analysis for all characteristics in different treatments of canola

Characteristics	صفات	مولفه‌ها components			واریانس مشترک Communality
		1	2	3	
Radicle length in the first measurement	طول ریشه‌چه در اندازه‌گیری اول	0.456	<u>0.866</u>	0.071	0.963
Radicle length in the second measurement	طول ریشه‌چه در اندازه‌گیری دوم	0.423	<u>0.886</u>	0.056	0.967
Radicle length in the third measurement	طول ریشه‌چه در اندازه‌گیری سوم	0.458	<u>0.868</u>	0.078	0.97
Shoot length in the first measurement	طول ساقه‌چه در اندازه‌گیری اول	<u>0.966</u>	0.111	0.072	0.95
Shoot length in the first measurement	طول ساقه‌چه در اندازه‌گیری دوم	<u>0.967</u>	0.102	0.099	0.956
Shoot length in the first measurement	طول ساقه‌چه در اندازه‌گیری سوم	<u>0.971</u>	0.122	0.077	0.964
Radicle fresh weight	وزن تر ریشه‌چه	0.480	<u>0.763</u>	0.132	0.83
Shoot fresh weight	وزن تر ساقه‌چه	<u>0.955</u>	0.113	0.065	0.929
Radicle dry weight	وزن خشک ریشه‌چه	-0.312	<u>0.672</u>	0.455	0.756
Shoot dry weight	وزن خشک ساقه‌چه	0.06	0.163	<u>0.837</u>	0.73
Radicle growth rate	سرعت رشد ریشه‌چه	-0.545	<u>0.701</u>	-0.224	0.838
Shoot growth rate	سرعت رشد ساقه‌چه	0.448	<u>0.876</u>	0.068	.972
Allometric coefficient	ضریب آلومتریک	<u>0.97</u>	0.111	0.082	0.959
Germination percentage	درصد جوانه‌زنی	-0.255	-0.113	<u>-0.804</u>	0.724
Difference of fresh and dry weight of radicle	اختلاف وزن تر و خشک ریشه‌چه	0.542	<u>0.718</u>	0.083	0.816
Difference of fresh and dry weight of shoot	اختلاف وزن تر و خشک ساقه‌چه	<u>0.957</u>	0.108	0.036	0.929
Radicle tissue water percentage	درصد آب بافت ریشه‌چه	<u>0.825</u>	0.177	-0.208	0.756
Shoot tissue water percentage	درصد آب بافت ساقه‌چه	<u>0.869</u>	0.271	-0.023	0.829
Vigor index	شاخص بنیه	0.640	<u>0.7</u>	-0.2	0.940
Relative variance	واریانس نسبی	48.48	30.55	9.277	
Cumulative variance (%)	درصد تجمعی واریانس	48.48	79.03	88.309	
Eigen value	ریشه مشخصه	9.21	5.8	1.76	

منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها تحت شرایط تنش گزارش شده است (Farshadfar *et al.*, 2001; Golabadi *et al.*, 2009; Jajarmi, 2006). نتایج بررسی تعداد ۳۲ ژنوتیپ کلزا در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار از نظر تحمل به تنش خشکی از طریق شاخص‌های مرحله جوانه زنی در آزمایشگاه، نشان داد که اثر ژنوتیپ، سطح تنش و اثر متقابل آن‌ها برای تمام شاخص‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. آن‌ها اظهار داشتند که پراکنش ارقام براساس دو مؤلفه اول (به ترتیب مؤلفه توان جوانه‌زنی و مؤلفه رشد گیاهچه) نشان از تنوع بالایی بین ارقام براساس جمیع صفات اندازه‌گیری شده تحت شرایط تنش خشکی است (Majidi, 2012).

از آنجایی که مقادیر بالای صفات مربوط به ساقه‌چه و ریشه‌چه مطلوب محسوب شده، ژنوتیپ‌هایی که مقادیر بالای صفات مربوط به مؤلفه اول و دوم را دارا بودند، مطلوب هستند. بنابراین ناحیه مطلوب ناحیه اول خواهد بود و تیمارهای مربوط ژنوتیپ‌های که در این ناحیه قرار دارند، ژنوتیپ‌های با عکس‌العمل مطلوب نسبت به تنش خشکی می‌باشند و می‌توان آن‌ها را به‌عنوان ژنوتیپ متحمل در مرحله جوانه‌زنی معرفی نمود و ژنوتیپ‌های مربوط به تیمارهای موجود در ناحیه سوم از نظر عکس‌العمل به تنش خشکی ضعیف‌ترین ژنوتیپ‌ها و در ناحیه نامطلوب قرار داشتند. استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و ترسیم دیاگرام پراکنش در مطالعات دیگر نیز به



شکل ۳- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تیمارهای کلزا بر اساس مؤلفه‌های اول (ساقه‌چه) و دوم (ریشه‌چه)
Figure 3. Scatter plot of canola based on first (plumule) and second factors (radicle) in factor analysis method

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از نشانگرهای ISSR به دلیل عدم نیاز به اطلاعات قبلی در مورد توالی‌های هدف در مقایسه با نشانگرهای SSR آسان است و می‌تواند به‌طور موثر جهت مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های کلزا استفاده شوند و اطلاعات ژنتیکی به‌دست آمده از نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های اصلاحی نقش مهمی را ایفا می‌کنند. بالا بودن درصد پلی‌مورفیسم UBC8736، UBC807، TOS 2 و آغازگرهای ترکیبی TOS1+UBC827، TOS3+UBC807 و TOS3+UBC808 نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگرها در تمایز ژنوتیپ‌های کلزا در این تحقیق بود و می‌توان از این آغازگرها در بررسی تنوع ژنتیکی کلزا در آینده استفاده نمود. در این پژوهش میزان اشتراک اکثر صفات بالا بود که این امر نشان‌دهنده انتخاب مناسب تعداد مؤلفه می‌باشد، زیرا میزان اشتراک در حقیقت قسمتی از واریانس یک متغیر است که به مؤلفه‌های مشترک مرتبط بوده و بالا بودن آن، دقت بالای برآورد واریانس متغیر را نمایش می‌دهد. در این پژوهش ناحیه مطلوب ناحیه اول بود و تیمارهای مربوط ژنوتیپ‌های که در این ناحیه قرار داشتند، ژنوتیپ‌های با عکس‌العمل مطلوب نسبت به تنش خشکی می‌باشند و می‌توان آن‌ها را به‌عنوان ژنوتیپ متحمل در مرحله جوانی‌زنی معرفی نمود. با توجه به این‌که تیمارهای

در مطالعه‌ای دیگر بین ژنوتیپ‌های کلزا مورد مطالعه تنوع قابل ملاحظه‌ای از نظر تحمل به تنش خشکی براساس صفات و شاخص‌های مرحله جوانه‌زنی وجود داشت که آن‌ها می‌تواند برای بهبود این ویژگی در کلزا مورد استفاده قرار گیرد. همچنین بیان کردند ارقام متحمل معرفی شده می‌توانند برای مطالعات آبی و نیز به‌منظور بررسی ارتباط بین واکنش به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی و بلوغ مورد استفاده قرار گیرند (Kamkar et al., 2008).

نتایج اثر تنش خشکی بر ۶ ژنوتیپ کلزا و تحت سه تیمار خشکی در طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار در شرایط آزمایشگاه، نشان داد که تأثیر بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ، سطوح تنش و اثر متقابل آن‌ها بجز اثر متقابل میزان جوانه‌زنی و ضریب سرعت جوانه‌زنی وجود دارد. با افزایش سطوح خشکی در کلیه صفات روند کاهش مشاهده شد، ولی این کاهش در ژنوتیپ و صفات مختلف متفاوت بود. همچنین نتایج آزمایش آن‌ها مشخص کرد که در شرایط تنش خشکی، سرعت جوانه‌زنی کاهش بیشتری نسبت به بقیه صفات دارد و با توجه به این‌که سرعت جوانه‌زنی در کیفیت بذر و یکنواختی جوانه‌زنی تأثیر دارد (Andalibi et al., 2005).

یافته است. به‌طور کلی تجزیه به مؤلفه‌های اصلی گروه-بندی ژنوتیپ‌ها و پراکنش را فقط بر اساس برخی از صفات انجام می‌دهد و اگر هدف گروه‌بندی افراد بر اساس صفات موردنظر باشد، می‌توان از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده نمود، اما گر بخواهیم تنوع بین افراد را با در نظر گرفتن کلیه صفات بررسی کنیم، تجزیه خوشه‌ای توانایی گروه‌بندی افراد را دارد. در این مطالعه مقایسه ژنوتیپ موجود در گروه‌های تجزیه خوشه‌ای و تیمارهای که در دیاگرام پراکنش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی طبقه‌بندی شدند، تا حدی همدیگر را تأیید می‌نماید.

مختلف ژنوتیپ SLM046 در ناحیه اول نمودار دیاگرام پراکنش قرار گرفت و همچنین نتایج تجزیه خوشه‌ای داده‌های جوانه‌زنی نشان داد، در خوشه دوم تیمارهای تنشی ژنوتیپ SLM046 کنار یکدیگر قرار گرفت که این امر نشان‌دهنده تشابه عکس‌العمل آن به خشکی می‌تواند باشد، می‌توان اظهار داشت عکس‌العمل ژنوتیپ SLM046 در سطوح مختلف تنشی یکسان است و می‌توان این ژنوتیپ را به‌عنوان ژنوتیپ متحمل معرفی کرد. تیمارهای که در خوشه چهارم قرار گرفته‌اند از نظر اکثر دارای کم‌ترین میزان هستند، نشان می‌دهد که در اثر تنش PEG خصوصیات جوانه‌زنی این ژنوتیپ‌ها کاهش

منابع

- Abdelmigid, H.M. 2014. Efficiency of random amplified polymorphic DNA (RAPD) and inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for genotype fingerprinting and genetic diversity studies in canola (*Brassica napus* L.). African Journal of Biotechnology, 11: 6409-6419. **(Journal)**
- Akbari, G.A. and Abadi, M.R.L.H. 2007. Investigation of seed vigor and germination of canola cultivars under less irrigation in padding stage and after it. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10: 2880-2884. **(Journal)**
- Andalibi, B., Zangani, E. and Haghazari, A. 2005. Effects of water stress on germination indices in six rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.). Iranian Journal of Agricultural Sciences 36: 457-463. (In Persian)**(Journal)**
- Bybordi, A. 2012. Effect of different ratios of nitrate and ammonium on photosynthesis and fatty acid composition of canola under saline conditions. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 4: 622-626. **(Journal)**
- Chaves, M.M., Maroco, J.P. and Pereira, J.S. 2003. Understanding plant responses to drought from genes to the whole plant. Functional Plant Biology, 30: 239-264. **(Journal)**
- Farshadfar, E., Zamani, M., Motallebi, M. and Imamjomeh, A., 2001. Selection for drought resistance in chickpea lines. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 32: 65-77. **(Journal)**
- Golabadi, M., Arzani, A. and Maibody, S.M. 2006. Assessment of drought tolerance in segregating populations in durum wheat. African Journal of Agricultural Research, 1: 162-171. **(Journal)**
- Hosseini, F., Gharine, M.H., Bakhshande, A.A., Fathi, G.A. and Shirin, M. 2000. Study of Sodium seed Effects on germination and germination Components of five Canola genotype *Brassica napus* in vitro. Abstracts of the 1th National Conference on Science and Technology of Iran seed. University of Gorgan. (In Persian)
- Huzsvai, L. and Rajkai, K. 2009. Modeling of plant adaptation to climatic drought induced water deficit. Biologia, 64: 536-540. **(Journal)**
- Jajarmi, V. 2009. Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. World Academ. Sci. Eng. Technol, 49: 105-106. (In Persian)**(Journal)**
- Johnson, B., Schneiter, A., McKay, K., Hanson, B. and Schatz, B. 1995. Influence of planting date on canola and crambe production. Journal of Production Agriculture, 8: 594-599. **(Journal)**
- Kamkar, B., Ghaffari, H. and Entesari, M. 2008. The Study of Temperature and Salinity Effects on germination Components of Canola Cultivars, Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 15: 1-12. (In Persian)**(Journal)**
- Majidi, M.M. 2012. Identification of Canola Cultivars for Drought Tolerance in Germination and Seedling Growth Stages Using Principal Component Analysis. Journal of Crop Production and Processing, 2(4): 41-52. (In Persian)**(Journal)**

- Naghavi, M.R., Khalili, M. and Aboughadareh, A.P. 2015. Effect of water deficit stress on yield and yield components of canola (*Brassica napus* L.) cultivars. International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 7: 8-13. **(Journal)**
- Nielsen, D.C. 1997. Water use and yield of canola under dryland. Journal of Production Agriculture, 10: 213. **(Journal)**
- Safari, S., Mehrabi, A.A. and Safari, Z. 2013. Efficiency of RAPD and ISSR markers in assessment of genetic diversity in *Brassica napus* genotypes. International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 5: 273-279. **(Journal)**
- Saghai-Marooif, M.A., Soleiman, K., Jorgensen, R.A. and Allard, R.W. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proceedings of the National Academy of Sciences, 81: 8014-8018. **(Journal)**
- Paulsen, G.M. 1987. Wheat stand establishment. Wheat and Wheat Improvement, 384-389. **(Journal)**

Grouping of some canola genotypes in various drought stress treatment in Germination Stages based on multivariate statistical methods

Mohammad Mohsenzadeh Golfazani¹, Faegheh Mohammad², Seyed Hasan Hasani Kumleh³,
Habibollah Samizadeh Lahiji^{*4}

Received: April 14, 2016

Accepted: June 12, 2016

Abstract

This study was conducted to grouping of 10 genotypes of canola via ISSR and IRAP markers and genotype resistance to drought. Eighty five polymorphic bands were produced using 19 individuals and combinations of ISSR and IRAP, and polymorphism varied between 50 to 100. Cluster analysis with UPGMA method placed the 10 genotypes in tree cluster, which includes 5, 3 and 2 respectively. Cluster analysis of germination results based on Euclidean distance with UPGMA method assigned treatment in four different groups consists of 11, 5, 9, and 15 genotypes respectively. Fisher's linear Discriminant Function Analysis confirmed validity clustering analysis with 95%. The second group had the highest value, for most economical traits. SLM046 genotype could be introduced as resistant genotype by placing different treatments of its in one group. The fourth group included genotypes that had low value for most characteristics. Factor analysis results based on principal components showed that three factors named plumule, radicle and germination percentage, which determined 88.31 percent of total variation. First region was detected as good region on the base first and second factor evaluation. Genotypes in this area were favorable response to drought stress and could be introduced as resistant genotype at germination stage.

Key words: Diversity; Growth rate; Molecular marker; Osmotic potential; Polyethylene glycol

1. Ph.D candidate of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

2. Msc. of Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

3. Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

4. Assistant Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

*Corresponding author: hsamizadeh@guilan.ac.ir