

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

محرم ولی‌زاده<sup>۱\*</sup>، عبدالرضا باقری<sup>۲</sup>، جعفر ولی‌زاده<sup>۳</sup>، محمدحسین میرجلیلی<sup>۴</sup> و نسرین مشتاقی<sup>۵</sup>

<sup>۱\*</sup>- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، گروه گیاهان داروئی، دانشکده کشاورزی، مجتمع آموزش عالی سراوان، ایران

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

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

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

۴- استادیار، گروه زیست‌شناسی داروئی و مواد اولیه، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

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

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

### چکیده

گیاه پنیرباد (*Withania coagulans*), متعلق به خانواده سولاناسه، در زمرة گیاهان داروئی و چند منظوره‌ای است که در ایران برآکنش بسیار محدودی داشته و منحصرآ در برخی از رویشگاه‌های جنوب شرقی استان سیستان و بلوچستان پراکنش دارد. در این پژوهش، ۲۰ توده مختلف گیاه پنیرباد از رویشگاه‌های مختلف استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شده و تنوع زنگلی آنها براساس صفات مورفولوژیکی و با تجزیه آماری چند متغیره مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در صفات مورد بررسی بود ( $F_{0.05} < F$ ). در بین صفات مورد بررسی، تعداد شاخه جانبی و طول ریشه به ترتیب با ۸۲/۰ و ۲۸/۰ درصد، بیشترین و کمترین ضریب تنوع را نشان داد. در بین توده‌های مختلف مورد بررسی توده‌های منطقه پیگل و دامن از نظر اکثر صفات مورد بررسی بهتر از سایر توده‌ها بودند. نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نیز نشان داد که سه مؤلفه اول با مقادیر ویژه بیشتر از یک، جمعاً ۶۲/۸۲ درصد از کل تغییرات موجود بین توده‌ها را توجیه نمودند. تجزیه خوش‌های انجام شده به روش Ward و فاصله اقلیدسی، توده‌های مورد بررسی را در ۳ گروه طبقه‌بندی نمود. با توجه به نتایج گروه‌بندی، ارتباطی بین تنوع زنگلی و فاصله جغرافیائی توده‌ها مشاهده نگردید و این امر بیانگر تاثیر سایر عوامل به‌غیر از الگوی پراکنش جغرافیائی در تنوع زنگلی است. براساس نتایج این تحقیق، تنوع زنگلی قابل توجهی بین توده‌های پنیرباد موجود در کشور وجود دارد. استفاده از این اطلاعات در تدوین برنامه‌های حفاظت و بهنرآدی این گیاه می‌تواند مفید واقع شود.

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

پروستات و سلول‌های ملانوما گزارش شده است (Siriwardane *et al.*, 2013). ترکیب ویتافرین A می‌تواند در درمان اختلالات عصبی مانند آزالایم و پارکینسون نیز مورد استفاده قرار گیرد (Sangwan *et al.*, 2007). علاوه بر این، بهدلیل وجود پروتازهای منعقدکننده شیر در میوه‌ها، از این گیاه به طور سنتی در منطقه بلوچستان ایران و همچنین در کشورهایی مانند پاکستان و افغانستان در تولید پنیر استفاده می‌شود (Beigomi *et al.*, 2013). با توجه به بومی بودن گیاه داروئی پنیرباد در استان سیستان و بلوچستان و همچنین ظرفیت بالای این گیاه در استقرار و تحمل شرایط دشوار اکولوژیکی حاکم بر این منطقه به نظر می‌رسد که علاوه بر کاربرد آن در غنی‌سازی پوشش گیاهی منطقه که عامل قابل توجهی در راستای جلوگیری از جریان روان‌آهای مخرب و همچنین تثبیت شن‌های روان می‌باشد، بتوان از این گیاه در راستای اهدافی مانند صنایع داروئی و غذائی بهره گرفت.

ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی نه تنها مقدمه‌ای برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی بوده، بلکه به منظور دستیابی به تنوع اولیه برای افزایش کارآئی برنامه‌های اصلاحی نیز ضروری است (Esquinas Alcazar, 2005., Espahbodi *et al.*, 2006) ارزیابی‌ها معمولاً براساس نشانگرهای مورفو‌لوزیکی، بیوشیمیایی، سیتوژنتیکی و مولکولی انجام می‌گیرد (Farshadfar *et al.*, 2008).

هر کدام از این نشانگرها دارای معایب و مزایای خاص خود بوده و باید به موقع و مناسب از آنها استفاده گردد. اگرچه در برخی موارد نشانگرهای مولکولی در مطالعات تنوع ژنتیکی ترجیح داده می‌شوند، اما استفاده از نشانگرهای مورفو‌لوزیکی بهدلیل سهولت و کم‌هزینه بودن در ارزیابی‌های مقدماتی مناسب بوده و می‌توانند به عنوان رویکردی عمومی در بررسی تنوع ژنتیکی بین توده‌ها استفاده گرددن (Weising *et al.*, 2005).

استفاده از این ویژگی‌ها، توأم با بکارگیری روش‌های آنالیز آماری چند متغیره، مانند تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) و تجزیه خوش‌های، روش‌های مناسب برای غربال توده‌ها می‌باشد (Chalak *et al.* 2007; Sorkheh *et al.*, 2010).

## مقدمه

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

در طی سال‌های اخیر مطالعات گستره‌های در خصوص ویژگی‌های فارماکولوزیکی گونه پنیرباد انجام گرفته و مشخص شده که بسیاری از این ویژگی‌ها بهدلیل وجود گروهی از ترکیبات استروئیدی ۲۸ کربنی به نام ویتانولیدها در اندام‌های مختلف این گیاه است (Jain *et al.*, 2012., Uddin *et al.*, 2012). مهمترین انواع ویتانولیدهای موجود در این گونه، ویتافرین A (Withaferin A) و ویتانولید A (Withanolide A) و ویتانون (Withanon) می‌باشد. در تحقیقات انجام شده در طی سال‌های اخیر، اثرات ضد سرطانی ویتافرین A در خصوص طیف وسیعی از سلول‌های سرطانی منجمله سلول‌های سرطانی خون، سلول‌های سرطانی سینه،

پذیری گیاهچه‌های این گونه گیاهی، بذور توده‌های مختلف به صورت کشت مستقیم و در مهرماه سال ۱۳۹۰ در گلخانه تحقیقاتی مرکز پژوهشی گیاهان داروئی و زینتی دانشگاه سیستان و بلوچستان (عرض جغرافیائی  $27^{\circ} 29^{\prime}$  شمالی و طول جغرافیائی  $51^{\circ} 51^{\prime}$  شرقی و ارتفاع ۱۳۸۱ متر از سطح دریا)، در واحدهای آزمایشی متعدد از ۵ ردیف و با در نظر گرفتن فاصله ردیف‌ها یک متر و به صورت متراکم کشت شد. پس از کشت، بلافاصله آبیاری صورت گرفت. آبیاری تا مرحله ۳ تا ۴ برگی هر ۴ روز یکبار و به صورت غرقابی انجام گرفت و پس از این مرحله، فواصل دوره‌های آبیاری به یک هفتنه افزایش یافت. در مرحله ۳ تا ۴ برگی، بوته‌ها تنک و فاصله آنها در هر ردیف کشت، در حدود ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. با توجه به مناسب بودن خاک کرت‌های مورد استفاده و بازدیدهای مکرر و عدم وجود علائم کمبود عناصر غذائی و همچنین عدم مشاهده علائمی مبنی بر وجود آفات و بیماری‌ها، هیچ گونه اقدامی در خصوص مصرف کود و یا سم صورت نگرفت. کنترل علف‌های هرز نیز به صورت وجین دستی صورت گرفت. پس از گذشت حدود دو ماه از ظهور گیاهچه‌ها، با در نظر گرفتن دو ردیف کناری به عنوان حاشیه در هر واحد آزمایشی اقدام به جمع آوری داده‌ها گردید.

### ارزیابی صفات

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

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

### مواد و روش‌ها مواد گیاهی

در این پژوهش بذور ۲۰ توده مختلف گیاه داروئی پنیرباد در تابستان سال ۱۳۹۰ از رویشگاه‌های مختلف استان سیستان و بلوچستان جمع آوری گردید. با توجه به عدم نشاء

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

با مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی مشخص شد که توده‌ها در تمامی ویژگی‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌داری از خود نشان می‌دهند ( $p < 0.05$ ). با مراجعت به جدول ۲ مشاهده می‌شود که میانگین ارتفاع بوته در جمعیت‌های حاصل از توده‌های کوهک (۱)، سراوان (۶)، گشت (۷)، پیگل (۸)، لهباد (۱۸) و دامین (۲۱) با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته و در مقایسه با سایر توده‌ها بیشترین مقدار بوده است. در این میان کمترین ارتفاع بوته نیز در توده‌های سیاهکان، پیپ و سیرکان مشاهده شد (جدول ۳). از لحاظ تعداد شاخه‌های جانبی و عملکرد تر ریشه نیز دو توده پیگل و دامین بیشترین مقادیر را داشتند. با توجه به اهمیت عملکرد ریشه در این گیاه داروئی و با مراجعت به جدول ۳ مشاهده می‌شود که توده‌های دامین (۲۱) و هیدوچ (۵) از نظر عملکرد ریشه اختلاف معنی‌داری نداشته ( $p > 0.05$ ) و در مقایسه با سایر توده‌ها، به ترتیب با نظر وزن خشک تولید نمودند. از نظر عملکرد وزن تر ریشه نیز توده‌های پیگل، دامین و پسکوه بیشترین عملکرد در بوته را نشان دادند.

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

### تجزیه آماری داده‌ها

به منظور بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های مختلف پنیرباد، تجزیه واریانس مربوط به صفات مورفولوژیکی با استفاده از نرم‌افزارهای Statistica (Ver.8) و SPSS (Ver.21) صورت گرفت. به منظور حذف اثر مقیاس اندازه گیری صفات مختلف، تمامی داده‌ها قبل از تجزیه خوش‌های استاندارد گردید. برای مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی نیز از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد ( $p < 0.05$ ). برای گروه‌بندی توده‌های مورد بررسی نیز تجزیه خوش‌های به روش وارد با استفاده از فاصله اقلیدسی انجام گردید. روش چند متغیره تجزیه به عامل‌ها نیز با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و با انجام چرخش وریماکس انجام گرفت و در هر عامل اصلی و مستقل ضرایب عاملی بیشتر از یک معنی دار در نظر گرفته شدند. قبل از تحلیل عاملی نیز، شاخص KMO و آزمون بارتلت برای ارزیابی مناسب بودن داده‌ها برای تجزیه محاسبه گردید. از تجزیه دو بعدی نیز برای بدست آوردن تصویر پراکنش توده‌ها براساس نتایج تجزیه به عامل‌ها استفاده شد.

### نتایج

#### بررسی کلی صفات

ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاه چند منظوره پنیرباد

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

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

شاخص جانبی و طول ریشه با سایر صفات مورد بررسی مثبت و معنی دار بود. در این میان بیشترین همبستگی بین وزن خشک ریشه با وزن تر ریشه، وزن خشک برگ و تعداد برگ بود (جدول ۳). طول ریشه نیز به جز با وزن تر برگ ( $r=-0.36$ ) با سایر صفات مورد بررسی همبستگی معنی داری نداشت. بالاترین مقدار ضریب همبستگی بین وزن تر /خشک برگ و وزن تر /خشک اندام هوائی ( $r=0.99$ ) و حجم ریشه با وزن تر ریشه مشاهده گردید ( $r=0.99$ ). همچنین بین سطح برگ و وزن تر اندام هوائی همبستگی بالاتری مشاهده گردید ( $r=0.98$ ). ضرایب همبستگی صفات مختلف دیگر در جدول ۴ نشان داده شده است.

**تجزیه و تحلیل همبستگی بین صفات**  
برای بررسی و ردیابی وجود و یا عدم وجود رابطه خطی میان صفات مورد مطالعه، از ضرایب همبستگی پیرسون استفاده گردید (جدول ۳). با توجه به اهمیت ریشه از نظر وجود ترکیبات داروئی و استحصال ترکیب ویتافرین A، بررسی همبستگی صفات مختلف با عملکرد ریشه در راستای بهره برداری بهتر از در این گیاه از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. عملکرد تر ریشه با وزن خشک اندام هوائی و وزن خشک برگ همبستگی مثبت و قابل توجهی نشان داد ( $r=0.88$ ). همبستگی بین وزن خشک ریشه به جزء با صفات ارتفاع بوته، تعداد شاخه جانبی، طول

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه در ۲۰ توده مختلف گیاه داروئی پنیر باد (*Withania coagulans*)

نسبت ریشه	طول به ساقه	تعداد فرعی	حجم ریشه	وزن خشک	وزن تر	قطر ریشه	طول ریشه	سطح برگ	وزن خشک	وزن تر	تعداد برگ	وزن خشک	وزن تر اندام	تعداد گره	طول شاخه	تعداد شاخه	ارتفاع بوته	محل جمع آوری - کد توده
															جانبی	جانبی	جانبی	
۰./۲۷d-h	۱۴./۰۵a-c	۵./۱۰e	۱۰./۲۱c-f	۲/۳۶b-e	۱۱./۷۵b-e	۱/۱۰b-g	۲۹./۸۶a	۷۷۸./۴۰c-f	۴/۹۳b-e	۲۵/۲۲b-d	۶۳/۴۰b-e	۸/۳۳b-d	۵۲/۳b-d	۲۲/۴۰b-d	۶/۹۴b-f	۸/۲۰c-d	۴۲/۷۰a-c	کوهک- (۱)
۰./۲۲f-h	۱۴./۰۸a-c	۶./۶۰b-e	۶/۲۳f	۱/۱۶f	۷/۲۷e	۱/۰۴c-g	۲۶/۱۷a-e	۴۷۱./۷۹e-h	۳/۲۱d-e	۲۳/۱۰d-e	۶۱/۱۰b-e	۴/۹۲c-e	۳۲/۱۵c-e	۱۷/۶۰g	۶/۷۶b-f	۸/۳۰c-d	۲۹/۵۸g-h	اسفندک- (۲)
۰./۲۰c-f	۱۳./۷۵a-c	۵./۰۰e	۷/۱۶e-f	۱/۲۷e-f	۷/۷۲d-e	۰./۹۷f-g	۲۸./۸۰a-c	۴۱۰./۸۵e-h	۲/۷۴b-e	۱۷/۸۲b-d	۴۰./۰۵c-e	۴/۰۸d-e	۲۵/۸۹d-e	۱۷/۲۰g	۶/۴۹b-f	۴/۱۰d-f	۲۸/۳۵hi	سیرکان- (۳)
۰./۵۵b	۱۴./۰۵a-c	۶./۵۰c-e	۱۱./۰۲b-f	۲/۰۰b-c	۱۱./۶۲b-c	۱/۰۸b-g	۲۹./۴۳a-b	۴۶۴./۸۳e-h	۳/۵۵c-e	۲۱/۵۰d-e	۴۰./۰۳c-e	۵/۰۳b-e	۲۹./۰۲d-e	۱۸/۵۰g	۳/۸۷e-f	۲/۳۰e-f	۳۴/۰۵d-h	جالق- (۴)
۰./۷۷a	۱۲/۲۹c	۸/۰۵a-d	۱۲/۸۳b-e	۴/۳۸a	۱۳/۹۲b-d	۱/۰۳d-g	۲۹./۹۳a	۳۹۷./۳۶f-h	۳/۸۸b-e	۱۹/۲۵d-e	۳۷/۲۰d-e	۶/۰۸b-e	۲۶/۴۸d-e	۱۸/۸۰e-g	۲/۲۹f	۲/۲۰f	۳۳/۱۷e-h	هیدوج- (۵)
۰./۲۴e-h	۱۲/۸۷b-c	۵/۰۰e	۹/۰۵d-f	۱/۰۵e-f	۹/۹۶d-e	۱/۰۹b-g	۲۴/۹۶c-f	۵۰/۸/۰d-h	۳/۹۰b-e	۲۶/۴۸c-e	۴۲/۲۰b-e	۶/۳۴b-e	۳۸/۸۹b-e	۱۹/۰c-g	۵/۴۱c-f	۳/۴۰e-f	۴۲/۷۲a-c	سراوان- (۶)
۰./۲۱g-h	۱۳/۳۹b-c	۷/۳۰b-e	۱۱/۷۷b-f	۱/۱۸c-f	۱۲/۱۴b-e	۱/۰۲a-e	۲۴/۶۷c-f	۹۲۶/۵۰b-c	۰/۴۱b-d	۴۴/۱۶b-c	۶۴/۹۰b-e	۸/۶۲b-d	۶۴/۳۷b	۱۹/۲۰c-g	۱۱/۵۱a-b	۶/۵۰c-f	۴۰/۷۵a-d	گشت- (۷)
۰./۲۰h	۱۷/۰۸a	۹/۰۲a-b	۱۶/۱۱a-c	۳/۰۲b-c	۱۶/۹۱a-b	۱/۳۱a-b	۲۲/۰۵d-f	۱۴۷۴/۴۰a	۹/۱۰a	۶۷/۰۱a	۱۱۶/۴۰a	۱۵/۱۳a	۱۰۰/۱۰a	۲۲/۶۰b-c	۱۳/۲۰a	۴۵/۰۳a	پیگل- (۸)	
۰./۲۸c-g	۱۴/۴۳a-c	۶/۳۰c-e	۱۲/۳۱b-e	۲/۰۵b-f	۱۲/۸۶b-e	۱/۲۶a-c	۲۵/۳۲b-e	۷۳۹/۰c-g	۴/۰۲b-e	۳۲/۹۸b-e	۶۶/۲۰b-d	۷/۱۰b-e	۴۸/۲۶b-e	۲۱/۶b-f	۷/۲۸c-f	۶/۸۰c-e	۳۸/۵a-c	لهباد- (۱۸)
۰./۳۷c	۱۳/۱۶b-c	۷/۰۵b-e	۱۳/۰۹b-e	۲/۷۴b-d	۱۳/۸0b-d	۱/۲۲a-d	۲۵/۸۲a-e	۸۱۲/۴۰c-e	۰/۱۶b-d	۳۵/۱۱b-e	۶۶/۰۵b-d	۸/۲۰b-e	۵۲/۱۱b-d	۱۹/۸0c-g	۶/۸۸b-f	۵/۸۸c-f	۳۷/۸۷b-f	مجکور- (۱۹)
۰./۳۰c-f	۱۶/۲۶ab	۱۰/۰۲a	۲۰/۱۴a	۴/۵۱a	۲۱/۷۴a	۱/۲۹a-b	۲۵/۱۴b-f	۱۲۶۹/۸۶a-b	۹/۳۶a	۷۰/۶۳a	۱۴۰/۸0a	۱۵/۱۱a	۹۸/۰۱a	۲۶/۶۰a	۱۰/۰۱a-d	۱۲/۶۰a-b	۴۳/۷۰a-b	دامین- (۲۱)
۰./۳۲c-e	۱۰/۴۰a-c	۸/۰۸a-c	۱۴/۷۲a-d	۳/۰۲b-c	۱۵/۰۹b-c	۱/۲۶a-c	۲۶/۷۸a-d	۷۴۸/۰c-g	۰/۹۷b-c	۳۶/۱۵b-d	۷۷/۷۰b-c	۹/۴۳b-c	۵۲/۹۱b-d	۲۱/۸0b-f	۸/۰۱b-e	۷/۷۰c-e	۳۵/۶۲c-g	چاهشای- (۲۲)
۰./۴۸b	۱۳/۸۳a-c	۵/۰۰e	۸/۱۱e-f	۱/۸0d-f	۸/۳۹d-e	۰/۹۶g	۲۷/۹0a-c	۲۹۷/۶۶h	۲/۴۴e	۱۵/۰۸e	۲۶/۸0e	۳/۷۱e	۲۱/۴۹e	۱۷/۳۰g	۲/۸۹f	۲/۳۰f	۲۸/۲۰hi	پیپ- (۲۳)
۰./۳۰c-f	۱۰/۵۰a-c	۸/۰۲a-d	۱۱/۴۷b-f	۲/۳۶b-e	۱۲/۴۴b-e	۱/۲۰a-e	۲۷/۲۵a-d	۷۳۶/۱۰c-g	۰/۳۷b-d	۳۲/۸۱b-e	۶۴/۲۰b-e	۷/۹۲b-e	۴۸/۳۲b-e	۱۸/۹0d-g	۹/۸۲a-d	۷/۰۰c-e	۳۰/۸۷f-h	تنگه سرحد- (۲۴)
۰./۵۱b	۱۶/۱۴a-b	۸/۰۲c-e	۹/۴۵d-f	۲/۱۶b-f	۱۰/۲۰c-e	۰/۹۹e-g	۲۴/۵۰c-f	۳۵۸/۶۱g-h	۳/۰۲d-e	۱۹/۱۶b-d	۳۸/۶۰c-e	۴/۲۴d-e	۲۵/۶0d-e	۱۷/۵0g	۵/۲۵d-f	۲/۵0e-f	۲۲/۳۵i	سیاهکان- (۲۵)
۰./۳۰c-f	۱۲/۹۳b-c	۸/۰۲c-e	۱۴/۹0a-d	۲/۸۸b-d	۱۵/۰۸a-c	۱/۲۶a-c	۲۶/۶۸a-d	۹۲۹/۴۱b-c	۶/۴۴b	۴۶/۵۴b	۷۵/۰b-d	۱۰/۰۳b	۶۴/۹۹b	۱۹/۹0c-g	۱۰/۴۹a-c	۷/۲۰c-e	۳۶/۳۵c-g	دیگران- (۲۶)
۰./۳۶c	۱۵/۹۶a-b	۸/۰۰d-e	۱۴/۵۲b-d	۲/۹۸b-c	۱۴/۹۱b-c	۱/۱۹a-f	۲۷/۴۸a-d	۶۴۷/۵۲c-h	۰/۳۷b-d	۳۲/۶۲b-e	۸۰/۳۰b	۸/۳۵b-d	۴۷/۵۰b-e	۲۴/۷۰a-b	۷/۷۲b-e	۹/۱۰b-c	۳۶/۵0c-g	کارواندر- (۲۷)
۰./۲۲f-h	۱۳/۱۹b-c	۵/۱۰e	۹/۲۸d-f	۱/۴۸e-f	۹/۶۹c-e	۱/۱۳b-g	۲۱/۰۳f	۵۷۱/۴۳c-h	۳/۹۳b-e	۳۰/۶۷b-e	۴۶/۲۰b-e	۶/۲۸b-e	۴۲/۳۶b-e	۲۲/۱۰b-e	۵/۲۰d-f	۵/۷۰c-f	۳۸/۳۹a-e	ناهوك- (۲۸)
۰./۳۰c-f	۱۰/۲۷a-c	۸/۰۴a-d	۱۱/۰۲b-f	۲/۲۴b-f	۱۱/۳۶b-e	۱/۱۷b-g	۲۲/۱۶c-f	۶۰۵/۴۰c-h	۰/۱۰b-d	۳۲/۱۵b-e	۶۰/۱۰b-e	۷/۴۳b-e	۴۵/۱۴b-e	۲۰/۰۲c-g	۷/۳۲b-f	۶/۴۰c-f	۳۰/۹۰f-h	پسکوه- (۱۰۸)
۰./۳۵c-d	۱۱/۸0c	۸/۰۹a-c	۱۶/۳۷a-b	۲/۱۷b	۱۷/۳۵a-b	۱/۴۰a	۲۶/۱a-e	۸۹۱/۴۴c-d	۰/۹۶b-c	۴۲/۰۸b-c	۷۱/۰۰b-d	۹/۰۵b	۶۱/۲۱b-c	۲۲/۱۰b-e	۱۰/۶۵a-b	۶/۹۰c-e	۳۷/۱۵b-f	زابلي- (۱۰۹)

میانگین صفاتی که دارای حروف مشابه می باشند از نظر آماری معنی دار نمی باشند ( $p < 0.05$ )

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

### ادامہ جدول ۳ - ضرایب همبستگی ...

صفت	ارتفاع	بوقته	شاخه	طول	تعداد	وزن تر	وزن	وزن تر	وزن	سطح	قطر	وزن	وزن	وزن تر	وزن	تعداد	وزن	وزن تر	وزن	طول	تعداد	ارتفاع	
ریشه	فرعی	فرعی	ریشه	ریشه	ریشه	ریشه	ریشه	ریشه	برگ	برگ	ریشه	برگ	برگ	برگ	برگ	ریشه	ریشه	ریشه	ریشه	ریشه	ریشه	صفت	
قطر ریشه	۰/۶۰***	۰/۶۷***	۰/۷۹***	۰/۶۷***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	-۰/۳۲***	۰/۸۱***	۰/۸۰***	۰/۷۹***	۰/۷۳***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۵۶***	وزن تر ریشه	
وزن تر ریشه	۰/۵۶***	۰/۶۴***	۰/۵۸***	۰/۷۷***	۰/۸۰***	۰/۸۸***	۰/۸۱***	۰/۸۲***	۰/۷۹***	-۰/۰۵ns	۰/۷۸***	۰/۸۸***	۰/۷۹***	۰/۷۳***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	وزن خشک ریشه
وزن خشک ریشه	۰/۳۰ns	۰/۳۱ns	۰/۱۵ns	۰/۴۵***	۰/۵۳***	۰/۴۶*	۰/۴۶***	۰/۴۸*	۰/۴۸***	۰/۲۵ ns	۰/۴۴*	۰/۶۱***	۰/۴۳***	۰/۸۴***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	وزن خشک ریشه
حجم ریشه	۰/۵۶***	۰/۶۲***	۰/۵۸***	۰/۷۶***	۰/۷۹***	۰/۸۷***	۰/۸۱***	۰/۸۱***	۰/۸۸***	-۰/۰۹ns	۰/۷۸***	۰/۸۸***	۰/۸۱***	۰/۸۳***	۰/۹۹***	۰/۸۱***	۰/۸۳***	۰/۸۴***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	۰/۷۹***	حجم ریشه
تعداد ریشه	۰/۲۵ns	۰/۵۱**	۰/۴۱*	۰/۶۱**	۰/۶۶***	۰/۶۴***	۰/۷۲***	۰/۶۴***	-۰/۱۷ns	۰/۶۱***	۰/۷۲***	۰/۷۲***	۰/۷۴***	۰/۷۴***	۰/۷۵***	۰/۷۰**	۰/۷۰**	۰/۷۰**	۰/۷۰**	۰/۷۰**	۰/۷۰**	۰/۷۰**	تعداد ریشه
طول ریشه فرعی	۰/۰۱ns	۰/۵۷***	۰/۵۱**	۰/۵۱**	۰/۳۱ns	۰/۳۶ns	۰/۴۰*	۰/۴۰*	۰/۳۷	۰/۱۵ns	۰/۲۳ns	۰/۱۱**	-۰/۲۳ns	-۰/۲۳ns	-۰/۲۵ns	-۰/۲۹ns	-۰/۲۹ns	-۰/۲۵ns	-۰/۱۵ns	-۰/۲۶ns	-۰/۲۵ns	-۰/۲۵ns	طول ریشه فرعی
نسبت ریشه به ساقمه	۰/۴۷*	۰/۶۰***	۰/۶۷***	۰/۶۷***	-۰/۰۲ns	-۰/۰۱ns	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	-۰/۵۲***	-۰/۵۱*	-۰/۳۷ns	-۰/۴۹*	-۰/۴۹*	-۰/۴۴*	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	-۰/۴۱*	نسبت ریشه به ساقمه

\*\*: معنی دار در سطح احتمال ۱٪؛ \*: معنی دار در سطح احتمال ۵٪

عاملی برای داده‌های مورد نظر بود. بهمنظور تعیین مؤلفه‌های تغییر و تعیین مهمترین صفات مورفولوژیکی موثر در ایجاد توعیین توده‌های مختلف پنیرباد، از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. مؤلفه‌هایی که مقدار ویژه یا بدعبارت دیگر واریانس آنها بیشتر از یک بود، استخراج شد. تجزیه و تحلیل داده‌های صفات مورفولوژیکی منجر به شناسایی سه مؤلفه شد که مقادیر ویژه عامل‌های اول تا سوم در آنها به ترتیب  $11/88$ ،  $2/50$  و  $1/20$  درصد بود. این سه مؤلفه در مجموع  $86/62$  درصد از واریانس کل موجود در  $18$  متغیر مورد بررسی را به خود اختصاص دادند (جدول ۴).

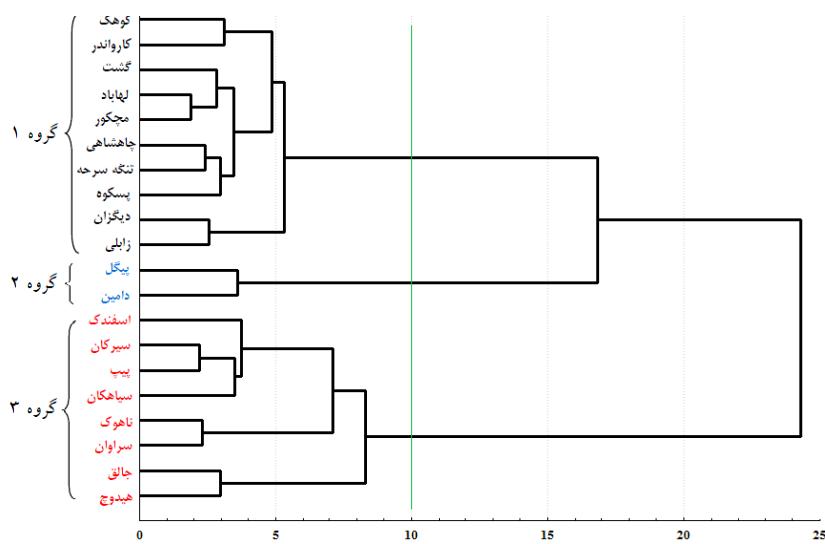
جدول ۴- بار عاملی دوران یافته مؤلفه‌ها، مقادیر ویژه، واریانس و واریانس تجمعی در ارزیابی  $18$  صفت مورفولوژیکی

ضرایب عامل‌های مشترک دوران یافته			صفت
PC3	PC2	PC1	
- $0/35$	$0/26$	$0/76*$	ارتفاع بوته
$0/39$	$0/29$	$0/79*$	تعداد شاخه جانبی
$0/17$	$0/41$	$0/76*$	طول شاخه جانبی
$0/09$	$0/02$	$0/80*$	تعداد گره
$0/15$	$0/21$	$0/94*$	وزن تر انداز هوائی
$0/18$	$0/04$	$0/97*$	وزن خشک انداز هوائی
$0/34$	$0/09$	$0/90*$	تعداد برگ
$0/17$	$0/18$	$0/94*$	وزن تر برگ
$0/22$	$0/03$	$0/96*$	وزن خشک برگ
$0/14$	$0/21$	$0/96*$	سطح برگ
- $0/26$	- $0/58$	- $0/21$	طول ریشه
- $0/07$	$0/12$	$0/87*$	قطر ریشه
$0/06$	- $0/33$	$0/92*$	وزن تر ریشه
$0/04$	- $0/75*$	$0/64$	وزن خشک ریشه
$0/06$	- $0/32$	$0/92*$	حجم ریشه
$0/29$	- $0/33$	$0/69$	تعداد ریشه فرعی
$0/91*$	$0/05$	$0/23$	طول ریشه فرعی
- $0/05$	- $0/90*$	- $0/34$	وزن ریشه / ساقه
$1/20$	$2/50$	$11/88$	مقادیر ویژه
$6/68$	$12/91$	$66/024$	واریانس (%)
$86/62$	$79/94$	$66/024$	واریانس تجمعی (%)

\* نشان دهنده ضرایب عاملی معنی دار است.

### تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای رسیدن به اهداف تشریح و توجیه تنوع موجود در جامعه، تعیین سهم هر صفت در تنوع و کاهش تعداد متغیرهای اصلی از طریق محاسبه مؤلفه‌های غیر همبسته که ترکیبی از متغیرهای اصلی می‌باشد، استفاده می‌شود (Farahani & Arzani, 2008). قبل از انجام تحلیل عاملی، ابتدا کفايت نمونه‌گیری و مناسب بودن تحلیل عاملی با استفاده از شاخص KMO و آزمون بارتلت مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش مقدار بدست آمده شاخص KMO ( $0/85$ ) و معنی‌داری آزمون بارتلت نشان دهنده معنی‌دار بودن نتایج تحلیل

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

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

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین بین گروه‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین ۳ گروه نشان داد که گروه‌ها از نظر اکثر صفات اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند ( $p < 0.05$ ). با توجه به جدول ۵ مشاهده می‌شود که گروه ۲ در اکثر صفات مورد بررسی برتر از سایر گروه‌ها بوده و در این میان صفاتی مانند تعداد و طول شاخه جانبی، وزن تر و خشک اندام هوائی، تعداد، وزن تر، وزن خشک و سطح برگ، وزن تر ریشه و

پس از چرخش وریماکس عامل‌ها مشخص شد که در مؤلفه اول صفاتی مانند ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه جانبی، تعداد گره، وزن تر و خشک اندام هوائی، تعداد برگ، وزن تر و خشک و سطح برگ، وزن تر ریشه، قطر و حجم ریشه عمده‌ترین نقش را در تبیین مؤلفه اول داشته و در مجموع  $66/04$  درصد تغییرات را توجیه نمودند. تمامی این صفات همبستگی مثبت با این مؤلفه نشان دادند. عامل دوم  $13/91$  درصد تغییرات را توجیه نمود و صفاتی مانند وزن خشک ریشه و نسبت وزن ریشه به ساقه در این گروه قرار گرفته و هر دو صفت همبستگی منفی با این مؤلفه داشتند. عامل سوم که فقط صفت طول ریشه فرعی، با بار عاملی  $6/68$  و با همبستگی مثبت در آن قرار گرفت، در مجموع  $91/0$  درصد از واریانس کل را توجیه نمود (جدول ۴). با توجه به وجود تنوع میان توده‌های مورد بررسی و نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مشاهده شد که صفات قرار گرفته در مؤلفه اصلی نقش عمده‌ای را در ایجاد تنوع دارند.

### تجزیه خوشه‌ای

در تجزیه خوشه‌ای به روش Ward از هر ۱۸ صفت مورفولوژیکی بر روی ۲۰ توده استفاده شد. با برش دنдрوگرام

ساقه قادر به تمایز بین گروه‌ها نبوده و از این نظر اختلاف معنی‌داری بین ۳ گروه‌ها وجود ندارد ( $p < 0.05$ ).

حجم ریشه متمازیز کننده ۳ گروه مورد بررسی بود. در عین حال مشاهده شد که صفاتی مانند طول ریشه و نسبت ریشه به

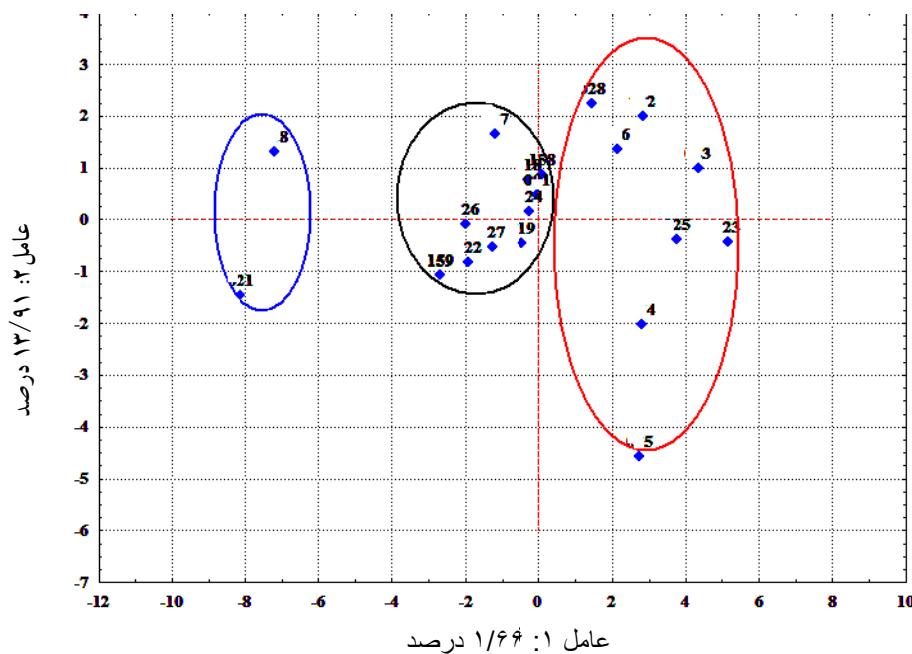
جدول ۵- مقایسه میانگین گروه‌ها براساس ۱۸ صفت مورد مطالعه

گروه	ارتفاع بوته	تعداد شاخه	طول شاخه	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک	تعداد برگ	وزن تر اندام	وزن خشک	اندام هوائی	هوائی	وزن تر برگ	وزن خشک	تعداد برگ	وزن تر	وزن خشک	حجم ریشه	تعداد ریشه	طول ریشه	قطر ریشه	طول برگ	سطح برگ	
گروه	نسبت ریشه به ساقه	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی
۱	$\pm 0.056^b$	$28 \pm 5/23^b$	$/0.0 \pm 6/77^b$	$50 \pm 0/93^b$	$82 \pm 7/22^b$	$44 \pm 4/34^b$	$66 \pm 1/76^b$	$52 \pm 1/90^b$	$/44 \pm 4/24^{ab*}$														
۲	$5/43$	$37/$	$69$	$8/$	$53/$	$37/$	$8/$	$7/$	$37$														
۳	$\pm 0.18^a$	$82 \pm 2/56^a$	$/60 \pm 17/25^a$	$12 \pm 0/09^a$	$0.8 \pm 1/05^a$	$44 \pm 4/34^a$	$60 \pm 2/26^a$	$90 \pm 0/42^a$	$44/36 \pm 0/94^a$														
۴	$9/23$	$68/$	$128$	$15/$	$99/$	$37/$	$11/$	$12/$															
۵	$\pm 0.57^c$	$68 \pm 4/95^c$	$/61 \pm 9/65^c$	$16 \pm 1/04^c$	$48 \pm 7/44^c$	$44 \pm 4/34^b$	$78 \pm 1/61^c$	$10 \pm 2/01^c$	$32/10 \pm 6/41^b$														
۶	$2/33$	$21/$	$41$	$5/$	$30/$	$37/$	$4/$	$4/$															
۷	نسبت ریشه به ساقه	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی	فرعی
۱	$\pm 0.04^a$	$14 \pm 1/31^b$	$7/27 \pm 1/31^b$	$0.4 \pm 2/00^b$	$57 \pm 0/44^b$	$80 \pm 2/03^b$	$23 \pm 0/08^a$	$21 \pm 2/00^a$	$/54 \pm 102/52^b$														
۲	$0/31$	$14/$		$13/$	$2/$	$13/$	$1/$	$26/$	$786$														
۳	$\pm 0.07^a$	$67 \pm 0/57^a$	$9/70 \pm 0/70^a$	$12 \pm 2/84^a$	$76 \pm 1/04^a$	$32 \pm 3/41^a$	$30 \pm 0/16^a$	$34 \pm 1/12^a$	$/95 \pm 144/37^a$														
۴	$0/25$	$16/$		$18/$	$3/$	$19/$	$1/$	$24/$	$1371$														
۵	$\pm 0.18^a$	$78 \pm 1/14^b$	$6/05 \pm 1/19^b$	$21 \pm 2/08^c$	$10 \pm 1/09^b$	$85 \pm 2/17^c$	$0.3 \pm 0/06^b$	$59 \pm 3/01^a$	$/13 \pm 86/97^c$														
۶	$0/41$	$13/$		$9/$	$2/$	$9/$	$1/$	$26/$	$435$														

\*میانگین صفاتی که دارای حروف مشابه می‌باشد از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ( $p < 0.05$ )

نقش مهمی در تمایز توده‌ها داشتند. نزدیک بودن هرچه بیشتر دو نمونه در این شکل نشانه محکم بودن حکم هم‌گروهی و نزدیکی بیشتر آنها است. به عنوان مثال توده‌های پیگل و دامین که از نظر صفات مورفولوژیکی بسیار شبیه هم می‌باشند در یک گروه قرار گرفتند که نتایج حاصل از خوشبندی را تائید می‌نماید.

نمایش دو بعدی توده‌ها براساس دو عامل اول برای بررسی مجموعه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری ۱۸ صفت بر روی ۲۰ توده مورد بررسی با توجه به اینکه دو مؤلفه اصلی اول و دوم بر روی هم درصد قابل توجهی از تغیرات داده‌ها را توجیه می‌نمایند، پراکنده‌گی توده‌ها براساس این دو مختصات مطابق شکل ۲ ارائه گردید. عامل اول تاثیر قابل توجهی بر بسیاری از صفات مورفولوژیکی داشت و این صفات



شکل ۲- پراکنش توده‌های مختلف پنیرباد (*W. coagulans*) نسبت به هم براساس دو عامل اول و دوم با استفاده از ۱۸ صفت مورد مطالعه کد توده‌ها و نام محل جمع‌آوری در جدول ۲ ارائه شده است.

به کاهش باروری جامعه گیاهی پنیرباد و سرعت بخشیدن به فرایند انقراض آن شده است. لذا تدوین و اجرای برنامه‌های موثر در راستای احیاء، حفاظت و بهره‌برداری کارآمد از گونه با ارزش و چند منظوره پنیرباد ضروری به‌نظر می‌رسد. در این میان، شناخت تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ذخایر توارثی یک امر زیربنائی و بنیادی برای طراحی موفق برنامه‌های بهثادی بوده و علاوه بر این در آسان نمودن مدیریت حفظ و نگهداری ذخایر ژنتیکی نقش بسزائی دارد. در این میان، ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی اولین مرحله در طبقه‌بندی و توصیف ژرم پلاسم‌ها به‌شمار می‌آید (Sultana *et al.*, 2005).

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

## بحث

تخربی رویشگاه‌های طبیعی، روش‌های ناپایدار و غیر اصولی برداشت و دخالت انسان در تبدیل رویشگاه‌های طبیعی به کاربری‌های صنعتی و کشاورزی از جمله عوامل انقراض و نابودی گیاهان داروئی می‌باشد. علاوه بر موارد مذکور، این امر در مورد گونه پنیرباد به‌دلیل وقوع خشکسالی‌های مکرر در رویشگاه‌های منطقه بلوجستان و برداشت مستقیم میوه که عامل اصلی تکثیر این گونه است از روند بیشتری برخوردار Valizadeh & Valizadeh, Javanshir, 2000 می‌باشد (2009). همچنین ماهیت دو پایه بودن گیاه که فقط پایه‌های ماده تولیده میوه و بذر می‌نمایند و همچنین عدم وجود تعادل در تعداد پایه‌های نر و ماده که در برخی رویشگاه‌ها تعداد پایه‌های ماده بسیار کمتر از پایه‌های نر می‌باشد، منجر

مختلف با عملکرد ریشه، صفات تاثیرگذار بر عملکرد را مشخص و در برنامه‌های بهترادی به آنها توجه نمود. در این تحقیق، بررسی همبستگی صفات نشان داد که عملکرد ریشه (از نظر وزن تر) بهغیر از طول ریشه با سایر صفات همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد. در این میان بیشترین همبستگی عملکرد ریشه بهترتیب با صفات وزن خشک اندام هوائی و وزن خشک برگ ( $r=+0.82$ )، تعداد برگ ( $r=+0.88$ ) و وزن تر برگ ( $r=+0.80$ ) مشاهده گردید.

در تجزیه به عامل‌ها، هر عامل یا فاکتور شامل مهمترین صفات دارای بیشترین ضریب عاملی می‌باشد. در این پژوهش از روش واریماکس (Varimax) برای چرخش عامل‌ها استفاده شد که تغییرات را میان عامل‌ها به شکل یکنواخت توزیع می‌نماید. نتایج بدست آمده از تجزیه به عامل‌ها نشان داد که صفت وزن خشک اندام هوائی متنوع‌ترین صفت مورفولوژیکی توده‌های پنیرباد محسوب می‌شود. این صفت با داشتن بیشترین بار عاملی ( $0.97$ ) مهمترین صفت متمایزکننده توده‌های مختلف محسوب می‌شود. اعمال انتخاب از طریق هر یک از عامل‌ها منجر به گزینش توده‌ها بر پایه مجموعه صفات موجود در هر یک از عامل‌ها و با بار عاملی بیشتر می‌گردد. سودمندی استفاده از مؤلفه‌های اصلی آن است که می‌توان رابطه بین ارقام یا مناطق را در یک فضای چند بعدی مشاهده نمود. در این روش هر ژنتیپ توسط نقطه‌ای در فضای اقلیدسی نمایش داده شود و لذا ژنتیپ‌هایی که دارای شباهت بیشتری به یکدیگر هستند نزدیک همدیگر قرار می‌گیرند. در تجزیه مختصات اصلی فاصله ژنتیکی بین  $20$  توده پنیرباد مورد مطالعه به صورت تصویر دو بعدی نمایش داده شد. فاصله بین توده‌های ترسیم شده بر روی پلات، میزان عدم تشابه افراد را بیان می‌کند (Mohammadi and Prasanna, 2003). از آنجایی که دو مؤلفه اول، بالاترین ریشه‌های مشخصه را دارند، می‌توان گروه‌بندی توده‌ها را براساس این دو مؤلفه انجام داد (Farahani & Arzani, 2008).

های مورد مطالعه برای همه صفات مشاهده گردید. نتایج مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که توده‌های مختلف جمع آوری شده از استان سیستان و بلوچستان دارای ت نوع قابل توجهی بوده و لذا می‌توان از میان آنها، توده‌هایی با صفات شاخص را انتخاب و در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود. از بین توده‌های مختلف مورد بررسی توده دامین ( $21$ ) به جزء در صفات طول ریشه ( $25/4$  cm) و نسبت ریشه به ساقه ( $0/30$ ) دارای بیشترین مقادیر کمی در سایر صفات بود. همچنین توده پیگل ( $8$ ) نیز به استثناء صفاتی مانند طول ریشه، وزن خشک ریشه، تعداد گره و نسبت ریشه به ساقه در سایر صفات، برتر از توده‌های دیگر بود. از طرفی دیگر قرارگیری این توده در یک خوش (شکل  $1$ ) و تشکیل یک گروه مستقل حاکی از برتری این دو توده نسبت به سایر توده‌ها بوده و می‌تواند به عنوان والد اولیه در انجام تلاقي‌ها و برنامه‌های بهترادی مورد توجه قرار گیرد. تفاوت‌های موجود بین توده‌های مناطق مختلف از لحاظ صفات کمی و کيفی می‌تواند ناشی از ت نوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژیکی حاکم بر رویشگاهها باشد (Sharma *et al.*, 2012). با توجه به اينکه تمامی توده‌های مورد بررسی در این پژوهش در شرایط کاملاً يکسان و کنترل شده مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند، لذا می‌توان اذعان داشت که اثرات محیطی ناشی از شرایط متنوع آب و هوائی و ژئومورفولوژیکی در ایجاد تنوع حذف گردیده است. بنابراین می‌توان استنباط نمود که تنوع مشاهده شده در بین توده‌های مختلف به طور عمده ژنتیکی می‌باشد (Kumar *et al.*, 2007). در عین حال توصیه می‌شود که به منظور مطالعه دقیق‌تر، توده‌ها و صفات مورد بررسی در چند سال و چند مکان مورد ارزیابی قرار گیرد. از مقادیر خام ضرائب همبستگی در مطالعه چگونگی همبستگی و تغییرات توأم صفات در حضور همدیگر می‌توان استفاده کرد. با توجه به اهمیت ریشه گیاه پنیرباد از نظر استحصال مواد داروئی، می‌توان با بررسی همبستگی صفات

توده‌های مختلف *W. somnifera* جمع آوری شده از مناطق مختلف هند نیز نشان داد که توده‌ها با منشاء متفاوت در گروه‌های یکسان قرار گرفتند (Khatak *et al.*, 2013., Kumar *et al.*, 2007). این نتایج مشخص می‌نماید که عواملی به غیر از پراکنش جغرافیائی در بروز تنوع ژنتیکی دخالت می‌کند (Kumar *et al.*, 2007). به عنوان مثال، علت این امر را می‌توان به منشاء واحد این توده‌ها و جریان ژنی نسبت داد. با بررسی جمعیت‌های گیاه داروئی بابونه Mehdikhani و همکاران (2013) گزارش کردند که تنوع جغرافیائی با تنوع ژنتیکی در گیاهان مورد مطالعه مطابقت نداشت و علت این امر را تبادل مواد خام بین مناطق مختلف مختلف کشور دانسته‌اند. از سوی دیگر برخی توده‌ها نیز با وجود منشاء جغرافیائی نزدیک، در گروه‌های کاملاً مجزا و با فاصله قابل توجه از یکدیگر قرار گرفتند. مثلاً توده‌های پیگل (۸) و کارواندر (۲۷) با فاصله جغرافیائی کمتر از ۲۰ کیلومتر بودند در دو گروه کاملاً مجرماً قرار گرفتند. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که توده‌های پنیرباد موجود در ایران از تنوع ژنتیکی قابل توجهی برخوردار بوده و اطلاعات حاصل از این تحقیق می‌تواند ما را در مدیریت ژرم‌پلاسم و همچنین شناسایی دورترین جمعیت‌ها به عنوان والدین اولیه برای تلاقی یاری نماید. علاوه بر این پیشنهاد می‌گردد که از نشانگرهای مولکولی نیز جهت بررسی تنوع ژنتیکی استفاده شده و در عین حال محتواهای ترکیبات ویتانولوئیدی نیز در توده‌های مختلف مورد ارزیابی و مقایسه قرار گیرد.

#### منابع مورد استفاده

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

در مجموع ۶۰/۰۹ درصد از تغییرات کل را توجیه نمود. تجزیه خوش‌های یکی از روش‌های تجزیه و تحلیل چند متغیره است که جهت بررسی رابطه خویشاوندی و گروه‌بندی ارقام یا توده‌های مورد از نظر ژنتیکی و جغرافیائی و تعیین والدین در هیبریداسیون مفید می‌باشد. با توجه به بررسی منابع موجود، گزارشی مبنی بر استفاده از شاخص‌های مورفولوژیکی در طبقه‌بندی توده‌های *W. coagulans* به دست نیامد. در این خصوص Bhat و همکاران (۲۰۱۲) در ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه *W. somnifera* همبستگی قابل توجهی بین مارکرهای مورفولوژیکی، بیوشیمیائی و مولکولی مشاهده نمودند و گزارش کردند که صفات مورفولوژیکی مانند ارتفاع گیاه، شکل برگ، رنگ میوه متمایزکننده توده‌های زراعی از توده‌های وحشی بود. همچنین Kumar و همکاران (۲۰۰۷)، ۲۵ توده *W. somnifera* براساس صفات مورفولوژیکی مانند ارتفاع گیاه، تعداد شاخه جانبی، طول ریشه، تعداد بذر در میوه، طول، قطر و عملکرد ریشه مورد ارزیابی قرار داده و علاوه بر مشاهده اختلاف معنی‌دار و قابل توجه در بین توده‌ها، توانستند توده‌های مختلف را در ۵ گروه از نظر تنوع ژنتیکی گروه‌بندی نمایند. ضمن اینکه Khatak و همکاران (۲۰۱۳) نیز با استفاده از صفات آگرومورفولوژیکی مانند ارتفاع گیاه، طول ریشه، تعداد میوه در گیاه، تعداد بذر در میوه، عملکرد بذر در هر بوته و عملکرد بیولوژیکی تعداد ۳۰ توده مختلف *W. somnifera* را مورد بررسی قرار داده و با استفاده از تجزیه خوش‌های آنها را در ۴ گروه طبقه‌بندی کردند.

با بررسی نتایج حاصل از تجزیه خوش‌های مشخص شد که در مواردی توده‌های متعلق به مناطق مختلف در گروه‌های مشترک قرار گرفتند. به عنوان مثال توده‌های سیرکان (۳) و پیپ (۲۳) که بیشترین فاصله جغرافیائی را در بین توده‌های مورد بررسی داشتند (بیش از ۳۰۰ کیلومتر فاصله خط مستقیم) در یک گروه قرار گرفتند. بررسی تنوع ژنتیکی

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

- somnifera* (L.) Dunnal. Grown in Sri Lanka. Pakistan Journal of Biological Science, 16: 141-144.
- Uddin, Q., Samiulla, L., Singh, V.K. and Jamil, S.S. 2012. Phytochemical and pharmacological profile of *Withania somnifera* Dunal: a review. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2:170-175.
- Valizadeh, J. and Valizadeh, M., 2011. Development of efficient micropropagation protocol for *Withania coagulans* (Stocks) Dunal. African Journal of Biotechnology, 10: 7611-7616.
- Weising, K., Nybon, H., Wolff, K. K. and Gunter, K., 2005. DNA Fingerprinting in Plants, Principle, Methods and Applications (2<sup>nd</sup> ed.), CRC Press.
- west Himalaya, India. Journal of Medicinal Plants Research, 6: 657-661.
- Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambashi, M., Moradi, H., Gradziel, T.M. and Martinez-Gomez, P., 2010. Correlations between quantitative tree and fruit almond traits and their implications for breeding. Scientia Horticulturae, 125: 323-331.
- Sultana, T., Ghafoor, A. and Ashraf, M., 2005. Genetic divergence in lentil germplasm for botanical descriptors in relation with geographic origin. Pakistan Journal of Botany, 37: 61- 69.
- Siriwardane, A.S., Dharmadasa, R.M. and Samarasinghe, K., 2013. Distribution of *Withaferin* an anticancer agent, In different parts of two varieties of *Withania*

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

M. Valizadeh<sup>1\*</sup>, A.R. Bagheri<sup>2</sup>, J. Valizadeh<sup>3</sup>, M.H. Mirjalili<sup>4</sup> and N. Moshtaghi<sup>5</sup>

1\*- Corresponding author, Department of Medicinal Plants, College of Agriculture, High Educational Complex of Saravan, I.R Iran.  
E-mail: m.valizadeh@anrs.usb.ac.ir.

2- Prof., Department of Biotechnology and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, I.R. Iran.

3- Assoc. Prof., Department of Biology, College of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, I.R.Iran

4- Assist. Prof., Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, G.C., Evin, Tehran, I.R.Iran

5- Assist. Prof., Department of Biotechnology and Plant Breeding, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R.Iran.

Received: 13.01.2014

Accepted: 08.12.2014

### Abstract

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

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