نشریهٔ پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۶ شمارهٔ۲، صفحهٔ ۱۳۸-۱۲۳، نیمهٔ دوم ۱۳۹۴

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 6, No. 2, 2015, p. 123-138

گزینش برای تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیا چشم بلبلی (*Vigna unguiculata* L.)

خسرو مفاخری[۱]، محمدرضا بی‌همتا[۲*] و علیرضا عباسی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد دانشگاه تهران

۲- استاد دانشگاه تهران

۳- دانشیار دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۱/۳۱

چکیده

به منظور بررسی و گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی در لوبیا چشم‌بلبلی، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو شرایط نرمال (آبیاری هر ۷ روز یکبار) و تنش آبی (آبیاری هر ۱۴ روز یکبار) به‌صورت جداگانه در مزرعه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران واقع در کرج در سال زراعی ۱۳۹۲ اجرا گردید. تنش خشکی از ۵۰ روز پس از کاشت یا به‌عبارتی از مرحله ۶ برگچه‌ای بر روی ۳۲ ژنوتیپ لوبیا چشم‌بلبلی اعمال شد. ارزیابی تحمل به تنش خشکی بر روی ژنوتیپ‌ها، توسط ۸ شاخص مختلف شامل، شاخص تحمل تنش، میانگین حسابی، میانگین هندسی، شاخص حساسیت به تنش، شاخص پایداری عملکرد، شاخص عملکرد، شاخص تحمل تنش و شاخص میانگین هارمونیک صورت گرفت. برای تعیین روابط بین عملکرد دانه و شاخص‌های مورد بررسی، از ضرایب همبستگی استفاده گردید و شاخص‌های تحمل به تنش، میانگین حسابی، میانگین هندسی و میانگین هارمونیک که دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه در هر دو شرایط نرمال و تنش بودند، انتخاب شدند. با استفاده از روش ترسیمی بای‌پلات بر روی ۳۲ ژنوتیپ لوبیای چشم‌بلبلی و بررسی وضعیت قرار گرفتن ژنوتیپ‌ها در بای‌پلات، ژنوتیپ‌های ۲۹۱، ۳۱۳، ۹۹۸ و ۷ به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی با عملکرد بالا شناسایی شدند. تجزیه کلاستر برای ژنوتیپ‌ها براساس شاخص‌های مورد مطالعه و عملکرد در دو شرایط نرمال و تنش خشکی انجام گرفت و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در چهار کلاستر گروه‌بندی شدند. نتایج این تجزیه نشان داد که، اغلب ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی و دارای عملکرد بالا در کلاستر دوم و بیشتر ژنوتیپ‌های حساس به تنش خشکی در کلاستر چهارم قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: بای‌پلات، تجزیه کلاستر، شاخص‌های تحمل به تنش خشکی، عملکرد دانه، لوبیا چشم‌بلبلی، همبستگی

مقدمه

تنش خشکی یکی از محدودیت‌های تولید لوبیا در سطح جهان می‌باشد که در کارهای به‌نژادی و اصلاح برای مقاومت به تنش خشکی، به‌نژادگر به دنبال تعیین ارقام و منابع ژنتیکی مقاوم به کم‌آبی و مقایسه میزان مقاومت به خشکی در بین آنها و معرفی ارقام برتر به لوبیاکاران می‌باشد. در اکثر نقاط جهان خشکی یا عدم تعادل بین عرضه و تقاضای آب یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی است که در این زمینه استفاده مؤثر و اقتصادی از منابع آب اهمیت به‌سزایی دارد، به‌خصوص برای مناطقی که دارای شرایط اقلیمی خشک و نیمه‌خشک می‌باشند که این مناطق حدود دوسوم از مساحت ایران را دربرگرفته است (Shahram & Daneshi, 2005). یکی از تنش‌هایی که گیاهان در شرایط طبیعی با آن روبه‌رو می‌شوند تنش خشکی است (Alavi & Shoaie Deilami, 2004). افزایش عملکرد دانه که مهم‌ترین شاخص انتخاب ارقام تحت شرایط تنش خشکی می‌باشد، یکی از مهم‌ترین اهداف به‌نژادگران است از آن‌جایی‌که تولید دانه تحت تأثیر عوامل محیطی و ژنتیکی زیادی قرار دارد، به همین دلیل انتخاب تحت شرایط تنش دشوار می‌باشد (Debaeke & Abdellah, 2004). به‌نژادگران همواره در تلاش بوده‌اند که با آزمایش ارقام مختلف در شرایط تنش و نرمال به تشخیص ارقام مختلف پرداخته و از آنها در جهت برنامه‌های اصلاحی استفاده کنند. در مناطق دارای کمبود آب، افزایش عملکرد گیاه هم از طریق تغییر عملیات زراعی و هم از طریق تغییرات ژنتیکی، گزینش و به‌نژادی امکان‌پذیر است (Gangeali *et al.*, 2005).

لوبیا چشم‌بلبلی (*Vigna unguiculata* L.) یکی از گیاهان خانواده حبوبات بوده که در حالت کلی در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری آفریقا، آسیا، آمریکای جنوبی،

*نویسنده مسئول: mrghanad@ut.ac.ir

قسمت‌هایی از جنوب اروپا و ایالت متحده آمریکا کشت می‌گردد (Singh *et al.,* 1997). حبوبات از منابع مهم و غنی از پروتئین هستند که در تغذیه انسان و دام نقش حیاتی را دارند. دانه‌های لوبیا چشم‌بلبلی دارای ۲۰ تا ۲۵ درصد (بعضاً تا ۳۵ درصد) پروتئین هستند (Majnoon Hosseini, 2008).

شاخص‌های تحمل به تنش خشکی شامل، شاخص تحمل تنش (TOL)، متوسط عملکرد (MP)، شاخص حساسیت به تنش (SSI)، تحمل تنش (STI)، میانگین هندسی عملکرد (GMP)، میانگین هارمونیک (HM)، پایداری عملکرد (YSI) و شاخص عملکرد (YI) از جمله شاخص‌هایی هستند که برای انتخاب ارقام متحمل به خشکی معرفی شده‌اند (Ahmadi *et al.*, 2000; Fernandez, 1992; Safari *et al.*, 2007; Bouslama & Schapaugh, 1984; Gavuzzi *et al.,* 1997). مقادیر بالای برخی از شاخص‌های تحمل به تنش نشان‌دهنده حساسیت ژنوتیپ‌ها به تنش می‌باشد (Fernandez, 1992). Fernandez (1992) ژنوتیپ‌ها را از نظر واکنش به شرایط تنش و بدون تنش به چهار گروه تقسیم‌بندی کرد. شاخص‌های تحمل تنش (STI) و میانگین هندسی (GMP) عملکرد توسط Fernandez (1992) و Kristin *et al*. (1997) پیشنهاد شدند. شاخص STI به‌عنوان بهترین شاخص در شناسایی ژنوتیپ‌های دارای عملکرد بالا و متحمل به تنش خشکی در ماش توسط Fernandez (1992) معرفی شد. در ارزیابی لاین‌های نخود شاخص‌های MP، GMP، HM و STI به‌عنوان مناسب‌ترین شاخص‌های گزینش ارقام مقاوم به خشکی توسط Farshadfar *et al*. (2001) شناسایی شدند که نتایج تحقیق Ganjeali *et al*. (2005) بر روی ژنوتیپ‌های نخود با این مطالعات مطابقت داشت. شاخص حساسیت به تنش (SSI)، هراندازه مقدارش کوچکتر باشد، میزان مقاومت یا تحمل به خشکی در ژنوتیپ‌ها بالاتر است. انتخاب براساس شاخص SSI موجب انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد پایین در شرایط عادی ولی دارای عملکرد بالا در محیط تنش می‌شود (Fischer & Maurer, 1987). محققان در بررسی این شاخص‌ها به این نتیجه رسیدند که کارآمدی شاخص‌های انتخاب، به شدت و مدت تنش خشکی بستگی دارد (Panthuwan *et al.*, 2002; Blum, 1996). با توجه به اهمیت تنش خشکی و پتانسیل بالای مقاومت به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیا چشم‌بلبلی هدف از این تحقیق، ارزیابی ژنوتیپ‌های لوبیا از لحاظ تحمل به تنش کم‌آبی و انتخاب بهترین معیار گزینش با استفاده از شاخص‌های مختلف تحمل و حساسیت به خشکی در مراحل رشد رویشی و زایشی و شناسایی ژنوتیپ‌ها برتر و متحمل به تنش خشکی با استفاده از این شاخص‌ها بود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تحمل به تنش خشکی ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا چشم‌بلبلی، پژوهشی در سال زراعی ۱۳۹۲ براساس شاخص‌های ارزیابی تحمل تنش خشکی مرحله رویشی در مزرعه تحقیقاتی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران واقع در دولت‌آباد کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی که در ارتفاع ۱۱۱۲/۵ متر از سطح دریا قرار دارد، انجام شد. در این پژوهش تعداد ۳۰ ژنوتیپ لوبیا چشم‌بلبلی به همراه دو رقم شاهد، مشهد و پرستو، از کلکسیون بانک ژن دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، دریافت شد و در سال زراعی ۱۳۹۲ در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در دو شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی اجرا شد. قبل از کاشت، آماده‌سازی زمین با شخم بهاره و تسطیح به صورت یکسان برای هر دو آزمایش انجام گرفت. هر آزمایش شامل سه تکرار و هر تکرار شامل ۳۲ واحد آزمایشی، در هر واحد یا کرت آزمایشی، ۳ خط به طول ۲ متر با فاصله بین خطوط ۷۰ سانتی‌متر کاشته شد. فاصله بین بوته‌ها روی ردیف، ۱۰ سانتی‌متر و فاصله بین هر کرت ۵۰ سانتی‌متر در نظرگرفته شد. عملیات تهیه زمین مانند شخم، دیسک، تسطیح و ایجاد فارو در اردیبهشت ماه سال۱۳۹۲ به‌طور یکسان برای دو آزمایش انجام گرفت. عملیات کاشت و عملیات داشت شامل آبیاری، چهار مرحله وجین علف‌های هرز به‌صورت دستی، در طول انجام آزمایش به‌صورت یکسان برای هر دو آزمایش انجام شد. حدود ۵۰ روز پس از کاشت یعنی در مرحله ۶ برگی بوته‌ها (۳برگچه دوم) و زمانی‌که بوته‌ها رشد رویشی کافی کرده بودند و خطر حذف بوته‌ها در اثر اعمال تنش خشکی برطرف شده بود، تنش آغاز شد و تا پایان دوره رشدی ادامه داشت، به‌صورتی‌که در آزمایش نرمال طبق عرف زراعی منطقه هر ۷ روز یک‌بار آبیاری انجام می‌گرفت و در آزمایش تنش هر ۱۴ روز یک‌بار آبیاری صورت گرفت. در حالت تنش مدت زمان انجام آبیاری دو برابر مدت زمان شرایط نرمال شده بود. با استفاده از عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط آبیاری نرمال (Yp) و آبیاری محدود (Ys)، شاخص‌های تحمل تنش (TOL)، متوسط عملکرد (MP)، میانگین هندسی عملکرد (GMP)، شاخص تحمل تنش (STI)، شاخص حساسیت به تنش (SSI)، میانگین هارمونیک (HM)، شاخص پایداری عملکرد (YSI) و شاخص عملکرد (YI) به‌صورت زیر محاسبه شدند:

(شاخص تحمل به تنش) TOL=Yp-Ys (McCaig & Clark, 1982; Hossain *et al.*, 1990)
(میانگین حسابی) MP=(Yp+Ys)/2 (McCaig & Clark, 1982; Hossain *et al*., 1990)
(میانگین هندسی) GMP=√Yp+Ys (Fernandez, 1992)
(شاخص تحمل تنش) $STI=(Yp\times Ys)/(\bar{Y}p)^2$ (Fernandez , 1992)
(شاخص حساسیت به تنش) SSI=1-(Ys/Yp)/D (Fischer & Maurer, 1978)
(شدت تنش) $D=1-(\bar{Y}s/\bar{Y}p)$ (Fischer & Maurer, 1978)
(شاخص پایداری عملکرد) YSI=Ys/Yp (Bouslama & Schapaugh, 1984)
(شاخص عملکرد) $YI= Ys/\bar{Y}s$ (Gavuzzi *et al.*, 1997)
(شاخص میانگین هارمونیک) HM=2(Yp×YS)/(Yp+Ys) (Safari *et al.*, 2007)

Yp: عملکرد هر ژنوتیپ در شرایط نرمال که از میانگین عملکرد هر ژنوتیپ در سه تکرار حاصل شد.

Ys: عملکرد هر ژنوتیپ در شرایط تنش که از میانگین عملکرد هر ژنوتیپ در سه تکرار حاصل شد.

$\bar{Y}p$: میانگین عملکرد همه ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال.

$\bar{Y}s$: میانگین عملکرد همه ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش خشکی.

همچنین D یا SI (Stress Index) شاخص تنش می‌باشد که از طریق رابطه ذکر شده محاسبه شد و برای محاسبه شاخص حساسیت به تنش مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه واریانس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی روی مقادیر کمی شاخص‌های محاسبه شده برای هر ژنوتیپ در سه تکرار انجام شد. به منظور بررسی رابطه بین سه متغیر از نمودار سه‌بعدی و برای بررسی روابط بین بیش از سه متغیر از نمودار بای‌پلات استفاده شد. در این مطالعه برای تعیین ژنوتیپ متحمل دارای عملکرد بالا در هر دو شرایط از نمودار سه‌بعدی استفاده گردید. با توجه به سه معیار عملکرد در شرایط تنش خشکی (Ys)، عملکرد در شرایط بدون تنش (Yp) و یکی از شاخص‌های موردنظر، ژنوتیپ‌ها به چهار گروه A، B، C و D تقسیم شدند، مناسب‌ترین شاخص انتخاب ژنوتیپ برای تحمل به تنش خشکی، شاخصی است که قادر به تشخیص ژنوتیپ‌های گروه A از سایر گروه‌ها باشد (Fernandez, 1992). برای ترسیم نمودار بای‌پلات، ابتدا تجزیه به مؤلفه‌های اصلی براساس شاخص‌های تحمل، عملکرد تحت شرایط نرمال و عملکرد تحت تنش خشکی انجام شد و ضرایب مؤلفه‌های اصلی برآورد گردیدند.

جدول ۱- اسامی و منشأ ۳۲ ژنوتیپ لوبیای چشم‌بلبلی مورد بررسی

Table 1. Name and origin of 32 studied cowpea genotypes

کد ژنوتیپ Code of genotype	شماره ژنوتیپ Genotype No.*	منشأ Origin	کد ژنوتیپ Code of genotype	شماره ژنوتیپ Genotype No.*	منشأ Origin
175	62-069-00276	India	8	62-034-00008	Columbia
107	62-002-00157	Afghanistan	196	62-157-00297	America
210	62-157-00310	America	203	62-157-00304	America
43	62-069-00048	India	162	62-110-00255	Nigeria
141	62-071-00218	India	193	62-157-00294	America
49	62-019-00004	Brazil	294	62-157-00424	America
307	62-157-00444	America	174	62-069-00273	India
186	62-157-00287	America	192	62-157-00293	America
220	62-157-00324	America	232	62-157-00341	America
222	62-157-00331	America	30	62-069-00030	India
291	62-157-00421	America	17	62-117-00017	Paraguay
7	62-034-00007	Columbia	76	62-015-00110	Belgium
37	62-153-00041	Turkey	9	62-157-00311	America
215	62-157-00318	America	229	62-157-00336	America
246	62-157-00355	America	Parasto	62-157-00347	America
313	62-157-00451	America	Mashhad	62-071-10003	Iran

*: شماره ژنوتیپ‌ها در بانک ژن پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران-کرج

*: Genotype number of gene bank, Faculty of agriculture and natural resources, University of Tehran-Karaj

همچنین برای تعیین روابط بین عملکرد دانه در شرایط تنش و بدون‌تنش و شاخص‌های محاسبه شده ضرایب همبستگی ساده برآورد شدند. جهت مشخص کردن میزان خویشاوندی یا فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌های مورد بررسی از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward استفاده شد. برای دسته‌بندی داده‌ها، از نرم‌افزار Excel، برای محاسبات آماری از نرم‌افزارهای SPSS 19، SAS 9.2 و برای ترسیم نمودارهای سه‌بعدی، بای‌پلات و دندروگرام گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از برنامهSTATGRAPHICS 16 استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس وجود اختلاف معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه شاخص‌های تحمل به خشکی و عملکرد دانه در دو شرایط محیطی تنش و بدون تنش را نشان داد ($P\leq0.01$)، که بیانگر وجود تنوع ژنتیکی و امکان گزینش برای تحمل به خشکی است (جدول ۲).

جدول۲- تجزیه واریانس شاخص‌های کمّی تحمل به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های لوبیا چشم‌بلبلی

Table 2. Analysis of variance for drought tolerance quantitative indices in cowpea genotypes

میانگین مربعات (Mean-square)												
HM	STI	YI	YSI	SSI	GMP	MP	TOL	Yp	Ys	درجه آزادی (df)	منابع تغییرات	S.O.V
1.37^{ns}	0.002^{ns}	0.011^{ns}	0.0164^{ns}	0.145^{ns}	0.778^{ns}	4.16^{ns}	4.46^{ns}	448.47^{ns}	315.81^{ns}	2	بلوک	Block
1888.94^{**}	0.719^{**}	2.286^{**}	0.359^{**}	8.99^{**}	1886.92^{**}	2057.58^{**}	3579.68^{**}	2820.28^{**}	3026.94^{**}	31	ژنوتیپ	Genotype
2.39	0.003	0.004	0.007	0.0422	0.968	1.29	1.38	778.73	540.04	62	اشتباه	Error
1.74	6.45	5.48	9.53	5.41	1.081	1.23	6.47	27.41	26.82	---	ضریب تغییرات	CV%

Ys=عملکرد تحت شرایط استرس; Yp=عملکرد پتانسیل; TOL=شاخص تحمل تنش; MP=میانگین حسابی; GMP=میانگین هندسی; SSI=شاخص حساسیت تنش; YSI=شاخص پایداری عملکرد; YI=شاخص عملکرد; STI=شاخص تحمل تنش; HM=میانگین هارمونیک.

Ys=Yield stress; Yp= Yield potential; TOL=Tolerance Index; MP=Mean Productivity; GMP=Geometrical Mean Productivity; SSI=Stress Susceptibility Index; YSI=Yield Stability Index; YI=Yield Index; STI=Stress Tolerance Index; HM= Harmonic mean.

ns، **و*: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪.

ns , **and*: Not significant, significant at 1% and 5% levels probability, respectively.

مقادیر میانگین و خطای استاندارد عملکرد دانه در شرایط آبیاری نرمال (Yp) و مقدار عملکرد در شرایط تنش‌خشکی (Ys) و شاخص‌های ارزیابی تحمل به تنش برای گزینش بهترین ژنوتیپ محاسبه گردید که در جدول ۳ ارائه شده است. عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش خشکی نشان داد که می‌توان تعداد ۳۰ ژنوتیپ و ۲رقم شاهد (مشهد و پرستو) مورد نظر را به چهار گروه تقسیم نمود. بر این اساس گروه A شامل ژنوتیپ‌های است که عملکرد خوبی در هر دو شرایط تنش و بدون‌تنش نشان دادند، گروه B شامل ژنوتیپ‌های است که فقط در شرایط آبیاری نرمال عملکرد خوبی دارند، گروه C شامل ژنوتیپ‌های است که در شرایط تنش خشکی عملکرد خوبی دارند، گروه D ژنوتیپ‌های را شامل می‌شود که در شرایط آبیاری نرمال و در شرایط تنش خشکی عملکرد رضایت‌بخش ندارند. شاخص مناسب و مطلوب برای تعیین مقاومت یا تحمل تنش، شاخص‌های است که بتواند ژنوتیپ‌های گروه A را از ژنوتیپ‌های سایر گروه‌ها تفکیک نماید (Fernandez, 1992).

جدول ۳- میانگین (Mean) و خطای استاندارد (StD) عملکرد در شرایط مطلوب و تنش و شاخص‌های تنش خشکی در ۳۲ ژنوتیپ لوبیا چشم بلبلی

Table 3. Mean and standard deviations for Yp, Ys, and drought stress indices in 32 cowpea genotypes

	Ys	Yp	TOL	MP	GMP	SSI	YSI	YI	STI	HM
Mean	83.57	101.82	18.24	92.69	90.87	-3.74	0.850	1.106	0.856	89.17
StD	31.76	30.66	34.59	25.97	25.19	1.76	0.316	0.895	0.502	24.71

Ys=عملکرد تحت شرایط استرس; Yp=عملکرد پتانسیل; TOL=شاخص تحمل تنش; MP=میانگین حسابی; GMP=میانگین هندسی; SSI=شاخص حساسیت تنش; YSI=شاخص پایداری عملکرد; YI=شاخص عملکرد; STI=شاخص تحمل تنش; HM=میانگین هارمونیک.

Ys=Yield stress; Yp= Yield potential; TOL=Tolerance Index; MP=Mean Productivity; GMP=Geometrical Mean Productivity; SSI=Stress Susceptibility Index; YSI=Yield Stability Index; YI=Yield Index; STI=Stress Tolerance Index; HM= Harmonic mean.

محاسبه پارامترهای ساده آماری (میانگین و انحراف استاندارد) برای شاخص‌های تحمل مورد بررسی نشان داد (جدول ۳) که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از تنوع بسیار خوبی برخوردار هستند که این تنوع می‌تواند به‌عنوان ذخیره ژنتیکی غنی، به‌نژادگران را در اصلاح و شناسایی ارقام کمک کند. میانگین عملکرد تمامی ژنوتیپ‌ها برای شرایط تنش خشکی Ys=83.57 و میانگین عملکرد تمامی ژنوتیپ‌ها برای شرایط آبیاری نرمال Yp=101.82 بود که تفاوت چشمگیری با یکدیگر نداشتند و این امر نشان می‌دهد که لوبیا چشم‌بلبلی گیاهی با پتانسیل تحمل بالا به تنش خشکی است. مقدار شاخص SSI=-3.74 بود که نشان‌دهنده تحمل بالای ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی می‌باشد، در محاسبه این شاخص از یک جزء به نام D یا SI که شاخص سختی محیط و یا شدت تنش است استفاده می‌شود که هرچه این جزء بزرگتر باشد شاخص SSI کوچک‌تر می‌شود (Moghadam & Hadizadeh, 2002). به‌عبارتی شاخص SI (شدت تنش)، که برای محاسبه شاخص حساسیت به تنش به‌کار می‌رود حداکثر مقدار آن واحد است. شاخص حساسیت به تنش (SSI) هرچه مقدارش کمتر باشد، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حساسیت کمتری به تنش رطوبتی نشان می‌دهند و یا به‌عبارتی تحمل نسبی آنها نسبت به کمبود آب بیشتر است و به عبارت دیگر هر ژنوتیپی که مقدار Ys آن از نظر کمیت به Yp نزدیکتر باشد به همان مقدار حساسیت آن ژنوتیپ به تنش خشکی کمتر خواهد بود (Shirinzadeh *et al.*, 2008). شاخص SSI (حساسیت به تنش) برنامه‌های اصلاحی را در جهت انتخاب ارقام متحمل به تنش خشکی و کم‌بازدهی که تغییرات مقدار عملکرد آنها تحت دو شرایط مطلوب و تنش کمتر است، هدایت می‌کند. در شاخص حساسیت به تنش علاوه بر میزان عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش، آسیب وارده به ژنوتیپ‌ها در اثر تنش نیز مدنظر قرار می‌گیرد، بدین‌صورت ژنوتیپی که در هر دو شرایط تنش و بدون تنش دارای عملکرد بالاتری باشد اما درصد تغییر زیادی را در عملکردش نشان دهد به‌عنوان ژنوتیپ متحمل شناسایی نمی‌شود. میانگین مقدار TOL نسبت به سایر شاخص‌ها پایین‌تر است (TOL=18.24)، مقادیر پایین شاخص تحمل تنش نشان‌دهنده تحمل نسبی ژنوتیپ‌ها است در واقع شاخص تحمل تنش تغییرات حاصل از شرایط تنش را نشان می‌دهد یعنی ژنوتیپ‌های که دارای شاخص TOL پایینی هستند تغییرات کمتری نشان می‌دهند و برعکس. مطالعه تنش خشکی بر روی هیبریدهای ذرت نشان داد که مقادیر بالای TOL نشان‌دهنده تغییرات بیشتر در عملکرد آنها در شرایط تنش و مطلوب می‌باشد و میزان حساسیت هیبریدها را در شرایط قطع آبیاری نشان می‌دهد، مقادیر کمتر TOL نشان‌دهنده تحمل بیشتر به تنش خشکی می‌باشد. در ارزیابی تحمل به تنش باید به دنبال ژنوتیپ‌هایی بود که حداقل اختلاف بین Ys و Yp در عملکرد آنها دیده می‌شود و شاخصMP گزینش را به سمت شناسایی ژنوتیپ‌های دارای عملکرد زیاد در هر دو شرایط مطلوب و تنش هدایت می‌کند (Shirinzadeh *et al.*, 2008). معیار MP در شناسایی هیبریدهای متحمل به تنش نسبت به شاخص‌های SSI و TOL بهتر عمل می‌کنند (Moghadam & Hadizadeh, 2000). به صورتی‌که شاخص میانگین حسابی (MP) که میزان بالای عددی این شاخص نشان‌دهنده تحمل نسبی به تنش است، در این مطالعه MP=92.69 برآورد شده است که با توجه به فرمول شاخص MP اگر ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش عملکرد بالایی داشته باشند باعث بالارفتن شاخص MP خواهد شد. بنابراین شاخص MP در گزینش ژنوتیپ‌های که دارای عملکرد بالا در شرایط تنش خشکی هستند، مناسب نیست (Fernandez, 1992). Ahmadzadeh (1996) گزارش کرد که شاخص MP در شناسایی لاین‌های پرمحصول و متحمل به خشکی ذرت مطلوب است. به عقیده بیشتر محققان، بهترین شاخص، شاخصی است که در هر دو شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی، دارای همبستگی معنی‌داری با عملکرد باشد (Blum, 1988). با توجه به همبستگی‌های ساده‌ی به‌دست آمده بین عملکرد تحت شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی و شاخص‌های تحمل به خشکی، شاخص‌های GMP، STI، MP و HM همبستگی مثبت و معنی‌داری را در سطح احتمال ۱درصد با عملکرد تحت دو شرایط تنش و بدون‌تنش نشان دادند (جدول ۴). بنابراین این شاخص‌ها را می‌توان به‌عنوان مناسب‌ترین شاخص‌ها برای غربال ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی در هر دو شرایط نرمال و تنش انتخاب نمود. شاخص TOL با عملکرد دانه در شرایط بدون تنش همبستگی مثبت معنی‌داری را در سطح احتمال ۱درصد و با عملکرد دانه در شرایط تنش همبستگی منفی و معنی‌دار در سطح ۱درصد نشان داد. شاخص YSI (شاخص پایداری عملکرد) دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با عملکرد دانه در شرایط تنش در سطح ۱درصد و دارای همبستگی منفی در شرایط بدون‌تنش در سطح ۵ درصد بود. شاخص SSI (حساسیت به تنش) دارای همبستگی منفی با عملکرد در شرایط تنش در سطح ۱درصد و دارای همبستگی مثبت در سطح ۵ درصد با عملکرد در شرایط نرمال می‌باشد (جدول ۴). بنابراین هرچه مقادیر این شاخص‌ها کوچکتر باشد، ژنوتیپ‌ها متحمل‌تر خواهند بود. Schneider *et al,* (2004) پیشنهاد کردند که در ابتدا ژنوتیپ‌ها براساس مقادیر بالای

GMP انتخاب شوند و سپس به منظور حصول اطمینان از پایداری عملکرد در شرایط تنش، از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ژنوتیپ‌های با بیشترین مقادیر Ys انتخاب شوند. به طور کلی، وجود همبستگی‌های مثبت و معنی‌دار بین شاخص‌های مختلف مقاومت به تنش خشکی و عملکرد در هر دو شرایط تنش و بدون‌تنش، می‌تواند نشان‌دهنده کارآمد بودن این شاخص‌ها در ارزیابی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌ها باشد. استفاده از معیارهای GMP و STI برای بررسی پایداری عملکرد و شناسایی ژنوتیپ‌های با عملکرد زیاد در ارقام نخود سفید توسط Samieezadeh (1996) به‌عنوان شاخص‌های گزینشی کارآمد معرفی گردیدند. شناسایی ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا تحت شرایط تنش براساس مقادیر بالای GMP و Ys توسط Schneider *et al*, (2004) جهت شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش معرفی شدند. شاخص‌های GMP، MP، HARM و STI که دارای همبستگی بالا و معنی‌دار با عملکرد دانه در دو شرایط مطلوب و تنش بودند توسط Fathi *et al*, (2012) انتخاب شدند و آن‌ها بیان داشتند که معیارهای TOL وSSI دارای همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد در شرایط مطلوب و همبستگی منفی با عملکرد در شرایط تنش می‌باشند، بنابراین هرچه مقدار TOL و SSI کوچکتر باشد، ژنوتیپ‌ها به خشکی متحمل‌تر خواهند بود. Habibi *et al,* (2006) در بررسی ۱۵لاین لوبیا قرمز نشان دادند که شاخص‌های GMP،MP و STI بیشترین همبستگی را با عملکرد دانه در هر دو شرایط آبیاری نرمال و تنش‌خشکی دارند، بنابراین لاین‌هایی که مقادیر بالای این شاخص‌ها را داشتند به‌عنوان لاین‌های متحمل معرفی شدند. Naroui Rad *et al,* (2010) در مطالعه‌ای با ارزیابی ۱۸ ژنوتیپ عدس نشان دادند که شاخص‌های GMP وSTI بیشترین همبستگی مثبت را با عملکرد در شرایط خشکی و آبیاری نرمال داشتند و براساس این شاخص‌ها دو ژنوتیپ مقاوم به خشکی را شناسایی و معرفی نمودند. شناخت رابطه بین عملکرد دانه و سایر صفات و شاخص‌ها در اجرای برنامه‌های گزینشی، اهمیت زیادی دارد. نتایج حاصل از همبستگی ساده بین شاخص‌ها (جدول ۴) نشان داد بین عملکرد دانه در شرایط نرمال و تنش با شاخص‌های تحمل به تنش همبستگی مثبت یا منفی وجود دارد. شاخص‌های میانگین هارمونیک (HM)، شاخص متوسط عملکرد (MP)، میانگین هندسی عملکرد (GMP) و شاخص تحمل به تنش (TOL) به‌عنوان مناسب‌ترین شاخص‌ها، جهت گزینش ارقام مقاوم به تنش خشکی در نخود معرفی گردیده‌اند (Farshadfar *et al*., 2001). شاخص‌های GMP، STI، MP و HM، به‌عنوان شاخص‌های مناسب و کارآمد جهت گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی نخود معرفی شدند (Ganjeali *et al*., 2005). در پژوهشی به منظور بررسی لاین‌های نخود از نظر شاخص‌های تحمل به تنش خشکی و پس از تحلیل همبستگی عملکرد تحت شرایط تنش و نرمال، شاخص‌های GMP، STI و MP در هر دو شرایط تنش خشکی و نرمال آبیاری به‌عنوان مناسب‌ترین شاخص‌ها جهت گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش خشکی معرفی گردیدند (Farayedi, 2004).

جدول ۴- ضرایب همبستگی ساده بین عملکرد در شرایط تنش خشکی و بدون تنش با شاخص‌های تحمل به تنش در ۳۲ ژنوتیپ لوبیا چشم بلبلی

Table 4. Correlation coefficients between Yp ،Ys and stress tolerance indices in drought stress and non stress conditions in 32 cowpea genotypes

	Ys	Yp	TOL	MP	GMP	SSI	YSI	YI	STI	HM
Ys	1									
Yp	0.386*	1								
TOL	-0.576**	0.532**	1							
MP	0.839**	0.826**	-0.038^{ns}	1						
GMP	0.849**	0.805**	-0.067^{ns}	0.994**	1					
SSI	-0.734**	0.320*	0.957**	-0.260^{ns}	-0.275^{ns}	1				
YSI	0.734**	-0.320*	-0.957**	0.259^{ns}	0.275^{ns}	-1**	1			
YI	0.856**	0.122^{ns}	-0.678**	0.595**	0.569**	-0.812**	0.812**	1		
STI	0.834**	0.800**	-0.056^{ns}	0.982**	0.987**	-0.262^{ns}	0.262^{ns}	0.566**	1	
HM	0.849**	0.766**	-0.092^{ns}	0.977**	0.944**	-0.285^{ns}	0.285^{ns}	0.536**	0.981**	1

Ys=عملکرد تحت شرایط استرس; Yp=عملکرد پتانسیل; TOL=شاخص تحمل تنش; MP=میانگین حسابی; GMP=میانگین هندسی; SSI=شاخص حساسیت تنش; YSI=شاخص پایداری عملکرد; YI=شاخص عملکرد; STI=شاخص تحمل تنش; HM=میانگین هارمونیک.

Ys=Yield stress; Yp= Yield potential; TOL=Tolerance Index; MP=Mean Productivity; GMP=Geometrical Mean Productivity; SSI=Stress Susceptibility Index; YSI=Yield Stability Index; YI=Yield Index; STI=Stress Tolerance Index; HM= Harmonic mean.

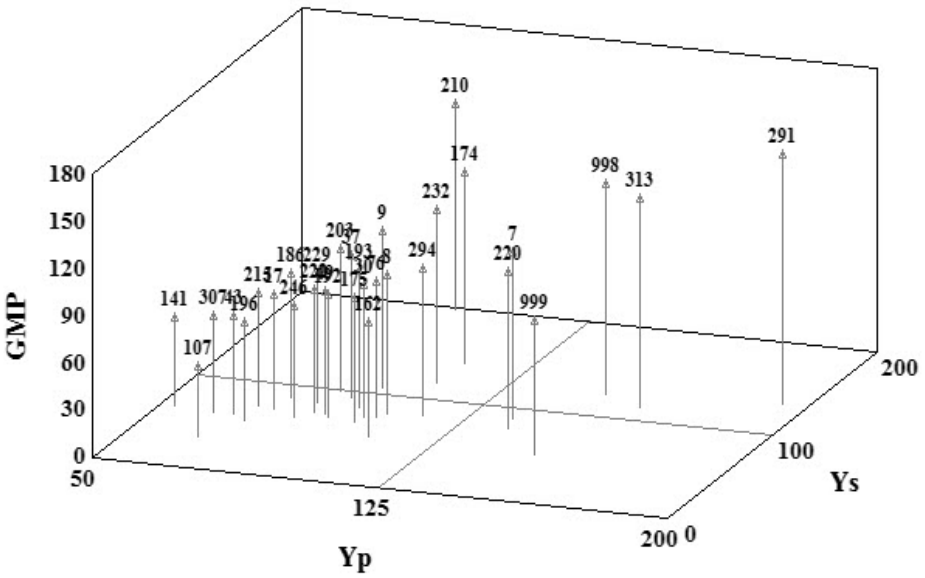
ns، **و *: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪.

ns , **and*: Not significant, significant at 1% and 5% levels probability, respectively.

Ganjeali *et al,* (2009) در مطالعه‌ای نشان دادند که شاخص‌های MP، GMP، HM و STI بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را با عملکرد تحت شرایط تنش و بدون تنش داشتند و براساس این چهار شاخص چهار ژنوتیپ متحمل به تنش را شناسایی کردند. در مطالعه حاضر با توجه به اینکه معیارهای MP، STI، GMP و HM به‌عنوان مناسب‌ترین معیارها برای شناسایی ژنوتیپ‌های گروه A از سایر گروه‌ها شناخته شدند، لذا نمودار سه بعدی آنها به منظور تسهیل و بهتر انجام گرفتن مطالعات ترسیم شد (شکل‌های ۱ تا ۴). از نمودار پراکنش سه‌بعدی جهت تعیین ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی استفاده می‌شود، در نمودار پراکنش سه‌بعدی با تقسیم‌بندی سطح زیر نمودار به چهار قسمت مساوی، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در چهار گروه دسته‌بندی شدند. معیارهای STI، MP و GMP در بررسی ژنوتیپ‌های لوبیای سفید برای جداکردن ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی به‌عنوان بهترین معیار توسط Ebrahimi *et al,* (2010) معرفی گردیدند. Ganjeali *et al,* (2005) برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی از چهار شاخص GMP، STI، HARM و MP استفاده نمودند. Fernandez (1992) از شاخص‌های STI وMP برای شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم در بین ژنوتیپ‌های لوبیا استفاده نمودند. از شاخص‌های GMP و STI که همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد در دو شرایط مطلوب و تنش داشتند در ژنوتیپ‌های عدس توسط Naroui Rad *et al*. (2010) استفاده شد و دو ژنوتیپ متحمل براساس این دو شاخص گزینش گردیدند. Ahmadi *et al,* (2000) از معیارهای GMP و STI در بررسی هیبریدهای ذرت دانه‌ای استفاده نمودند. Fathe Baheri *et al*, (2003) از شاخص‌های GMP، MP، HARM و STI در ژنوتیپ‌های جو استفاده نمودند. در بررسی‌ها با استفاده از نمودارهای سه‌بعدی اگر هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها در ناحیه A قرار نگیرند، ژنوتیپ‌هایی که در ناحیه‌ای با عملکرد بالا و مقاومت متوسط و پایدار قرار گرفته‌اند، می‌توانند به‌عنوان بهترین ژنوتیپ‌ها در هر دو شرایط معمول و تنش خشکی انتخاب شوند. رابطه بین سه متغیر را می‌توان با استفاده از نمودار سه بعدی بررسی کرد، ولی در صورتی‌که بررسی رابطه بیش از سه متغیر مدنظر باشد، از نمودار چند متغیره موسوم به نمودار بای‌پلات استفاده می‌شود. در این حالت می‌توان روابط بین عملکرد ژنوتیپ‌ها و تمام شاخص‌های تحمل را در یک شکل نشان داد. برای ترسیم این نمودار ابتدا باید تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر مبنای شاخص‌های تحمل و عملکرد تحت شرایط تنش و بدون تنش انجام داد. در حالت کلی واکنش گیاهان زراعی و ارزیابی آنها برای عملکرد بهینه در شرایط محیطی متنوع به توانایی آنها در استفاده از شرایط محیطی وابسته است. که از طریق تغییرات اجزای عملکرد و اثر متقابل ژنوتیپ با محیط به هنگام بروز شرایط مطلوب و نامطلوب در هر مرحله از رشد گیاه امکان‌پذیر است (Entz & Flower, 1990). برای شاخص تحمل به تنش (STI)، مقادیر بالای این شاخص نشان‌دهنده تحمل ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی است، چون شاخص STI حاصل‌ضرب دو کمیت (Ys×Yp) است و به دلیل خاصیت ضرب اعداد که با یکدیگر تفاوت ماهوی دارند، مربع میانگین هندسی باید یکسان باشد (Naderi *et al*., 1999). بنابراین ممکن است ژنوتیپ‌های شناسایی شده لاین‌های متحمل نباشند، زیرا امکان دارد ژنوتیپی دارای عملکرد بالا در شرایط بدون‌تنش ولی دارای عملکرد پایین در شرایط تنش باشد. بنابراین این شاخص زمانی قابل اعتماد است که ژنوتیپ دارای عملکرد بالا در شرایط تنش نیز باشد. یک شاخص مناسب برای گزینش شاخصی است که منجر به انتخاب ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا در هر دو شرایط تنش و بدون تنش گردد، به‌عنوان مثال مقادیر بالای شاخص HM نشان‌دهنده تحمل نسبی ژنوتیپ‌ها است. مقادیر عددی بالا شاخص میانگین هندسی (GMP) نشان‌دهنده تحمل نسبی ژنوتیپ‌ها است.

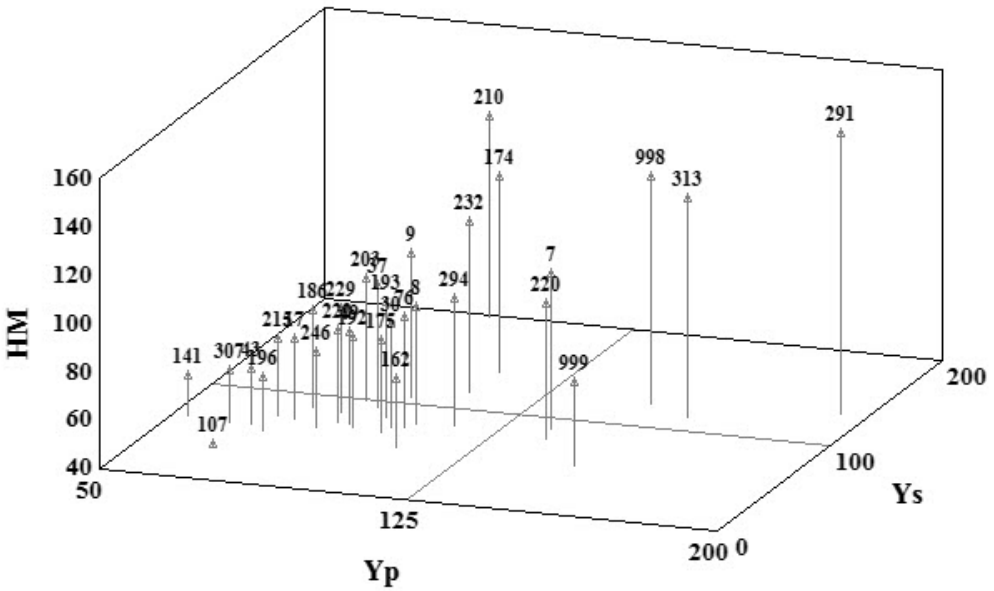
در بررسی‌های آماری به منظور بررسی ارتباط بین متغیرها می‌توان از نمودارها برای ایجاد ارتباط بین متغیرها استفاده نمود، بدین منظور محققان از نمودار سه بعدی برای بررسی ارتباط بین سه متغیر استفاده می‌نمایند، که در این حالت ارتباط بین عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال و تنش و معیارهای مقاومت را در یک شکل نشان می‌دهد. بیشترین تغییرات مقاومت به‌وسیله چهار شاخص توجیه می‌شود که عملکرد همبستگی بالایی با چهار شاخص TOL، HM، GMP و MP نشان داد و همبستگی منفی را با شاخص SSI نشان می‌دهد. بررسی نمودارهای سه‌بعدی Yp و Ys با شاخص‌های انتخاب شده نشان داد ژنوتیپ‌های ۲۹۱، ۳۱۳ و ۹۹۸ در گروه A قرار دارند به‌عنوان ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا تحت شرایط تنش خشکی و آبیاری نرمال شناسایی شدند و به‌عنوان بهترین ژنوتیپ‌ها در دو شرایط معمول و تنش خشکی انتخاب شدند. استفاده از نمودارهای سه‌بعدی برای تشخیص گروه A از سایر گروه‌ها در لوبیا توسط Fernandez (1992) و در نخود توسط Ganjeali *et al,* (2005) و در ژنوتیپ‌های لوبیا چشم‌بلبلی توسط Fathi *et al,* (2012) مورد استفاده و تأیید قرار گرفت. و با توجه به این‌که ژنوتیپ‌های ۲۲۰، ۷ و رقم ۹۹۹ در ناحیه‌ای با عملکرد بالا و مقاومت متوسط و پایدار قرار گرفته‌اند، بنابراین به‌عنوان ژنوتیپ‌های مطلوب در شرایط

آبیاری نرمال در گروه B قرار گرفتند و شناسایی شدند، می‌توان ابتدا از ژنوتیپ‌های گروه A و سپس از ژنوتیپ‌های گروه B به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل با عملکرد بالا تحت شرایط تنش در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود.



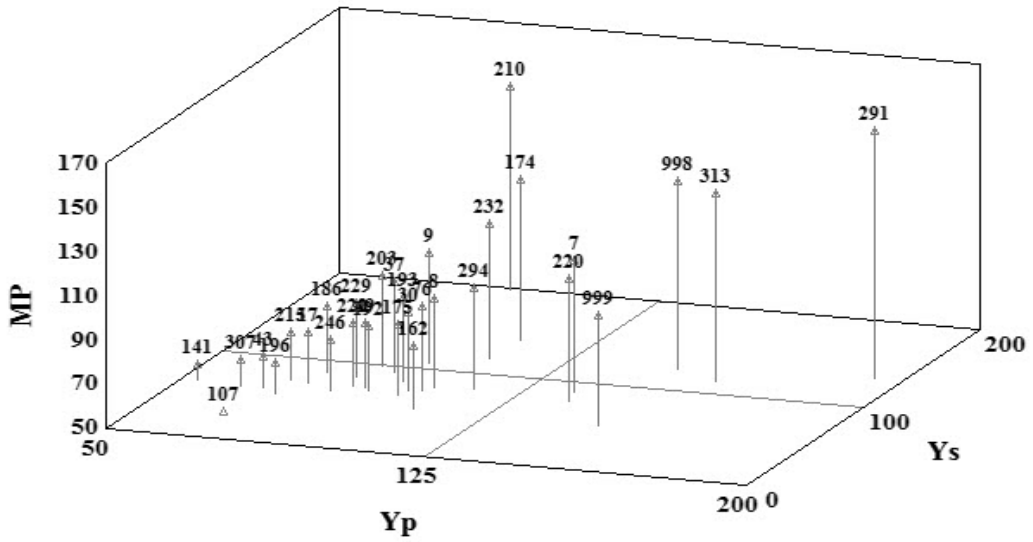
شکل ۱- نمودار پراکنش سه بعدی برای تعیین ارقام متحمل به خشکی براساس عملکرد تنش (Ys) و عملکرد نرمال (Yp) و شاخص GMP

Fig. 1. 3D plot for determination tolerant genotypes to drought stress based on Yp, Ys and GMP index



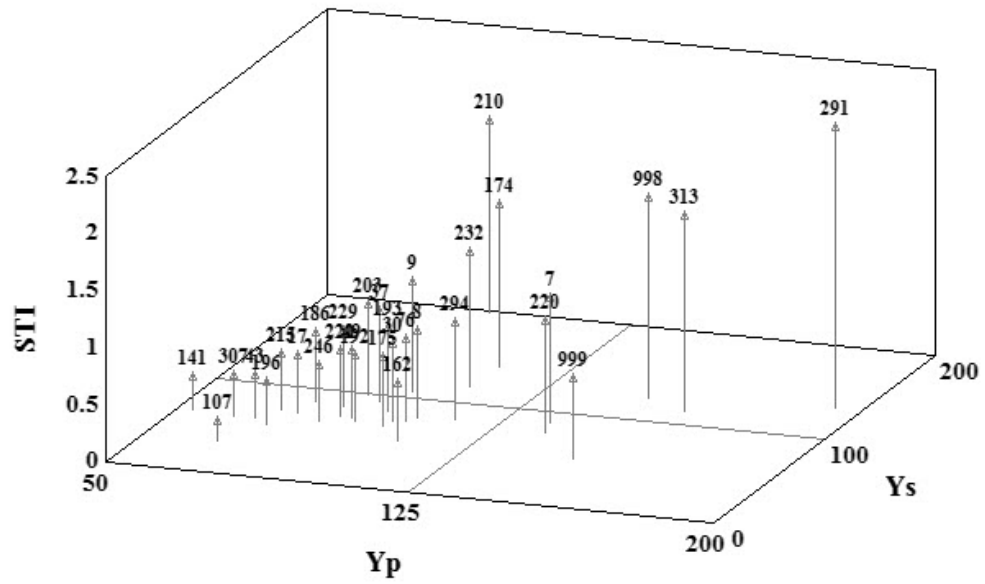
شکل ۲- نمودار پراکنش سه بعدی برای تعیین ارقام متحمل به خشکی براساس عملکرد تحت تنش (Ys) و عملکرد نرمال (Yp) و شاخص HM

Fig. 2. 3D plot for determination tolerant genotypes to drought stress based on Yp, Ys and HM index



شکل ۳- نمودار پراکنش سه بعدی برای تعیین ارقام متحمل به خشکی براساس عملکرد تحت تنش (Ys) و عملکرد نرمال (Yp) و شاخص MP

Fig. 3. 3D plot for determination tolerant genotypes to drought stress based on Yp, Ys and MP index



شکل ۴- نمودار پراکنش سه بعدی برای تعیین ارقام متحمل به خشکی براساس عملکرد تحت تنش (Ys) و عملکرد نرمال (Yp) و شاخص STI

Fig. 4. 3D plot for determination tolerant genotypes to drought stress based on Yp, Ys and STI index

به منظور پی بردن به اهمیت صفاتی که در گروه‌ها نقش دارند، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی قبل از تجزیه خوشه‌ای انجام شد تا اهمیت متغیرهای که در گروه‌ها نقش دارند مشخص شود. از طریق تجزیه به مؤلفه‌های اصلی می‌توان به تأثیر شرایط محیطی بر اهمیت و گروه‌بندی صفات مختلف پی برد. در جدول ۵ مشاهده می‌شود که در حدود ۹۷/۲۴ درصد تغییرات بین داده‌ها توسط دو مؤلفه اول توجیه شد. بنابراین ترسیم بای‌پلات داده‌ها براساس این دو مؤلفه صورت گرفت، در این تحقیق، مؤلفه اول ۶۲/۳۳ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه نمود، که همبستگی بالایی با عملکرد تحت تنش خشکی (Ys) و عملکرد تحت شرایط نرمال (Yp) و همچنین با معیارهای گزینشی MP، GMP، STI و HM نشان داد و رابطه آن با شاخص SSI منفی بود. می‌توان نتیجه گرفت زمانی‌که مؤلفه اول بالا باشد، ژنوتیپ‌هایی انتخاب می‌شوند که

در شرایط تنش خشکی دارای عملکرد بالا هستند و در کنار این به تنش کم‌آبی تحمل نسبی نشان می‌دهند، از این نظر به نام مؤلفه پتانسیل و پایداری عملکرد و تحمل به خشکی نام‌گذاری شد. مؤلفه دوم ۳۴/۹۱ درصد از کل تغییرات موجود بین داده‌ها را توجیه می‌کند و همبستگی منفی با عملکرد تحت شرایط نرمال (Yp) و همبستگی منفی بالایی با شاخص‌های TOL و SSI را نشان داد و با عملکرد تحت شرایط تنش (Ys) و شاخص‌های YSI و YI همبستگی مثبت بالایی نشان داد. می‌توان نتیجه گرفت که اگر مؤلفه دوم مقدارش بالاتر برود، ژنوتیپ‌هایی که عملکرد بالا تحت شرایط تنش و عملکرد پایین تحت شرایط نرمال را دارند، انتخاب می‌شوند. براساس این دو مؤلفه می‌توان ژنوتیپ‌ها را براساس میانگین عملکردشان تحت شرایط مختلف و میزان تحمل آنها به تنش خشکی براساس معیارهای گزینشی در درون گروه‌های مشخص قرار داد. Farayedi (2004) در ارزیابی مقاومت به خشکی در ۲۰ ژنوتیپ نخود کابلی شاخص‌های MP، GMP و STI را به‌عنوان شاخص‌های مناسب برای ارزیابی تحمل به خشکی معرفی نمود.

جدول ۵- مقادیر ویژه، بردارهای ویژه و سهم تجمعی شاخص‌های مقاومت و عملکرد در شرایط نرمال و تنش خشکی در ۳۲ ژنوتیپ لوبیا چشم بلبلی

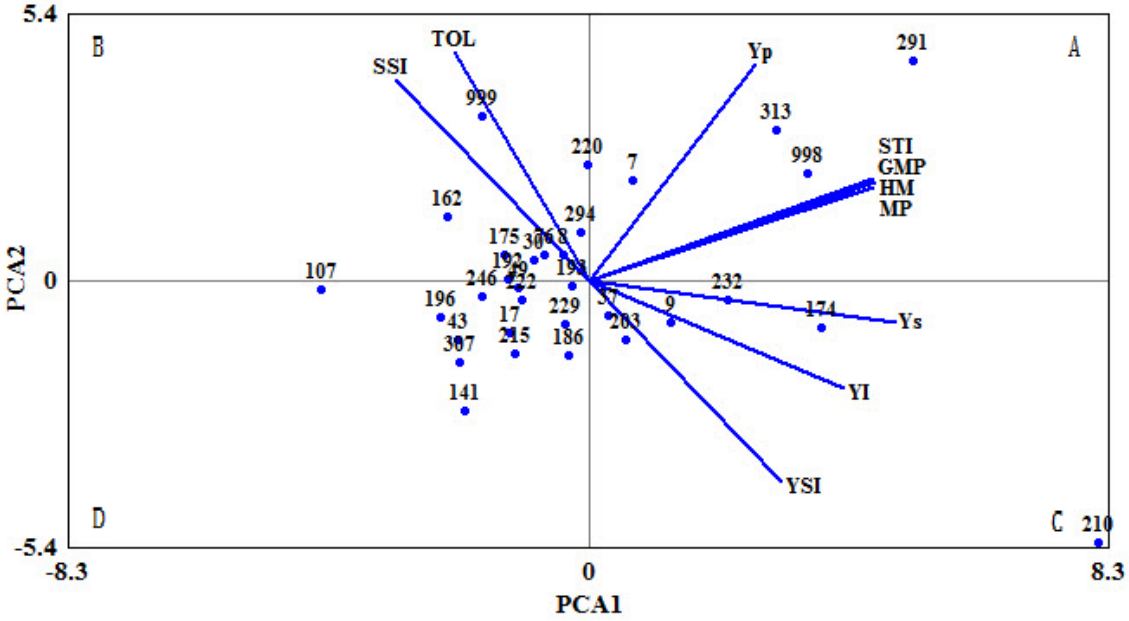
Table 5. Eigen values, eigen vector and cumulative variance of tolerance indices، Yp and Ys in 32 cowpea genotypes

مؤلفه Component	مقادیر ویژه Eigen values	درصد سهم تجمعی Cumltative of (٪) variance	Ys	Yp	TOL	MP	GMP	SSI	YSI	YI	STI	HM
1	6.23	62.33	0.744	0.900	0.115	0.985	0.982	-0.102	0.102	0.466	0.976	0.968
2	3.49	97.24	0.665	-0.418	-0.982	0.160	0.174	-0.990	0.990	0.791	0.164	0.185

Ys=عملکرد تحت شرایط استرس; Yp=عملکرد پتانسیل; TOL=شاخص تحمل تنش; MP=میانگین حسابی; GMP=میانگین هندسی; SSI=شاخص حساسیت تنش; YSI=شاخص پایداری عملکرد; YI=شاخص عملکرد; STI=شاخص تحمل تنش; HM=میانگین هارمونیک.

Ys=Yield stress; Yp= Yield potential; TOL=Tolerance Index; MP=Mean Productivity; GMP=Geometrical Mean Productivity; SSI=Stress Susceptibility Index; YSI=Yield Stability Index; YI=Yield Index; STI=Stress Tolerance Index; HM= Harmonic mean.

براساس اطلاعات جدول ۵ و مقادیر برآورد شده برای مؤلفه‌های اول و دوم، نمودار بای‌پلات برای داده‌ها ترسیم گردید (شکل ۵). در فضای بای‌پلات ژنوتیپ‌ها در گروه‌های مشخصی قرار گرفتند که مرتبط با میانگین عملکرد و تحمل آن‌ها به کمبود آب بود. از آن‌جایی‌که همبستگی بالایی بین عملکرد در شرایط تنش و همچنین شاخص‌های تحمل به خشکی با مؤلفه اول وجود دارد و همبستگی مثبت و معنی‌داری نیز بین مؤلفه دوم و شاخص عملکرد و شاخص پایداری عملکرد وجود دارد، لذا ژنوتیپ‌هایی که در فضای بالایی این دو مؤلفه قرار می‌گیرند (منطقه A) می‌توانند به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی و پرمحصول پیشنهاد شوند. با توجه به زوایای خطوط بر روی بای‌پلات (شکل ۵) که هر کدام از آنها یکی از شاخص‌های گزینش برای خشکی را نشان می‌دهد، ملاحظه می‌شود که شاخص‌های TOL و SSI همبستگی منفی و معنی‌داری با عملکرد تحت شرایط تنش خشکی و همبستگی مثبت با عملکرد دانه در شرایط نرمال را داشتند به طوری‌که ژنوتیپ‌های ۲۲۰، ۹۹۹، ۱۶۲ و ۲۹۴ که در ناحیه B قرار دارند دارای عملکرد بالا تحت شرایط مطلوب بوده ولی عملکرد پایینی تحت شرایط تنش را دارند؛ درحالی‌که شاخص‌های STI، HM، GMP، HM و Yp دارای همبستگی بالایی با عملکرد دانه در هر دو شرایط می‌باشند، براین اساس ژنوتیپ‌های ۲۹۱، ۳۱۳، ۹۹۸ و ۷ که در ناحیه A قرار گرفتند، جزو ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا و متحمل به تنش خشکی می‌باشند، با توجه به این‌که زاویه بین بردارها میزان همبستگی بین متغیرها را نشان می‌دهد، همان‌گونه که ملاحظه می‌شود زاویه بسیار تند بین شاخص‌های HM، GMP، MP و STI نشان‌دهنده همبستگی شدید بین این شاخص‌هاست. نتایج حاصل از این نمودار (شکل ۵)، نتایج نمودارهای سه‌بعدی (شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴) را تأیید می‌کند. همچنین ژنوتیپ‌های ۲۱۰، ۲۳۲، ۱۴۷ و ۹ که در ناحیه C قرار گرفتند، دارای عملکرد بالاتری تحت شرایط تنش خشکی تولید می‌باشند. ژنوتیپ‌های ۱۴۱، ۱۹۶، ۴۳، ۳۰۷، ۲۱۵، ۱۷، ۱۸۶، ۲۲۹، ۲۴۶ و ۱۰۷ که در ناحیه‌ی D با عملکرد پایین تحت شرایط مطلوب و تنش خشکی قرار دارند، به‌عنوان ژنوتیپ‌های دارای عملکرد پایین در هر دو شرایط مطلوب و تنش خشکی معرفی شدند.

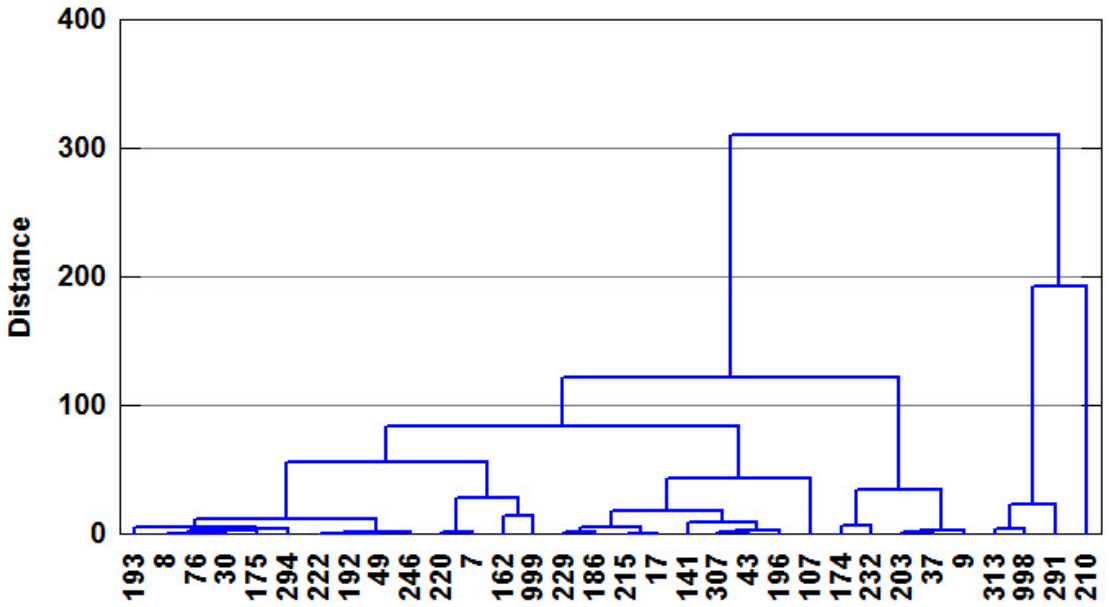


شکل ۵- نمایش بای‌پلات ۳۲ ژنوتیپ لوبیاچشم‌بلبلی در ۱۰ شاخص تحمل به خشکی براساس مؤلفه‌های اصلی اول و دوم

Fig. 5. Biplot display for 32 cowpea genotypes at 10 drought tolerance indices on the basis of first and second principal components

Ys=عملکرد تحت شرایط استرس; Yp=عملکرد پتانسیل; TOL=شاخص تحمل تنش; MP=میانگین حسابی; GMP=میانگین هندسی; SSI=شاخص حساسیت تنش; YSI=شاخص پایداری عملکرد; YI=شاخص عملکرد; STI=شاخص تحمل تنش; HM=میانگین هارمونیک.

Ys=Yield stress; Yp= Yield potential; TOL=Tolerance Index; MP=Mean Productivity; GMP=Geometrical Mean Productivity; SSI=Stress Susceptibility Index; YSI=Yield Stability Index; YI=Yield Index; STI=Stress Tolerance Index; HM= Harmonic mean.



شکل ۶- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ۳۲ ژنوتیپ لوبیا چشم‌بلبلی براساس عملکرد در شرایط نرمال (Yp) و تنش خشکی (Ys) و شاخص‌های تحمل به خشکی با استفاده از روش Ward

Fig. 6. Dendrogram obtained by cluster analysis of 32 cowpea genotypes based on Yp, Ys and drought tolerance indices using Ward′s method

گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه براساس عملکرد دانه در شرایط مطلوب و تنش خشکی و با استفاده از شاخص‌های مورد بررسی با استفاده از روش وارد (Ward) انجام شد، نتایج تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ژنوتیپ ۲۱۰ به تنهایی در کلاستر اول قرار دارد و ژنوتیپ‌های ۳۱۳، ۹۹۸ و ۲۹۱ در کلاستر دوم قرار گرفته‌اند که این ژنوتیپ‌ها همان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی می‌باشند. ژنوتیپ‌های ۹۹۹، ۲۲۰، ۲۴۶، ۱۹۳، ۲۹۴ و ۱۶۲ که دارای عملکرد پایین تحت شرایط تنش خشکی می‌باشند در کلاستر چهارم قرارگرفتند. در لوبیا و نخود سفید توسط Ganjeali *et al.* (2005) و Fernandez (1992) و در لوبیا چشم‌بلبلی و نخود توسط Fathi *et al.* (2012) و Ganjeali *et al.* (2011) از روش تجزیه خوشه‌ای جهت گروه‌بندی ژنوتیپ و ارقام مورد مطالعه استفاده نمودند. آنها لاین‌های مورد مطالعه را به چهار گروه تقسیم کردند که همان چهار گروه A، B، C و D در نمودار سه‌بعدی می‌باشد. استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای جهت گروه‌بندی لاین‌های نخود در شرایط تنش خشکی به‌کار رفته است که لاین‌ها را به چهار گروه تقسیم کردند که همان چهار گروه A، B، C و D در تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بودند (Farshadfar *et al.*, 2001).

نتیجه‌گیری

ژنوتیپ‌های لوبیا چشم بلبلی مورد بررسی در این آزمایش، تنوع قابل ملاحظه‌ای را از نظر عملکرد دانه در دو شرایط تنش خشکی و مطلوب و نیز شاخص‌های مقاومت، حساسیت و پاسخ به تنش خشکی نشان دادند. نتایج حاصل از همبستگی صفات، نشان داد که شاخص‌های STI، GMP، MP و HM در لوبیا چشم‌بلبلی به‌عنوان مناسب‌ترین و کارآمدترین معیارها برای شناسایی و گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به تنش آبی، معرفی می‌شوند. براساس بررسی مجموعه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ‌های ۲۹۱، ۷ و ۳۱۳ در کنار رقم مشهد (۹۹۸) را می‌توان به‌عنوان ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی پیشنهاد نمود. در مجموع می‌توان بیان نمود که با توجه به تنوع ژنتیکی بالا در ژنوتیپ‌های لوبیا چشم‌بلبلی و پتانسیل تحمل به خشکی بالای آنها، اصلاح و معرفی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی برای این گیاه زراعی، امکان‌پذیر می‌باشد.

منابع

1. Ahmadi, J., Zeinaly Khanghah, H., Rostamy, M.A., and Chogan, R. 2000. Study of drought tolerance indices and biplot method in eight corn hybrids. Iranian. J. Agric Sci. 31: 513-523. (In Persian).
2. Ahmadzadeh, A. 1996. Evaluation of best index for drought tolerance in the choosing lines mayse (*Zea mays*. L). MSc. Thesis. College of Agriculture, University of Tehran. (In Persian).
3. Alavi, R., and Shoaie Deilami, M. 2004. Selection of different tobacco cultivars for resistance to drought in Rasht regions. Proceedings of the 8th Agronomy and Plant Breeding of Iran. College of Agricultural Sciences of Guilan, Rasht. p. 78. (In Persian).
4. Blum, A. 1988. Plant Breeding for Stress Environments. CRC Press. Boca Raton. FL. pp. 38-78.
5. Blum, A. 1996. Crop response to drought and the interpretation of adaptation. J. Plant. Growth Regul. 20: 135-148.
6. Bouslama, M., and Schapaugh. W. T. 1984. Stress tolerance in soybean, I Evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. Crop Science 24: 933-937.
7. Debaeke, P., and Abdellah, A. 2004. Adaptation of crop management to water limited environments. Eur. J. Agron. 21: 433-446.
8. Ebrahimi, M., Bihamta, M.R., Hossein zadeh, A.H., Khiyalparast, F., and Golpashi, M. 2010. Evaluation of reaction yield and yield components of white bean genotypes under water stress. Iranian Journal of Field Crops Research 8: 347-358. (In Persian).
9. Entz, M.H., and Flower, B. 1990. Differential agronomic response of winter wheat cultvers to preanthesis environmental stress. Crop Science 30: 1119-1123.
10. Fathi, M., Bihamta, M.R., Mjnoon Hosseini, N., Shah Nejat Biushehry, A.A., and Mohammad AliPour Yamchi, H. 2012. Screening for terminal drought stress tolerance in cowpea genotypes

(*Vigna unguiculata* L.). Iranian Journal of Pulses Research 3(2): 45-54. (In Persian with English Summary).
11. Farayedi, Y. 2004. Evalution of drought resistance in chickpea genotype Kabuli. Journal of Agriculture 6: 27-38. (In Persian).
12. Farshadfar, A., Zamani, M., Talebi Matlabi, M., and Emamjome, A. 2001. Selection for drought resistance chickpea lines. Iranian .J. Agric Sci. 32: 65-76.
13. Fathe Baheri, S., Javanshir, A., Kazemi, H., and Ahari Zad, S. 2003. Evaluation of drought tolerance indices in a spring barley cultivars. Journal of Agricultural Science 13(3): 95-105.
14. Fernandez, G.G.J. 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: C.G. Kuo. (Ed.). Adaptation of food crops to temperature and water stress. AVRDC, Shanhau, Taiwan. pp: 259-270.
15. Fischer, R.A., and Maurer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. Part 1: grain yield response. Aust. J. Agr. Res. 29: 897-912.
16. Gavuzzi, P., Rizza, F., Palumbo, M., Campaline, R.G., Ricciardi, G.L., and Borghi, B. 1997. Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals. Canadian Journal of Plant Science 77: 523-531.
17. Ganjeali, A., Joveynipour, S., Porsa, H., and Bagheri, A. 2011. Selection for drought tolerance in Kabuli chickpea genotypes in Neyshabour region. Iranian Journal of Pulses Research 2(1): 27-38. (In Persian with English Summary).
18. Ganjeali, A., Kafi, M., Bagheri, A.R., and Shahriar, F.A. 2005. Selection for drought resistance in chickpea genotypes (*Cicer arietinum*). Iranian .J. Agric Res. 3: 103-122.
19. Habibi, Gh.M., Ganadha, M.R., Sohani, A.R., and Dory, H.R. 2006. Evaluation of relation of seed yield with important agronomic traits of Red bean by different analysis methods in stress water condition. J. Agric Sci. Natur Resour 13: 1-13. (In Persian with English Summary).
20. Hossain, A.B.S., Sears, A.G., Cox, T.S., and Paulsen, G.M. 1990. Desiccation tolerance and its relationship to assimilate partitioning in winter wheat. Crop Sci. 30: 622-627.
21. Kristin, A.A., Serna, R.R., Perez, F.I., Enriquez, B.C., Gallegos, J.A.A., Vallejo, P.R., Wassimi, N., and Kelley, J.D. 1997. Improving common bean performance under drought stress. Crop Sci 37: 43-50.
22. Majnoon Hoseini, N. 2008. Grain legume production. Jihad-e-Daneshgahi of Tehran Publishers. 284pp. (In Persian).
23. McCaig, T.N., and Clarke, J.M. 1982. Seasonal changes in nonstructural carbohydrate levels of wheat and oats grown in semiarid environment. Crop Sci. 22: 963-970.
24. Moghaddam, A., and Hadizadeh, M.H. 2002. Response of corn (*Zea mays* L.) hybrids and their parental lines to drought using different stress tolerance indices. Iranian Journal of Agricultural Sciences 18(3): 255-272.
25. Naroui Rad, M.R., Ghasemi, A., and Arjmandinejad, A.R. 2010. Study of limited irrigation on yield of lentil genotypes of national Plant Gene Bank of Iran by drought resistance indices. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 7(2): 238-241.
26. Naderi, A., Majidi Herwan, A., Hashemi Dezfoli, A., Rezaii, V., and Nor Mohammadi, Gh. 1999. Analysis performance screening indices in Plants under environmental stress and introduce one new index. Iranian Journal of Agricultural Sciences 15: 390-402. (In Persian).
27. Panthuwan, G., Fokai, S., Cooper, M., Rajatasereekul, S., and Toole, J.C. 2002. Yield response of rice genotypes to different types of drought under rain fed lowlands. Part 1, grain yield and yield components. Field Crop Res. 41: 45-54.
28. Safari, S., Dehghan, H., and Chogan, R. 2007. Evaluation of corn inbred lines for water resistance based on resistance indices and biplot method. Iranian J. Agric. Sci. 38(2): 215-228.

29. Samieezadeh, H.A. 1996. Evaluation of phenotypic and genotypic variation of quantitative traits and their correlation with the yield of Kabuli type chickpea. MSc. Thesis. Islamic Azad University of Karaj.
30. Schneider, K.A., Rosales-Serna, R., Ibarra-Perez, F., Cazares-Enriquez, B., Acosta-Gallegos, J.A., Ramirez-Vallejo, P., Wassimi, N., and Kelly, J.D. 2004. Improving common bean performance under drought stress. Crop Sci. 37: 43-50.
31. Shahram, A., and Daneshi, N. 2005. Appropriate level of irrigation water needed in agriculture white beans. 9th Congress of Soil Science. Iran.
32. Shirinzadeh, A., Zarghami, R., and Shiri, M.R. 2008. Evaluation of drought tolerance in late and medium maize hybrids -using stress tolerance indices. Iranian Journal of Crop Sciences 10(40): 416-427. (In Persian with English Summary).
33. Singh, K.B., and Ocampo, B. 1997. Exploitation of wild cicer species for yield improvement in chickpea. Theor. Appl. Genet. 95: 418-23.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 6, No. 2, 2015, p. 123-138

Screening for drought stress tolerance in cowpea genotypes (*Vigna unguiculata* L.)

Mafakheri[1], Kh., Bihamta[2*], M.R. & Abbasi[3], A.R.

1- PhD. Student of Plant Breeding, Plant Breeding and Biotechnology Department, University of Tabriz
2- Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, University of Tehran
3-Associated Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, University of Tehran

Received: 30 December 2013
Accepted: 20 April 2015

Introduction

Drought stress is one of the most important abiotic stresses all around the world. The aim of breeding studies and breeding for resistance to drought is that breeders seek to identify varieties and genetic resources to drought resistant and comparison of drought resistance among the varieties and the introduction of superior varieties to farmers. Drought or imbalance between supply and demand for water is one of the most important limiting factors affecting crop production which is very important in this context, effective and economic use of water resources especially for areas with arid and semi-arid climatic conditions which covers about two-thirds of the total area of Iran (Shahram & Daneshi, 2005). Breeders have been trying that by testing different varieties under normal and stress conditions to identify varieties and use them to plant breeding programs.

Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), a member of the family leguminous (Fabaceae) is a crop grown under the tropical and sub-tropical areas covering Africa, Asia, South America, and parts of Southern Europe and United States (Singh *et al*., 1997). Dry seeds of cowpea contain 20-25% protein, 1.8% fat, and 60.3% carbohydrate and are rich sources of iron and calcium (Majnoon Hoseini, 2008).

In this study, various drought tolerance indices were used to identify drought resistant in varieties. Indices included drought tolerance, Tolerance Index (TOL), Mean Productivity (MP), Geometric Mean Productivity (GMP), Stress Susceptibility Index (SSI), Yield Stability Index (YSI), Yield Index (YI), Stress Tolerance Index(STI), and Harmonic Mean (HM) (Ahmadi *et al.*, 2000; Fernandez, 1992; Safari *et al.*, 2007; Bouslama & Schapaugh,1984; Gavuzzi *et al.,*1997).

Materials and Methods

In order to study and determine the most effective traits, drought tolerance indices and identify tolerant genotypes in vegetative drought stress on the cowpea genotypes, All 32 cowpea genotypes were cultivated in a randomized complete block design with three replications which each replication consisted of 32 experimental units, each unit or plot, three lines with a length of two meters with line spacing of 70 cm were planted. The distance between rows of plants, 10 cm and 50 cm was considered the distance between each plot, in two separate experiments including normal irrigation and water stress conditions. The study was conducted at Experimental Research Farm, University of Tehran, Karaj Agricultural Research Institute at College of Agriculture and Natural Resources in Karaj, Tehran, Iran during 2014. Drought stress was imposed by doubling the irrigation time about 50 days after planting against normal irrigation on thirty-two cowpea genotypes. Evaluation of drought resistant in different genotypes was conducted using eight indices including Tolerance Index (TOL), Mean Productivity (MP), Geometric Mean Productivity (GMP), Stress Susceptibility Index (SSI), Yield Stability Index (YSI), Yield Index (YI), Stress Tolerance Index (STI), and Harmonic Mean (HM).

Results and Discussion

Analysis of variance showed that there is a significant difference between genotypes for all the indices of drought tolerance and grain yield in both normal and stress conditions ($P \leq 0.01$). This result suggested that the genetic variation among genotypes is capable of selection for drought tolerance.

* **Corresponding Author:** mrghanad@ut.ac.ir

A simple calculation of statistical parameters (mean and standard deviation) for drought tolerance indices indicated that there is a great diversity among the study genotypes which it can be used as rich genetic resources to help breeders to improve and identify resistant varieties.

The average yield of all genotypes under drought stress and normal irrigation condition was Ys = 83.57, and Yp =101.82, respectively. Significant differences between two different conditions indicated that cowpea plant has a high potential for tolerance under drought stress condition. TOL index revealed the lowest average value among various indices (TOL =18.24).

The low level of stress tolerance index shows a high relative tolerance genotype. In fact, stress tolerance index showed the changes of stress condition in genotypes. It means that genotypes with low TOL index indicate less changes and genotypes with high TOL index show more changes.

Correlation coefficient was calculated to determine the relationship between grain yield and drought tolerance indices. The STI, MP, HM and GMP indices which have the most positive and significant correlation with grain yield under stress and non-stress conditions were introduced as the best indices for screening tolerant genotypes to drought and high-yielding in both environmental conditions. Using Biplot scatter graph in 32 cowpea genotypes and according to genotypes situation in Biplot display, genotypes 998, 313, 291 and 7 were identified as tolerant genotypes with high-yield. Cluster analysis based on investigated indices and yield under drought stress and non-stress conditions showed that genotypes were grouped in four clusters and most of the drought tolerant genotypes with high yield were grouped in the second cluster، while most of drought sensitive genotypes were grouped in the fourth cluster.

Conclusions

In this study, genotypes showed high genetic diversity in terms of drought tolerance using drought tolerance indices. Based on the results obtained in this study genotypes 291, 7, 313, and the Mashhad cultivar (998) can be proposed as drought tolerant genotypes.

Key words: Biplot, Cluster analysis, Correlation, Cowpea, Grain yield, Tolerance indices