

بررسی تحمل و سازگاری به تنش خشکی در ژنوتیپ‌های انیسون (*Pimpinella anisum* L.) بومی ایران

شقایق مهروی^۱، غلامعلی رنجبر^{۲*}، حمید نجفی زرینی^۲ و قادر میرزاقداری^۳

- ۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
 - ۲- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری
 - ۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، کردستان
- (تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۳/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۵)

چکیده

انیسون گیاهی یک‌ساله و متعلق به خانواده چتریان است و از اسانس حاصل از میوه آن در صنایع مختلف داروسازی، آرایشی و نوشیدنی استفاده می‌شود. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید انیسون در سراسر دنیا است. در این تحقیق برای بررسی رابطه‌های متقابل میان صفات مختلف و همچنین ارزیابی عملکرد ژنوتیپ‌های انیسون از روش بای‌پلات (نمودار دو وجهی) استفاده شد. در این بررسی ۱۸ ژنوتیپ انیسون در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه وسترن استرالیا، در دو شرایط معمولی و تنش خشکی هرکدام در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار ارزیابی شدند. پانزده صفت پدیدشناختی (فنولوژیکی)، ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل نشان داد که همبستگی ژنوتیپی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد و تعداد میوه و وزن هزار میوه در هر دو شرایط معمولی و تنش خشکی وجود داشت. با توجه به همبستگی منفی و معنی‌دار بین صفات فنولوژیک و عملکرد میوه در دو تیمار متفاوت آبیاری، می‌توان نتیجه گرفت که برای دستیابی برای ژنوتیپ‌هایی با عملکرد میوه بالا، باید به دنبال انتخاب ژنوتیپ‌هایی زودرس در انیسون بود. در این مطالعه، همبستگی معنی‌داری بین صفت محتوای رطوبت نسبی با عملکرد میوه، تحت تیمار تنش مشاهده شد که می‌توان از این صفت به‌عنوان شاخص فیزیولوژیک، برای ارزیابی تحمل خشکی در انیسون استفاده کرد. با توجه به نتایج تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات اندازه‌گیری شده، تحت هر دو شرایط مورد بررسی ژنوتیپ‌ها در سه خوشه گروه‌بندی شدند. با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین خوشه‌ها در شرایط معمولی و تنش، ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۵، ۶، ۱۱، ۱۲، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ به‌عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی شناسایی شدند. از این ژنوتیپ‌ها می‌توان در برنامه‌های اصلاحی بهبود تحمل به خشکی در ژرم پلاسما انیسون استفاده نمود.

واژگان کلیدی: انیسون، تنش خشکی، عملکرد میوه، میزان اسانس، نمودار دو وجهی، همبستگی ژنوتیپی

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: ali.ranjbar@sanru.ac.ir

مقدمه

انیسون با نام علمی *Pimpinella anisum* L. گیاهی یک‌ساله و دارای تعداد کروموزوم متفاوت در فرد هاپلوئید (۹، $n=10$) است که به خانواده چتریان (*Apiaceae*) تعلق دارد. مبدأ انیسون سواحل غربی دریای مدیترانه، مصر و آسیای صغیر گزارش شده است (Omidbeigi, 2005). سرعت بالای رشد رویشی و تشکیل بذر به این گیاه اجازه می‌دهد تا در فصول رشدی مختلف و همچنین در دامنه وسیعی از شرایط آب‌وهوایی سازگاری پیدا کند (Asgari et al., 1998; Omidbeigi, 2005). از موارد استفاده انیسون می‌توان به صنایع پزشکی و دارویی، بهداشتی و آرایشی اشاره کرد. فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضد درد و ضد اسپاسمودیکی، ضد صرعی و حشره انیسون اثبات شده است و همچنین به‌عنوان درمان سنتی زخم معده در نظر گرفته می‌شود (Al Mofleh et al., 2007; Pavela, 2014; Ozbek et al., 2015).

تنوع ژنتیکی به‌عنوان مهم‌ترین عامل بقای موجودهای زنده از جمله گیاهان در برابر تغییر شرایط محیطی و آفات بوده و آگاهی از میزان تنوع ذخایر توارثی (ژرم‌پلاسم) و رابطه‌های ژنتیکی بین آن‌ها یکی از نیازهای اولیه اصلاح گونه‌های گیاهی است (Weir, 1990; Behera et al., 2008). در واقع موفقیت اصلاحگر در برنامه‌های اصلاحی به انتخاب مواد ژنتیکی مناسب و تنوع کافی در آن‌ها بستگی دارد و ارزیابی و تعیین میزان تنوع ژنتیکی، یکی از شاخص‌های مهم گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب و انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی است (Li et al., 2006). بنابراین، گردآوری ذخایر توارثی نخستین گام در اصلاح گیاهان بوده و آگاهی از میزان تنوع ذخایر توارثی و رابطه ژنتیکی بین آن‌ها یکی از نیازهای اولیه اصلاح گونه‌های گیاهی است (Behera et al., 2008).

افزایش عملکرد دانه و درصد اسانس دانه از هدف‌های عمده اصلاح گیاه انیسون است (Yan et al., 2011). عملکرد دانه تولیدی این گیاه، متأثر از ویژگی‌هایی مانند تعداد شاخه، تعداد چتر، تعداد دانه در بوته و وزن هزار دانه

است (Maleki et al., 2017). در بررسی ۴۵ جمعیت این گونه توسط ابوالنصر و اوتایی (Abou El-Nasr and Ottai, 2012)، در دو سال آزمایش تنوع بسیار معنی‌داری را در صفات عملکرد اسانس، ارتفاع بوته، تعداد شاخه اولیه، تعداد چتر، عملکرد میوه و میزان اسانس مشاهده کردند و همبستگی مثبت و معنی‌داری را بین عملکرد هر بوته، درصد اسانس و تعداد شاخه‌های اولیه در هر گیاه با درصد اسانس گزارش کردند. کارا (Kara, 2015) جمعیت‌های گردآوری شده از منطقه Burdur ترکیه را از لحاظ ویژگی‌های عملکرد دانه، ارتفاع بوته، تعداد شاخه اصلی، تعداد چتر و چترک در بوته، وزن هزار دانه، درصد اسانس و ترکیب‌های اسانس در دو سال بررسی کرد و گزارش کرد که عملکرد دانه، عملکرد اسانس و ترکیب‌های اسانس تحت تأثیر شرایط آب‌وهوایی قرار می‌گیرد و در سال دوم نسبت به سال اول آزمایش افزایش داشت. ملکی و همکاران (Maleki et al., 2017) در ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های انیسون جمع‌آوری شده از اراک، قزوین و کرج، بیشترین ضریب‌های تنوع فنوتیپی و ژنتیکی را در صفات عملکرد دانه، درصد اسانس دانه و عملکرد زیست‌توده و بالاترین وراثت‌پذیری عمومی را در صفات درصد اسانس دانه، عملکرد زیست‌توده، عملکرد دانه، ارتفاع بوته و تعداد چتر گزارش کردند. تنش خشکی یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های محیطی است که تولید محصولات کشاورزی را با محدودیت روبه‌رو می‌کند (Erice et al., 2011). یکی از حساس‌ترین مراحل رشدی گیاهان به تنش خشکی، مرحله زایشی و تشکیل بذر است که بعضی از گونه‌های گیاهی می‌توانند چرخه زندگی خود را در شرایط بهینه کامل کنند و یا با برخی تغییرات مورفولوژیکی و متابولیکی به آن سازگار شوند (Blum, 1996; Zeinaly-Khanghah et al., 2004; Mardeh et al., 2006; Wahb-Allah et al., 2011). شدت، مدت زمان تنش و مرحله رشد و نموی گیاه در مورد سازگاری و پاسخ به تنش خشکی اهمیت دارند (Kramer and Boyer, 1995). تحمل به خشکی یک صفت کمی و متأثر از سازوکارهایی است که شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی را بسیار

ژنوتیپ \times صفت یک بردار از مبدأ نمودار دوجهی تا موقعیت هر صفت کشیده می‌شود تا ارتباطات درونی بین دو یا چند صفت نشان داده شود (Yan and Kang, 2002). در صورتی که نمودار دوجهی میزان کافی از تنوع کل را توجیه کند، ضریب همبستگی بین دو صفت با کسینوس زاویه بین این بردارها تقریب زده می‌شود؛ به طوری که $r = \cos 180 = -1$ و $r = \cos 0 = 1$ و $r = \cos 90 = 0$ خواهد بود. ژنوتیپ یا صفت مطلوب با یکسری دایره‌های متحدالمركز در اطراف آن مشخص می‌شود. ژنوتیپ یا صفت‌های نزدیک‌تر به مطلوب در دایره‌های بیشتری سهیم هستند؛ در واقع ژنوتیپ یا صفت مطلوب بیشترین دواير متحدالمركز در اطراف خود را دارند. طول بردار در نمودار دو وجهی تا حدودی متناسب با انحراف معیار استاندارد آنها است، بنابراین طول بردار بیشتر نشان‌دهنده نقش بیشتر آن ژنوتیپ یا صفت در توجیه تنوع داده‌های نمودار دوجهی است. با استفاده از چندضلعی نمودار دوجهی ژنوتیپ \times صفت مقایسه ژنوتیپ‌ها بر پایه چندین صفت صورت می‌گیرد و ژنوتیپ‌هایی که از لحاظ بعضی صفات خاص برتر هستند شناسایی می‌شوند (Gholizadeh *et al.*, 2018a). خطوط عمود بر اضلاع چندضلعی مقایسه بین ژنوتیپ‌های نزدیک به هم در رأس چندضلعی را آسان می‌کند. بر پایه نظریه نمودار دوجهی چنانچه نمودار دوجهی بتواند به اندازه کافی تنوع داده‌ها را توجیه کند، ژنوتیپ‌های قرار گرفته در یک سوی خطوط عمود بر نمودار دوجهی و بالای میانگین عملکرد دارای عملکرد بالا و ژنوتیپ‌های قرار گرفته در سوی دیگر خطوط عمود بر نمودار دوجهی عملکرد پایین‌تر از میانگین دارند (Yan and Rajcan, 2002).

در زمینه ارزیابی ژنوتیپ‌های انیسون با در نظر گرفتن چندین صفت به طور هم‌زمان از روش نمودار دوجهی تاکنون مطالعه‌ای صورت نپذیرفته است. با این حال در بسیاری از پژوهش‌ها روی گیاهان دیگر از روش یاد شده استفاده شده است. در بررسی یان و کنگ (Yan and Kang, 2002) برای ارزیابی رابطه‌های متقابل میان صفات در گیاه سویا با به‌کارگیری روش نمودار دوجهی ژنوتیپ \times صفت گزارش

دشواری کرده و محدودیت‌هایی نیز در این زمینه وجود دارد. مشخص شده است، تنش از طریق تأثیر بر فیزیولوژی گیاه و اجزاء مختلف عملکرد، در نهایت باعث کاهش عملکرد دانه می‌شود (Mardeh *et al.*, 2006)؛ بنابراین عملکرد دانه به‌عنوان معیار انتخاب نهایی برای تحمل به تنش است. از سوی دیگر عملکرد جزء صفاتی است که در بیشتر گیاهان توارث کمی دارد و به‌طور گسترده‌ای تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرد (Duhon *et al.*, 1982; Brandle and McVetty, 1989). از این رو متخصصان اصلاح‌نیاتات به‌طور معمول انتخاب به‌طور غیرمستقیم و با استفاده از صفات مرتبط با عملکرد را ترجیح می‌دهند (Falconer *et al.*, 1996; Kearsley and Pooni, 1996). بررسی رابطه بین عملکرد و اجزای آن کارایی برنامه‌های اصلاحی را از طریق انتخاب شاخص‌های مناسب افزایش می‌دهد. هرچند روش‌های مختلفی برای بررسی رابطه بین صفات مختلف وجود دارد ولی یان و همکاران (Yan *et al.*, 2000)، روش $GGEbiplot^1$ را ارائه کرده‌اند که با استفاده از روش رگرسیون مکانی ($SREG^2$)، بررسی بهتری از وضعیت ژنوتیپ‌ها و صفات ارائه می‌کند. نمودار دوجهی ژنوتیپ \times صفت ($GTbiplot^3$) یک ابزار مناسب برای بررسی چشمی روابط بین صفات، ارزیابی ژنوتیپ‌ها و روابط بین ژنوتیپ‌ها است. با توجه به ارتباطات درونی صفات مختلف، انتخاب بر پایه عملکرد دانه به‌تنهایی کارساز نیست و بایستی در برنامه‌های اصلاحی چندین صفت به‌طور هم‌زمان بررسی شود که این کار از عهده نمودار دوجهی ژنوتیپ \times صفت بر می‌آید (Yan and Kang, 2002). اگرچه نمودار دوجهی ژنوتیپ \times صفت نمی‌تواند به‌طور دقیق میانگین صفات را نشان دهد، اما الگوی اساسی و مهم داده‌ها را نشان می‌دهد. علت این امر آن است که نمودار دوجهی ژنوتیپ \times صفت نمی‌تواند همه تنوع موجود در داده‌ها را توجیه کند. نمودار دوجهی ژنوتیپ \times صفت می‌تواند به انتخاب ژنوتیپ‌ها بر پایه چندین صفت کمک کند (Yan and Rajcan, 2002). در نمودار دوجهی

1- Genotype + genotype \times environment interaction biplot (GGEbiplot)
2- Site regression
3- Genotype by trait biplot

جدول ۱- کد شماره و محل جمع‌آوری ۱۸ ژنوتیپ

انیسون بومی ایران

Table 1. Code number and origin of 18 Iranian endemic anise genotypes

کد	محل جمع‌آوری	کد	محل جمع‌آوری
Code	Collection site	Code	Collection site
G1	آذربایجان غربی West Azerbaijan	G10	بوشهر Booshehr
G2	مرکزی Markazi	G11	گرگان Gorgan
G3	اصفهان Esfahan	G12	اردبیل Ardabil
G4	فارس Fars	G13	یزد Yazd
G5	مازندران Mazandaran	G14	کرمان Kerman
G6	زنجان Zanjan	G15	مرکزی Markazi
G7	همدان Hamedan	G16	اصفهان Esfahan
G8	کردستان Kordestan	G17	گیلان Gilan
G9	لرستان Lorestan	G18	سمنان Semnan

پس از عملیات خاک‌ورزی و اجرای نقشه طرح، کرت‌هایی با ابعاد ۲ × ۴ متر ایجاد و در داخل هر کرت ۲ ردیف با فواصل ۳۰ سانتیمتری و فاصله بوته‌ای ۱۵ سانتی‌متری برای کاشت در نظر گرفته شد (Dyulgerov and Dyulgerova, 2013). روش آبیاری و اعمال تنش به‌صورتی بود که در آزمایش اول مربوط به آبیاری معمولی، آبیاری در زمان رسیدن رطوبت خاک به ۵۰ درصد آب در دسترس گیاه (PAW²) انجام شد و در آزمایش دوم مربوط به تنش، آبیاری تا هنگام آغاز تشکیل میوه به‌صورت معمولی انجام و پس از این مرحله آبیاری قطع شد (Rebey *et al.*, 2012). همچنین در طول فصل رشد، کود دهی با توجه به نیاز گیاه انجام شد و علف‌های هرز به‌صورت دستی، وجین شدند. صفات مورد ارزیابی و نحوه اندازه‌گیری آن‌ها: اندازه‌گیری‌های صفات در هر جمعیت بر روی ۴۵ بوته (۱۵ بوته در هر تکرار) به‌صورت تصادفی انجام گرفت. صفات مورد اندازه‌گیری شامل تعداد روز تا پایان گل‌دهی، تعداد روز تا رسیدگی، تعداد برگ، قطر ساقه (mm) در زمان برداشت، ارتفاع بوته در زمان

کردند این روش ابزار بسیار قوی برای کاوش در داده‌های چندمتغیره و نمایش نگاره‌ای (گرافیکی) داده‌های ژنوتیپ × صفت است. در پژوهش دیگری کاپلن (Kaplan *et al.*, 2017) برای انتخاب رقم‌های اصلاحی از لحاظ چند صفت در ذرت از جی‌تی‌بی‌پلات استفاده کردند و رویکرد یاد شده را به‌عنوان روشی که جنبه‌های مختلف را برای گزینش رقم‌ها در نظر می‌گیرد، معرفی کردند. در پژوهش ضابط و همکاران (Zabet *et al.*, 2020) نیز از نمودار دووجهی ژنوتیپ × صفت برای ارزیابی و انتخاب رقم‌های مختلف رازیانه بر مبنای چندین صفت استفاده کردند. در پژوهش‌های دیگری برای بررسی رابطه‌های بین صفات و همچنین ارزیابی و انتخاب رقم‌های مختلف گندم از لحاظ چند صفت از روش جی‌تی‌بی‌پلات استفاده کردند (Dehghani *et al.*, 2012; Akbarpour *et al.*, 2015; Gholizadeh and Dehghani, 2016; Kendal, 2019).

بررسی همبستگی بین صفات با استفاده از روش جی‌تی‌بی‌پلات در ۱۵ ژنوتیپ گشنیز نشان داد که صفات تعداد چتر در گیاه، تعداد میوه در چتر و وزن خشک گیاه همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد دانه داشت (Khodadadi *et al.*, 2016b). با توجه به بررسی منابع، تاکنون مطالعه‌ای در مورد بررسی روابط متقابل میان صفات و ژنوتیپ‌ها در انیسون، با استفاده از روش جی‌تی‌بی‌پلات انجام نشده است؛ بنابراین، هدف از مطالعه حاضر بررسی روابط متقابل میان صفات و مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف انیسون از لحاظ چندین صفت، با استفاده از روش جی‌تی‌بی‌پلات بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و نحوه اعمال تنش: مواد گیاهی استفاده شده در این تحقیق شامل ۱۸ ژنوتیپ بومی ایران (جدول ۱) تهیه شده از بانک ژن موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور^۱ بود. این ژنوتیپ‌ها در دو آزمایش آبیاری معمولی و تنش خشکی هر کدام در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه دانشکده علوم زیست‌شناسی دانشگاه استرالیای غربی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

1- Research institute of forests and rangelands (RIFR)
2- Plant available water, PAW

تجزیه و تحلیل آماری: ابتدا نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون نرمالیتی کولموگوروف-اسیمرونوف^۴ (Lilliefors, 1967) با استفاده از نرم‌افزار SPSS 20 (SPSS, 2010) ارزیابی شد. در گام دوم پس از آزمون همگنی اشتباهات آزمایشی در دو شرایط، تجزیه مرکب داده‌ها انجام شد. به منظور بررسی رابطه‌های بین صفات مختلف و مقایسه ژنوتیپ‌ها از روش GT biplot استفاده شد که در این روش ترسیم نمودار دوجویی بر پایه دو مؤلفه اصلی اول و دوم صورت گرفت. مدل آماری این روش بر پایه رابطه زیر است (Yan and Rajcan, 2002).

$$\frac{T_{ij} - \bar{T}_j}{S_j} = \lambda_1 \xi_{i1} \tau_{j1} + \lambda_2 \xi_{i2} \tau_{j2} + \varepsilon_{ij} \quad \text{رابطه (۳)}$$

در رابطه بالا T_{ij} ، ارزش میانگین ژنوتیپ i برای صفت j ، \bar{T}_j ارزش میانگین صفت j روی همه ژنوتیپ‌ها، λ_1 و λ_2 به ترتیب مقادیر منفرد مؤلفه‌های اصلی اول و دوم، ξ_{i1} و ξ_{i2} ، به ترتیب مقادیر PC_1 و PC_2 برای ژنوتیپ i ، τ_{j1} و τ_{j2} به ترتیب مقادیر PC_1 و PC_2 برای صفت j و ε_{ij} باقی مانده مربوط به مدل ژنوتیپ i و صفت j را نشان می‌دهند.

واریانس ژنتیکی و فنوتیپی صفات مورد مطالعه بر اساس امیدریاضی میانگین مربعات برآورد گردیدند. ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنتیکی به ترتیب به صورت نسبت انحراف معیار فنوتیپی و ژنتیکی به میانگین هر صفت بر روی دو محیط بر اساس روابط زیر محاسبه گردید (Hallauer et al., 2010).

$$PCV = \frac{\sqrt{\sigma_{ph}^2}}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{رابطه (۴)}$$

$$GCV = \frac{\sqrt{\sigma_g^2}}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{رابطه (۵)}$$

ضرایب همبستگی ژنوتیپی و فنوتیپی با استفاده از واریانس‌ها و کوواریانس‌های ژنوتیپی و فنوتیپی از طریق فرمول‌های ارائه شده توسط روی (Roy, 2000) و برآورد

برداشت (cm)، وزن خشک بوته (g)، تعداد شاخه در هر بوته، تعداد چتر در هر بوته، تعداد میوه در هر بوته، وزن هزار میوه (g)، عملکرد میوه در بوته (g)، شاخص برداشت^۱، محتوای رطوبت نسبی برگ^۲ (RWC) (درصد) و میزان اسانس میوه^۳ (درصد) مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص برداشت با استفاده از رابطه شماره ۱ محاسبه گردید (Huehn, 1993).

$$HI = \frac{Yield}{Yield + DW} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن Yield عملکرد میوه و DW وزن خشک بوته بدون میوه است.

برای محاسبه محتوای رطوبت نسبی برگ، نمونه‌برداری از برگ‌های پایه در زمان اتمام گل‌دهی و اوج تنش انجام شد و پس از توزین، ابتدا نمونه‌ها درون آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند و پس از خشک کردن سطح برگ‌ها، وزن حالت اشباع اندازه‌گیری شد. سپس برای به دست آوردن وزن خشک، نمونه‌ها در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند و در نهایت محتوای رطوبت نسبی توسط رابطه شماره ۲ محاسبه گردید (Turner, 1986).

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad \text{رابطه (۲)}$$

که در آن FW وزن تر، TW وزن حالت اشباع و DW وزن خشک نمونه‌ها هستند.

برای اندازه‌گیری مقدار اسانس ابتدا مقدار ۳۰g از بذره‌های هر جمعیت با استفاده از ترازو (مدل PS 1000.R1) وزن شد. سپس با استفاده از آسیاب برقی بذرها کاملاً خرد و در داخل ۲۵۰ ml آب مقطر حل شد. در نهایت مخلوط حاصل در داخل مخزن دستگاه کلونجر قرار گرفت. سپس دستگاه را روی دمای ۱۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده و بعد از یک و نیم ساعت، اسانس استخراج شده در میکروتیوب‌های ۱/۵ ml ریخته شد و میزان اسانس برحسب میکرولیتر محاسبه شد (Msaada et al., 2009).

1- Harvest index
2- Relative water content
3- Essential oil content
4- Kolmogorov-Smirnov

مرحله و سایر مراحل خوشه‌بندی محاسبه شد. سپس اختلاف آماره ویلکس لامبدا را برای تمام مراحل متوالی و پشت سر هم واریانس چندمتغیره محاسبه شد. اولین نقطه‌ای که تفاوت دو آماره ویلکس لامبدا بیشترین مقدار $(\Lambda_{K-1} - \Lambda_K = \text{Max})$ بود به‌عنوان نقطه برش انتخاب شد و تعداد خوشه‌ها برابر با K تعیین گردید (Johnson and Wichern, 1992). برای تأیید صحت بهترین خوشه‌بندی، بالاترین مقدار ضریب همبستگی کوفنتیک از بین سایر روش‌ها استفاده شد. برای تعیین فاصله ژنتیکی بین خوشه‌های به‌دست آمده، از فاصله ماهالانویس (D^2) استفاده شد. همچنین برای بررسی تفاوت خوشه‌ها از نظر دسته‌بندی توده‌های مختلف، مقایسه میانگین چندمتغیره بین بردار میانگین خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای مجموعه صفات مورد بررسی انجام شد که نشان دهنده حداکثر اختلاف بین بردار میانگین خوشه‌ها بود. محاسبات آماری در این پژوهش با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS 20 (SPSS, 2010)، SAS 9.1 (SAS, 2011) و GGEbiplot (GGEbiplot, 2011) انجام شد.

نتایج و بحث

آزمون کولموگروف-اسیمرونوف (Lilliefors, 1967) نشان‌دهنده نرمال بودن توزیع خطاهای آزمایشی، برای صفات مورد مطالعه بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات نشان داد که اثر محیط برای کلیه صفات مورد بررسی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). به این مفهوم که محیط بدون تنش و تنش خشکی اثر یکسانی بر روی صفات مذکور نداشتند. یکی از دلایل آن این است که بیشتر صفات مذکور به‌دلیل زمان بروز و تکمیل شدن آن‌ها و عوامل دیگر، بیشتر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرند و بخش عمده‌ای از دوره تداوم این صفات مانند عملکرد میوه در مراحل انتهایی رشد گیاه است که به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تغییرات شرایط تنش قرار گرفتند.

وراثت‌پذیری عمومی نیز از طریق معادلات زیر محاسبه شدند (Hallauer et al., 2010):

$$r_{ph} = \frac{\hat{\sigma}_{ph12}}{\sqrt{(\hat{\sigma}_{ph1}^2)(\hat{\sigma}_{g2}^2)}} \quad \text{رابطه (۶)}$$

$$r_g = \frac{\hat{\sigma}_{g12}}{\sqrt{(\hat{\sigma}_{g1}^2)(\hat{\sigma}_{g2}^2)}} \quad \text{رابطه (۷)}$$

$$\hat{h}_B^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_{ph}^2} \quad \text{رابطه (۸)}$$

درصد پیشرفت ژنتیکی نیز به روش الارد (Allard, 1999) با استفاده از رابطه شماره (۹) محاسبه شد.

$$GA \% = \frac{i \times \hat{h}_B^2 \times \hat{\sigma}_{ph}}{\bar{X}} \times 100 \quad \text{رابطه (۹)}$$

در این رابطه‌ها $\hat{\sigma}_g^2$ برآورد واریانس ژنتیکی، $\hat{\sigma}_{ph}^2$ برآورد واریانس فنوتیپی، $\hat{\sigma}_e^2$ برآورد واریانس خطا، \hat{h}_B^2 وراثت‌پذیری عمومی، \bar{X} میانگین صفت مورد نظر و $\hat{\sigma}_{ph12}$ کوواریانس محیطی دو صفت مورد نظر می‌باشد. ضریب i در ۱۰٪ شدت گزینش برابر با $1/\sqrt{6}$ در نظر گرفته شد.

برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در دو شرایط معمولی و تنش خشکی، از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد^۱ و ضریب مربع فاصله اقلیدسی استفاده شد. تعداد خوشه‌ها و نقطه برش بر اساس حداکثر اختلاف آماره ویلکس لامبدا (Λ) تجزیه واریانس چندمتغیره در دو مرحله متوالی خوشه‌بندی تعیین شد. به این ترتیب که مقدار آماره ویلکس لامبدا (Λ_n) وقتی که هر فرد یک خوشه را تشکیل می‌دهد برابر با صفر است و در آخرین مرحله مقدار آماره ویلکس لامبدا (Λ_1) که همه ژنوتیپ‌ها یک خوشه را تشکیل می‌دهند، برابر با یک خواهد بود. با آغاز خوشه‌بندی با در نظر گرفتن نقاط برش فرضی و تشکیل خوشه‌ها در هر مرحله تعداد خوشه به‌عنوان تعداد تیمار و تعداد ژنوتیپ درون هر خوشه برابر با تعداد تکرار آن تیمار در نظر گرفته شد. سپس تجزیه واریانس چندمتغیره برای یک طرح کاملاً تصادفی با تعداد تیمار برابر با تعداد خوشه انجام و مقدار آماره Λ در آن

شرایط متفاوت بدون تنش و تنش خشکی یکسان نبود. با توجه به معنی‌دار بودن اثر محیط برای کلیه صفات مورد بررسی، در ادامه تأثیر تنش خشکی (کم‌آبیاری) بر صفات مورد بررسی مورد بحث قرار گرفت.

اثر تنش خشکی بر صفات مورد بررسی: تأثیر تنش خشکی بر ارتفاع بوته، عملکرد بیولوژیک و تعداد برگ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی معنی‌دار بود. ژنوتیپ‌های انیسون از لحاظ صفات مذکور تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای این صفات معنی‌دار بود (جدول ۳). به طوری که در شرایط آبیاری معمولی بیشترین مقدار ارتفاع بوته، عملکرد بیولوژیک و تعداد برگ به ترتیب متعلق به ژنوتیپ‌های ۱۶، ۸ (۴۹/۳) گرم در بوته) و (۵۸/۹ سانتی‌متر) و ۱۷ (۱۷۳) عدد) بود (داده‌ها نشان داده نشده است). در شرایط تنش بیشترین مقدار ارتفاع بوته در ژنوتیپ ۱۰ (۵۰/۹ سانتی‌متر) بود. همچنین در شرایط تنش بیشترین مقدار تعداد برگ و عملکرد بیولوژیک در ژنوتیپ ۵ (۷۴/۶ عدد و ۱۲/۱ گرم در بوته) بود. در مجموع نتایج نشان داد که تحت شرایط تنش صفات ارتفاع بوته و تعداد برگ در مقایسه با شرایط آبیاری معمولی کاهش یافتند. در واقع تنش خشکی با محدودیت‌هایی که در جذب آب توسط گیاه و همچنین جذب عناصر غذایی برای گیاه ایجاد می‌کند باعث کاهش بیوماس تولیدی می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007). به عقیده بسیاری از پژوهشگران، نخستین و حساس‌ترین واکنش نسبت به کمبود آب، کاهش در آماس سلول و در نتیجه کاهش رشد می‌باشد (Mandal et al., 2008). به نظر می‌رسد که کاهش عملکرد و رشد گیاه انیسون تحت تنش در نتیجه محدودیت آبی ناشی از اعمال تیمار تنش باشد که رشد و توسعه سلول‌ها را کاهش داده و در نهایت، رشد گیاه را محدود می‌کند. کاهش وزن تک‌بوته در طی افزایش سطح تنش خشکی می‌تواند مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش تعداد و سطح برگ تولیدی و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه باشد.

تأثیر تنش خشکی بر تعداد شاخه گیاه انیسون در ژنوتیپ‌های مورد بررسی معنی‌دار بود. ژنوتیپ‌های انیسون نیز از لحاظ تعداد شاخه تفاوت معنی‌داری داشتند.

جدول ۲- مقادیر P-value برای آزمون کولموگروف-

اسیمرنوف برای عادی بودن خطاهای آزمایشی در انیسون
Table 2. P-value estimates for Kolmogorov-Smirnov test for normality of experimental errors in anise

صفات Traits	آماره آزمون	
	Statistic test	
	تنش Stress	معمولی Non-stress
تعداد چتر Umber number	0.47 ^{ns}	0.75 ^{ns}
تعداد برگ Leaf number	0.91 ^{ns}	0.72 ^{ns}
وزن هزار میوه Fruit thousand weight	0.42 ^{ns}	0.37 ^{ns}
قطر ساقه Stem diameter	0.12 ^{ns}	0.81 ^{ns}
تعداد شاخه Branch number	0.96 ^{ns}	0.62 ^{ns}
ارتفاع بوته Plant height	0.66 ^{ns}	0.90 ^{ns}
وزن خشک بوته Plant dry weight	0.75 ^{ns}	0.44 ^{ns}
محتوای رطوبت نسبی Relative water content	0.92 ^{ns}	0.84 ^{ns}
تعداد میوه Fruit number	0.44 ^{ns}	0.89 ^{ns}
میزان اسانس میوه Essential oil	0.52 ^{ns}	0.92 ^{ns}
عملکرد میوه Plant fruit yield	0.99 ^{ns}	0.63 ^{ns}
شاخص برداشت Harvest index	0.79 ^{ns}	0.25 ^{ns}
تعداد روز تا رسیدگی Days to ripening	0.05 ^{ns}	0.11 ^{ns}
تعداد روز تا گل‌دهی Days to flowering	0.09 ^{ns}	0.20 ^{ns}
عملکرد اسانس میوه Essential oil yield	0.34 ^{ns}	0.23 ^{ns}

^{ns}: نشان دهنده عادی بودن توزیع خطاهای آزمایشی

^{ns}: Indicating normality of experimental errors distribution

همچنین بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات، تنوع قابل‌ملاحظه‌ای در هر دو محیط وجود داشت (جدول ۳) که مفهوم آن این بود که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری از نظر کلیه صفات مورد بررسی وجود داشت. اثر متقابل ژنوتیپ × محیط نیز برای کلیه صفات معنی‌دار بود (جدول ۳)، به این مفهوم که واکنش ژنوتیپ‌های مختلف به

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب صفات مورد بررسی در ۱۸ ژنوتیپ انیسون بومی ایران

Table 3. Combined analysis of variance for studied traits in 18 Iranian endemic anise genotypes.

منابع تغییرات Source of variation	D.F.	میانگین مربعات Mean Squares														
		روز گل‌دهی Days to flowering	تا رسیدگی تا گل‌دهی Days to ripening	شاخص برداشت میوه Harvest index	تعداد میوه Fruit number	میزان اسانس عملکرد Essential oil yield	محتوای رطوبت نسبی Relative water content	وزن خشک Plant dry weight	ارتفاع بوته Plant height	تعداد شاخه Branch number	قطر ساقه Stem diameter	وزن هزار میوه Fruit thousand weight	تعداد برگ Leaf number	تعداد عملکرد اسانس Essential oil yield number		
تیمار آبیاری Water treatment (WT)	1	4045.6**	1680.3**	4.1**	76.0*	0.02*	18273442.2**	2701.5**	13590.1**	560.4*	2090.9*	70.2**	1589.1**	481881.8**	2.70**	111920.8**
تکرار در تیمار آبیاری Rep (WT)	4	28.2	13.8	0.02	4.9	0.003	8955.5	36.0	7.5	10.3	2.1	0.3	0.2	559.6	0.09	1681.3
ژنوتیپ Genotype (G)	17	474.6**	461.9**	0.05**	13.0**	0.05**	75486.3**	103.4**	144.0**	191.7*	22.9**	7.1**	4.9**	5070.7**	0.61**	958.2**
ژنوتیپ × تیمار آبیاری G × WT	17	38.8**	63.5**	0.04**	4.8**	0.007*	102080.8**	73.9**	92.2**	92.4**	10.9**	5.1**	4.7**	2864.7**	1.02**	766.9**
خطا Error	68	6.50	6.57	0.005	0.67	0.004	16379.36	12.93	10.08	10.18	2.35	0.47	0.14	135.5	0.12	167.4
ضریب تغییرات (%) CV%		5.12	18.21	22.11	16.15	6.58	11.84	8.29	13.25	15.74	14.65	8.57	18.12	10.65		15.28

* و **: بدترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: Significant at the 0.05 and 0.01 probability level, respectively.

دانه و در نهایت کاهش عملکرد دانه می‌شود. تنش خشکی علاوه بر محدود کردن منبع (کاهش سطح برگ و غیره)، سبب کاهش قدرت مخزن (کاهش تعداد دانه در چتر و غیره) و ظرفیت ذخیره‌ای می‌شود (Zhang and John, 2005)؛ بنابراین کاهش منبع و فتوسنتز جاری از طرفی و کاهش مقدار انباشت و انتقال مجدد مواد از طرفی دیگر، موجب کاهش عملکرد دانه می‌شود. محققان کاهش عملکرد دانه را با افزایش فواصل آبیاری، کاهش اجزای عملکرد از جمله تعداد چتر در بوته، تعداد چترک در چتر و تعداد دانه در چترک عنوان کرده‌اند (Zehtab-Salmasi et al., 2006; Noroozi-Shahri et al., 2015; Gholizadeh et al., 2019). تأثیر تنش خشکی بر شاخص برداشت گیاه انیسون معنی‌دار بود. ژنوتیپ‌های انیسون نیز از لحاظ شاخص برداشت تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). به طوری که در شرایط آبیاری معمولی بیشترین مقدار شاخص برداشت در ژنوتیپ ۱۳ (۶۱٪ درصد) بود. در شرایط تنش خشکی بیشترین مقدار شاخص برداشت در ژنوتیپ ۴ (۷۸٪ درصد) بود. با توجه به نتایج بدست آمده بیشترین میزان شاخص برداشت در شرایط تنش خشکی مشاهده شد. بهبود شاخص برداشت به افزایش ظرفیت فیزیولوژی فتوسنتز و انتقال آن‌ها به درون اندام‌های اقتصادی مهم (دانه‌ها) اشاره دارد (Golparvar et al., 2002)؛ بنابراین، افزایش عملکرد دانه از طریق تخصیص بیشتر مواد فتوسنتزی به مخازن (دانه‌ها) عملی خواهد بود که در این صورت شاخص برداشت افزایش محسوسی خواهد داشت. به طور کلی، نتایج به دست آمده مبین این موضوع می‌باشد که در شرایط تنش خشکی، افزایش شاخص برداشت سبب کارایی بیشتر توزیع مجدد ماده خشک به میوه می‌شود که این امر امکان استفاده از شاخص برداشت در برنامه‌های اصلاحی برای عملکرد میوه در شرایط تنش را امکان‌پذیر می‌کند. در واقع در شرایط تنش خشکی گیاه انیسون ترجیح می‌دهد که انرژی خود را صرف عملکرد اقتصادی (میوه) کند و عملکرد بیولوژیک کاهش می‌یابد.

همچنین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). در شرایط آبیاری معمولی بیشترین مقدار تعداد شاخه در ژنوتیپ ۱۳ (۲۰/۴ عدد) بود. در شرایط تنش بیشترین مقدار تعداد شاخه در ژنوتیپ ۱۶ (۸/۴ عدد) مشاهده شد. نتایج نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی صفت تعداد شاخه در مقایسه با آبیاری معمولی کاهش یافت. علت کاهش رشد و تعداد شاخه در تنش خشکی این‌طور بیان شده است که فعالیت آنزیم ایندول استیک اسید اکسیداز (IAAO) در بافت‌های گیاهی که دارای رشد سریعی می‌باشند، بسیار کم است ولی فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی افزایش یافته و موجب تجزیه هورمون اکسین در گیاه می‌گردد. رزمجو و همکاران (Razmjoo et al., 2008) بیان کردند که افزایش دور آبیاری از ۲ روز به ۱۰ روز باعث کاهش معنی‌دار تعداد شاخه فرعی در گیاه بابونه می‌گردد. همچنین فاکرباهر و همکاران (Fakerbaheer et al., 2002) تأثیر تنش آبی را بر ارتفاع و تعداد شاخه شاخساره مرزه بررسی کردند و نشان دادند که بالاترین سطح تنش آبی، ارتفاع بوته و تعداد شاخساره مرزه را به طور معنی‌داری کاهش داد. طبق مطالعات پیشین تنش خشکی نیز منجر به کاهش تعداد شاخه فرعی در ریحان، بادرشبو و گشنیز شده است (Hassani andomidbaigi, 2002; Safikhani, 2006; Gholizadeh et al., 2018a).

اثر تنش خشکی بر عملکرد میوه انیسون در ژنوتیپ‌های تحت بررسی معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). در شرایط آبیاری معمولی بیشترین مقدار عملکرد میوه در ژنوتیپ ۱۴ (۷/۳ گرم در بوته) بود. در شرایط تنش بیشترین مقدار عملکرد میوه در ژنوتیپ ۴ (۴/۰ گرم در بوته) بود. نتایج میانگین عملکرد میوه در شرایط آبیاری مختلف نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی عملکرد میوه در مقایسه با شرایط آبیاری معمولی کاهش یافت. بروز تنش خشکی طی مراحل مختلف نمودی مخصوصاً مرحله زایشی سبب کاهش طول دوره فتوسنتزی، انتقال مواد حاصل از فتوسنتز جاری به دانه، سهم انتقال مجدد مواد ذخیره شده ساقه به

گلیسین، بتائین و ترکیبات قندی همانند ساکاروز، فروکتوز و فروکتان می‌کند تا بتواند وضعیت لازم برای ادامه حیات خود را در این وضعیت فراهم کند (Sreenivasulu *et al.*, 2000). این ترکیبات برای گیاه هزینه بر است و گیاه این هزینه را از کاهش عملکرد دانه جبران می‌کند که متعاقباً عملکرد اسانس نیز کاهش می‌یابد.

در صفت محتوای رطوبت نسبی برگ اثرات تنش خشکی، ژنوتیپ و تنش خشکی \times ژنوتیپ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند. بیشترین محتوای رطوبت نسبی در شرایط معمولی در ژنوتیپ ۱۶ (۹۱/۷ درصد) بود. در شرایط تنش بیشترین محتوای رطوبت نسبی در ژنوتیپ ۱۷ (۷۷/۵ درصد) مشاهده شد. در شرایط تنش خشکی گیاه با بستن روزنه‌های خود مانع خروج آب و کاهش محتوای آب برگ می‌شود، به همین دلیل از شرایط آبیاری معمولی میزان بیشتری دارد. از طرفی با افزایش شدت تنش و محدود شدن رطوبت در دسترس گیاه، گیاه به تدریج رطوبت نسبی آب برگ خود را از دست داده و میزان آن کاهش می‌یابد (Keyvan, 2010). همچنین بسته شدن روزنه‌ها در اثر تنش خشکی تبادل دی‌اکسیدکربن را در برگ‌ها کاهش می‌دهد که در نتیجه، کاهش فتوسنتز، اندازه برگ، سطح برگ، تولید بیوماس، اندازه و تعداد میوه را در پی دارد (Grattan and Grieve, 1998).

شناسایی بهترین ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات اندازه‌گیری شده: ترسیم بای‌پلات دووجهی ژنوتیپ \times صفت ($G \times T$) در شرایط معمولی، ۷۵/۲ درصد (۵۲/۱ درصد و ۲۳/۱ درصد به ترتیب توسط مؤلفه اصلی اول و مؤلفه اصلی دوم) از کل تنوع داده‌های استاندارد شده را توجیه کرد (شکل ۱- الف). این درصد نسبتاً بالا، نشان‌دهنده پیچیدگی روابط بین صفات اندازه‌گیری شده می‌باشد. الگوها و روابط اساسی بین صفات، به وسیله ترسیم بای‌پلات مشخص می‌شود (Dehghani *et al.*, 2008; Sabaghnia *et al.*, 2008). نمایش چندضلعی بای‌پلات، برای تعیین ژنوتیپ‌هایی که دارای بالاترین مقدار برای یک صفت یا چند صفت هستند، دارای کاربرد است. در این روش، ژنوتیپ‌ها در رئوس

در صفت وزن خشک بوته، میانگین آزمایش معمولی بیشتر از تنش خشکی بود. در شرایط آبیاری معمولی بیشترین مقدار وزن خشک بوته در ژنوتیپ ۱۰ (۱۰۶/۷ گرم در بوته) بود. در شرایط تنش خشکی بیشترین مقدار وزن خشک در ژنوتیپ ۷ (۸۷/۴ گرم در بوته) بود. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج تأثیر تنش خشکی بر گیاه انیسون بیانگر این موضوع است که تنش خشکی سبب کاهش وزن خشک شد. کاهش وزن بوته در طی افزایش تنش خشکی می‌تواند به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح برگ تولیدی و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه مربوط باشد (Sreevalli *et al.*, 2000).

تأثیر تنش خشکی بر درصد اسانس و عملکرد اسانس معنی‌دار بود. ژنوتیپ‌های انیسون از لحاظ درصد اسانس و عملکرد اسانس تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ برای این صفت معنی‌دار بود (جدول ۳). در شرایط آبیاری معمولی بیشترین درصد و عملکرد اسانس به ترتیب در ژنوتیپ‌های ۹ (۰/۳۷ درصد) و ۷ (۲/۰۹ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد. در شرایط تنش آبیاری ژنوتیپ ۸ دارای بیشترین درصد اسانس (۰/۴۹ درصد) و عملکرد اسانس (۱/۷۳ کیلوگرم در هکتار) بود. کاهش عملکرد اسانس در نتیجه کاهش رطوبت خاک ممکن است ناشی از اثر زیان‌آور تنش خشکی بر رشد و عملکرد پیکر رویشی و دانه گیاه باشد. در گشیز با کاهش رطوبت خاک، درصد اسانس افزایش یافت (Khodadadi *et al.*, 2016a). در گیاه زیره بیشترین درصد اسانس در رژیم آبی ۲۵ درصد ظرفیت مزرعه به دست آمد (Rebey *et al.*, 2012). تأثیرات نامناسب تنش خشکی در کاهش عملکرد اسانس در گشیز (Khodadadi *et al.*, 2016a)، زیره (Rebey *et al.*, 2012) و زیره سیاه (Laribi *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است. باید در نظر داشت که همواره با افزایش تنش، درصد اسانس افزایش نمی‌یابد، چرا که در تنش‌های شدید، گیاه مقدار زیادی از مواد فتوسنتزی خود را صرف تولید ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی نظیر پرولین،

و تعداد روز تا رسیدگی در رتبه یک قرار داشتند. همچنین ژنوتیپ ۱۶ از لحاظ صفات تعداد چتر، تعداد برگ، وزن خشک بوته و تعداد شاخه بالاترین مقدار را در ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارا بود (شکل ۱-ب). در نهایت و با توجه به بای‌پلات، ژنوتیپ ۴، مطلوب‌ترین و مناسب‌ترین ژنوتیپ‌ها برای عملکرد میوه و چند صفت دیگر در شرایط تنش بود (شکل ۱-ب).

در کل، نتایج نمایش چندضلعی بای‌پلات، در دو شرایط معمولی و تنش نشان داد که در میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی، ژنوتیپ ۱۳ و ۴ مطلوب‌ترین و مناسب‌ترین ژنوتیپ برای صفات عملکرد میوه و صفات مرتبط با عملکرد بودند. از این‌رو از دو ژنوتیپ ۱۳ و ۴ می‌توان به‌عنوان والدین تلاقی به‌منظور ایجاد جمعیت‌های پایه برای مطالعه ژنتیکی تحمل به تنش خشکی در گیاه انیسون استفاده نمود. همچنین ژنوتیپ ۹ مطلوب‌ترین و مناسب‌ترین ژنوتیپ برای صفت درصد اسانس میوه بود. با توجه به نتایج، ژنوتیپ ۹ از نظر درصد اسانس میوه در دو محیط معمولی و تنش در وضعیت خوبی قرار داشت و به‌عنوان ژنوتیپ مطلوب معرفی می‌شود.

رابطه‌های متقابل میان صفات: روش دیگر برای ترسیم بای‌پلات (GT)، نمایش برداری بای‌پلات است. بردارهایی که از مبدأ بای‌پلات سرچشمه می‌گیرند، به علائم صفات وصل می‌شوند و روابط بین و درون صفات را نشان می‌دهند. این شکل بای‌پلات، مقدار مناسبی از کل تنوع داده‌های استاندارد شده را توضیح می‌دهد. از آنجایی که کسینوس زاویه بین بردارهای هر دو صفت، ضریب همبستگی آن‌ها را برآورد می‌کند، این شکل بای‌پلات، بهترین راه برای نمایش گرافیکی روابط متقابل میان صفات است. اگر زاویه بین بردارهای دو صفت، کمتر از ۹۰ درجه باشد، بین آن دو صفت همبستگی مثبت وجود دارد. اگر این زاویه بیشتر از ۹۰ درجه باشد، همبستگی منفی و اگر زاویه ۹۰ درجه باشد، بین آن دو صفت همبستگی وجود ندارد. طول بردارها، پاسخ‌دهی صفات را به ژنوتیپ‌ها نشان می‌دهد، به طوری که هر چه طول بردار یک صفت بیشتر

چندضلعی یا در داخل چندضلعی قرار می‌گیرند. بر اساس شکل ۱-الف، شش ژنوتیپ (ژنوتیپ‌های ۹، ۱۸، ۱۷، ۱۶، ۱۳ و ۷) در رئوس چندضلعی قرار گرفته‌اند. از آنجایی که این ژنوتیپ‌ها بیشترین فاصله را از مبدأ بای‌پلات دارند، به‌عنوان بهترین ژنوتیپ‌ها برای بعضی از صفات یا همه صفات محسوب می‌شوند؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که ژنوتیپ ۱۳، بالاترین مقدار عملکرد میوه را در شرایط بدون تنش دارا بود، همچنین این ژنوتیپ، دارای بالاترین مقدار تعداد میوه و وزن هزار میوه در میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود (شکل ۱-الف). همچنین ژنوتیپ‌های ۷ و ۹ به‌ترتیب بیشترین عملکرد اسانس و درصد اسانس میوه را دارا بودند (شکل ۱-الف). بیشترین تعداد روز تا رسیدگی و وزن خشک بوته در ژنوتیپ ۱۷ و بیشترین تعداد برگ، تعداد شاخه، تعداد چتر، قطر ساقه، ارتفاع بوته، تعداد روز تا گل‌دهی و محتوای رطوبت نسبی در ژنوتیپ ۱۶ مشاهده شد. در نهایت و با توجه به بای‌پلات، ژنوتیپ ۱۳، مطلوب‌ترین و مناسب‌ترین ژنوتیپ در شرایط بدون تنش بود (شکل ۱-الف).

ترسیم بای‌پلات ژنوتیپ در صفت (GT) در شرایط تنش خشکی، ۷۰/۸ درصد (۵۱/۳ درصد و ۱۹/۵ درصد به‌ترتیب توسط مؤلفه اصلی اول و مؤلفه اصلی دوم) از کل تنوع داده‌های استاندارد شده را توجیه کرد (شکل ۱-ب). بر اساس شکل ۱-ب، هشت ژنوتیپ (ژنوتیپ‌های ۱۸، ۱۵، ۳، ۹، ۴، ۱۶، ۱۷ و ۲) در رئوس چندضلعی قرار گرفتند. از آنجایی که این ژنوتیپ‌ها، بیشترین فاصله را از مبدأ بای‌پلات دارند، به‌عنوان بهترین ژنوتیپ‌ها برای بعضی از صفات یا همه صفات محسوب می‌شوند. به‌نظر می‌رسد که ژنوتیپ ۴، بالاترین مقدار عملکرد میوه را در شرایط تنش دارا بود. همچنین این ژنوتیپ، بالاترین تعداد میوه، وزن هزار میوه و شاخص برداشت در میان ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به خود اختصاص داد (شکل ۱-ب). ژنوتیپ ۹، بالاترین درصد اسانس میوه، بالاترین عملکرد اسانس و قطر ساقه را داشت (شکل ۱-ب). ژنوتیپ‌های ۲، ۱۸ و ۱۵ از لحاظ صفات محتوای رطوبت نسبی، تعداد روز تا گل‌دهی

باشد، نشان‌دهنده آن است که آن صفت، دارای قدرت پاسخ‌دهی بیشتری به ژنوتیپ‌ها می‌باشد و صفاتی که در منشأ بای‌پلات قرار می‌گیرند، هیچ پاسخی به ژنوتیپ‌ها نمی‌دهند.

بر اساس نمایش برداری ژنوتیپ در صفت (GT) در شرایط بدون تنش، اکثر صفات به‌جز درصد اسانس میوه، وزن خشک بوته و تعداد روز تا رسیدگی همبستگی معنی‌داری با عملکرد میوه نشان دادند (شکل ۲-الف). صفات ارتفاع بوته، تعداد میوه در گیاه، وزن هزار میوه، تعداد چتر در گیاه، تعداد شاخه در گیاه، تعداد روز تا گل‌دهی، محتوای رطوبت نسبی، تعداد برگ، عملکرد اسانس و قطر ساقه بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را با عملکرد میوه نشان دادند (شکل ۲-الف) و جدول ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی، تأیید کننده این نتایج است (جدول ۴). صفت عملکرد اسانس همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد میوه، تعداد میوه در بوته، شاخص برداشت، تعداد روز تا گل‌دهی و وزن هزار میوه داشت. به‌نظر می‌رسد با افزایش تعداد روز تا گل‌دهی، گیاه از فرصت موجود برای رشد رویشی بیشتر استفاده کرده که این خود سبب تولید میوه و عملکرد اسانس بیشتر می‌شود. مثبت و معنی‌دار بودن ضریب همبستگی عملکرد میوه با صفات تعداد برگ و تعداد شاخه نشان‌گر آن است که با افزایش کل زیست‌توده، عملکرد میوه افزایش یافته است. با توجه به آن‌که میوه، حاصل فعالیت فتوسنتزی اندام‌هایی چون شاخه و برگ می‌باشد، بنابراین همبستگی مثبت و بالای این دو صفت با عملکرد میوه، دور از انتظار نیست و نشان‌دهنده آن است که برای داشتن عملکرد میوه بالا، به گیاهانی با رشد سبزینه‌ای خوب و قدرت رویشی مناسب، احتیاج است (Dabiri et al., 2009). با توجه به ضریب همبستگی منفی و معنی‌دار بین تعداد روز تا رسیدگی با عملکرد میوه، می‌توان احتمال داد که با کاهش دوره رسیدگی، عملکرد میوه گیاه افزایش داشته است. نمایش برداری ژنوتیپ در صفت (GT) در شرایط تنش در شکل ۲-ب نشان داده شده است. نتایج بای‌پلات نشان داد که در شرایط تنش، اکثر صفات به‌جز تعداد روز تا گل‌دهی و درصد اسانس، همبستگی معنی‌داری با عملکرد میوه نشان دادند (شکل ۲-ب، جدول ۴). با توجه به همبستگی منفی و معنی‌دار بین تعداد روز تا گل‌دهی با عملکرد میوه، می‌توان احتمال داد که با کاهش دوره گل‌دهی، عملکرد میوه گیاه افزایش یافته است. با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد میوه و شاخص برداشت محصول تأثیری مثبت در نظام کشت و تولید محصول دارد. با توجه به این موضوع می‌توان این صفت را به‌عنوان یک شاخص انتخاب مستقل در جهت اصلاح و ارزیابی ژنوتیپ‌های مختلف انیسون در شرایط تنش در نظر گرفت. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد میوه و محتوای رطوبت نسبی نشان داد که از این صفت می‌توان برای اصلاح تحمل به خشکی استفاده کرد. محتوای نسبی آب که تحت تأثیر تنظیم اسمزی، جذب آب و میزان تعرق قرار دارد و نیز از وراثت‌پذیری بالایی در شرایط تنش خشکی برخوردار است، به‌عنوان معیار انتخاب برای تحمل خشکی پیشنهاد شده است (Ramirez-Vallejo and Kelly, 1998; Siddique et al., 2000)؛ بنابراین، ژنوتیپ‌هایی که بدون بستن روزنه‌های خود، توانایی حفظ آب بیشتری دارند، برای مناطق خشک مناسب‌تر می‌باشند. با توجه به نتایج، همبستگی ژنوتیپی مثبت معنی‌داری میان محتوای رطوبت نسبی و عملکرد میوه در شرایط تنش مشاهده شد (شکل ۲-ب و جدول ۴). بدین معنی ژنوتیپ‌هایی که محتوای رطوبت نسبی بالاتری دارند، عملکرد میوه بالاتری نیز دارند؛ بنابراین می‌توان محتوای رطوبت نسبی را از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک تحمل خشکی به‌شمار آورد (Gholizadeh et al., 2019).

بر اساس نمایش برداری ژنوتیپ در صفت (GT) در شرایط بدون تنش، اکثر صفات به‌جز درصد اسانس میوه، وزن خشک بوته و تعداد روز تا رسیدگی همبستگی معنی‌داری با عملکرد میوه نشان دادند (شکل ۲-الف). صفات ارتفاع بوته، تعداد میوه در گیاه، وزن هزار میوه، تعداد چتر در گیاه، تعداد شاخه در گیاه، تعداد روز تا گل‌دهی، محتوای رطوبت نسبی، تعداد برگ، عملکرد اسانس و قطر ساقه بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را با عملکرد میوه نشان دادند (شکل ۲-الف) و جدول ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی، تأیید کننده این نتایج است (جدول ۴). صفت عملکرد اسانس همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد میوه، تعداد میوه در بوته، شاخص برداشت، تعداد روز تا گل‌دهی و وزن هزار میوه داشت. به‌نظر می‌رسد با افزایش تعداد روز تا گل‌دهی، گیاه از فرصت موجود برای رشد رویشی بیشتر استفاده کرده که این خود سبب تولید میوه و عملکرد اسانس بیشتر می‌شود. مثبت و معنی‌دار بودن ضریب همبستگی عملکرد میوه با صفات تعداد برگ و تعداد شاخه نشان‌گر آن است که با افزایش کل زیست‌توده، عملکرد میوه افزایش یافته است. با توجه به آن‌که میوه، حاصل فعالیت فتوسنتزی اندام‌هایی چون شاخه و برگ می‌باشد، بنابراین همبستگی مثبت و بالای این دو صفت با عملکرد میوه، دور از انتظار نیست و نشان‌دهنده آن است که برای داشتن عملکرد میوه بالا، به گیاهانی با رشد سبزینه‌ای خوب و قدرت رویشی مناسب، احتیاج است (Dabiri et al., 2009). با توجه به ضریب همبستگی منفی و معنی‌دار بین تعداد روز تا رسیدگی با عملکرد میوه، می‌توان احتمال داد که با کاهش دوره رسیدگی، عملکرد میوه گیاه افزایش داشته است. نمایش برداری ژنوتیپ در صفت (GT) در شرایط تنش در شکل ۲-ب نشان داده شده است. نتایج بای‌پلات نشان داد که در شرایط تنش، اکثر

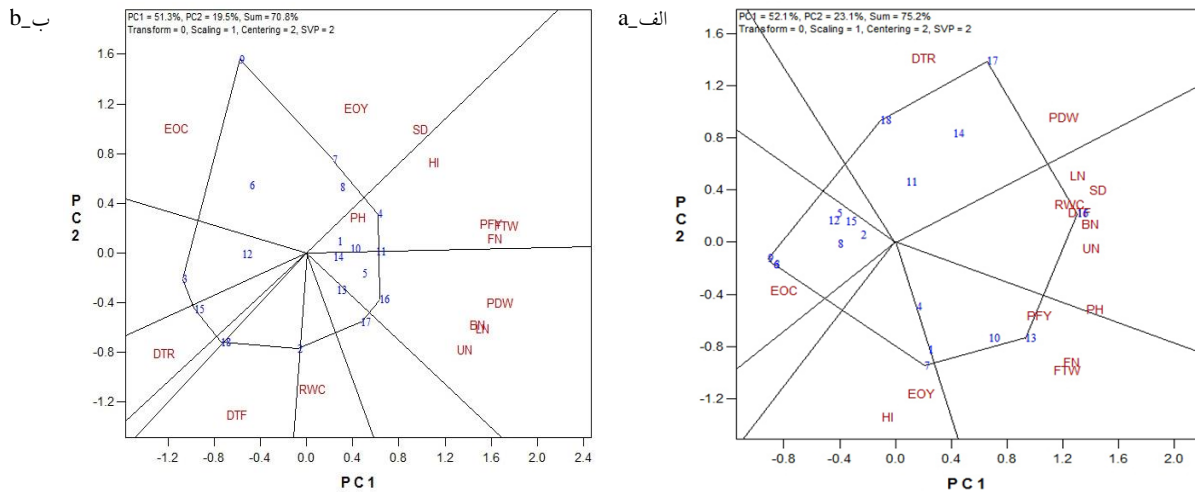
جدول ۴- همبستگی ژنوتیپی (پایین قطر) و فنوتیپی (بالای قطر) صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های بومی انیسون ایران به کمک تجزیه مرکب

Table 4. Genotypic (below the diameter) and phenotypic (upon the diameter) correlations between measured traits in Iranian endemic anise using combined analysis.

صفات	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
صفات															
Traits															
تعداد چتر	1.00	0.74**	0.71**	1.91**	1.00**	1.00**	1.00**	1.00**	-0.002	-1.00**	0.70**	-0.11	1.00**	1.00**	0.88**
Umbel number (1)															
تعداد برگ	0.54**	1.00	0.66**	1.00**	1.00**	0.27 ^{ns}	1.00**	1.00**	0.03	-1.00**	0.87**	1.00**	1.00**	1.00**	0.70**
Leaf number (2)															
وزن هزار میوه	-0.01	0.46	1.00	1.00**	1.00**	-1.00**	0.25 ^{ns}	1.00**	-0.36	-0.80**	1.00**	1.00**	-0.14	-0.48	0.84**
Fruit thousand weight (3)															
قطر ساقه	0.44	0.64**	0.20	1.00	0.91**	1.00**	1.00**	1.00**	0.002	-0.20	0.33	0.73**	1.00**	1.00**	0.45
Stem diameter (4)															
تعداد شاخه	0.53*	0.53**	0.03	0.48	1.00	1.00**	1.00**	1.00**	0.007	-1.00**	0.57*	-0.77**	0.65*	0.76**	0.38
Branch number (5)															
ارتفاع بوته	0.32	0.26	-0.15	0.29	0.38	1.00	0.41	0.62*	0.02	-0.74**	1.00**	-0.43	0.90**	0.83**	0.35
Plant height (6)															
وزن خشک بوته	0.38	0.74**	0.60*	0.57*	0.54	0.24	1.00	1.00**	0.01	-1.00**	0.68*	0.83**	0.90**	0.92**	0.59*
Plant dry weight (7)															
محتوای رطوبت نسبی	0.15	0.15	0.05	0.15	0.21	-0.17	0.12	1.00	0.01	-0.79**	0.22	-0.68**	-0.49	-0.21	0.14
Relative water content (8)															
تعداد میوه	0.09	0.11	-0.15	0.004	0.008	0.01	0.01	0.006	1.00	0.00	1.00**	0.00	0.03	0.04	0.82**
Fruit number (9)															
میزان اسانس میوه	-0.13	-0.30	-0.06	-0.94**	-0.43	-0.19	-0.28	-0.25	0.00	1.00	-0.75**	0.43	-0.53	-0.55	0.56*
Essential oil (10)															
عملکرد میوه	0.89**	0.50*	0.90**	0.67**	0.77**	0.88**	0.37	0.77**	1.00**	-0.32	1.00	0.30	-0.35	0.68**	0.93**
Plant fruit yield (11)															
شاخص برداشت	0.01	0.02	-0.21	0.23	0.004	0.00	-0.13	-0.13	0.00	-0.05	0.63*	1.00	-0.54	-0.65*	0.40
Harvest index (12)															
تعداد روز تا رسیدگی	0.46	0.36	-0.40	0.46	0.46	0.41	0.17	0.06	0.02	-0.36	0.62*	-0.42	1.00	1.00**	0.73**
Days to ripening (13)															
تعداد روز تا گل دهی	0.40	0.39	-0.32	0.44	0.46	0.45	0.24	0.05	0.01	-0.40	0.62*	-0.35	0.94**	1.00	0.58**
Days to flowering (14)															
عملکرد اسانس میوه	0.82**	0.61*	0.80**	0.40	0.35	0.28	0.54*	0.08	0.77**	0.52*	0.89**	0.35	0.68**	0.54*	1.00
Essential oil yield (15)															

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰.۰۵ و ۰.۰۱ درصد

* and **: Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

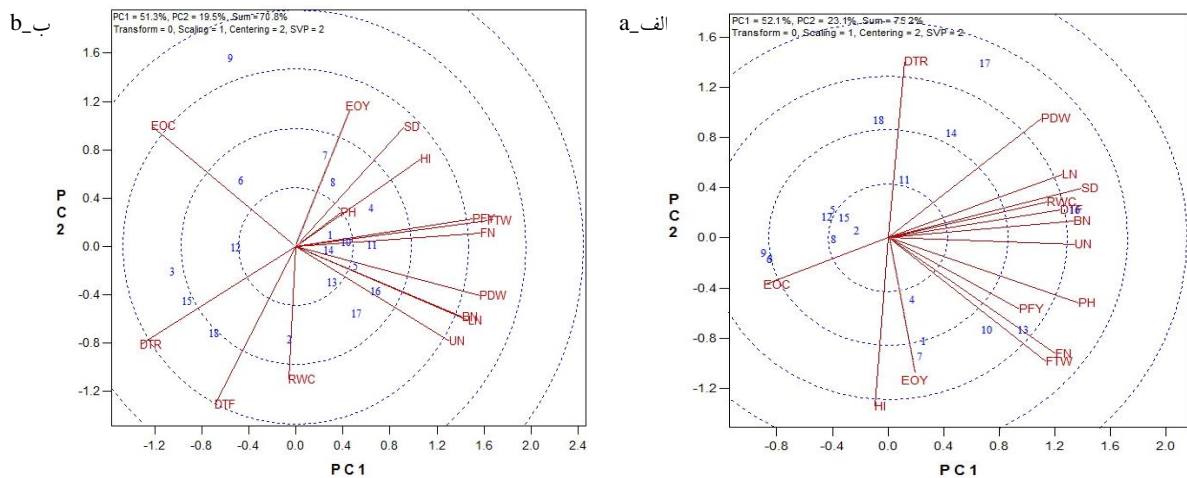


شکل ۱- نمایش نمودار چندضلعی بای‌پلات ژنوتیپ × صفت در (الف) شرایط معمولی و (ب) شرایط تنش

Figure 1. Biplot polygon view of genotype × trait in non-stress (a) and stress (b) conditions

علائم اختصاری: UN: تعداد چتر، LN: تعداد برگ، FTW: وزن هزار میوه، SD: قطر ساقه، BN: تعداد شاخه، PH: ارتفاع بوته، PDW: وزن خشک بوته، RWC: محتوای رطوبت نسبی، FN: تعداد میوه، EOC: میزان اسانس، PFY: عملکرد میوه در بوته، HI: شاخص برداشت، DTR: تعداد روز تا رسیدگی و DTF: تعداد روز تا گل‌دهی.

Abbreviations: UN: Umbel number; LN: Leaf number; FTW: Fruit thousand weight; SD: Stem diameter; BN: Branch number; PH: Plant height; PDW: Plant dry weight; RWC: Relative water content; FN: Fruit number; EOC: Essential oil content; PFY: Plant fruit yield; HI: Harvest index; DTR: Days to ripening; DTF: Days to flowering.



شکل ۲- نمایش برداری بای‌پلات ژنوتیپ × صفت در (الف) شرایط معمولی و (ب) شرایط تنش

Figure 2. Biplot vector view of genotype × trait in non-stress (a) and stress (b) conditions.

علائم اختصاری: UN: تعداد چتر، LN: تعداد برگ، FTW: وزن هزار میوه، SD: قطر ساقه، BN: تعداد شاخه، PH: ارتفاع بوته، PDW: وزن خشک بوته، RWC: محتوای رطوبت نسبی، FN: تعداد میوه، EOC: میزان اسانس، PFY: عملکرد میوه در بوته، HI: شاخص برداشت، DTR: تعداد روز تا رسیدگی و DTF: تعداد روز تا گل‌دهی.

Abbreviations: UN: Umbel number; LN: Leaf number; FTW: Fruit thousand weight; SD: Stem diameter; BN: Branch number; PH: Plant height; PDW: Plant dry weight; RWC: Relative water content; FN: Fruit number; EOC: Essential oil content; PFY: Plant fruit yield; HI: Harvest index; DTR: Days to ripening; DTF: Days to flowering.

برآوردهای ژنتیکی صفات اندازه‌گیری شده: برآوردهای

ژنتیکی صفات اندازه‌گیری شده بر روی ژنوتیپ‌های انیسون مورد بررسی در جدول ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود صفات تعداد روز تا گل‌دهی، وزن هزار میوه، عملکرد میوه و محتوای رطوبت نسبی برگ تأثیرپذیری نسبتاً بالایی از محیط داشتند و شاخص‌های مربوط به محیط اختلاف نسبتاً زیادی با شاخص‌های مربوط به ژنوتیپ داشتند، بنابراین احتمالاً این صفات در شرایط همراه با تنش تغییرپذیری بالاتری نسبت به صفات دیگر خواهند داشت. عینی‌زاده و همکاران (Eynizadeh *et al.*, 2016) بیشترین تأثیر تنش را بر روی عملکرد و اسانس میوه مشاهده کردند. این تأثیرات در مورد عملکرد در جهت منفی و در مورد محتوای اسانس در جهت مثبت بود. بدین معنی که در شرایط تنش از عملکرد کاسته و به محتوای اسانس افزوده می‌شد. همچنین مشاهده شد که میزان وراثت‌پذیری در صفت عملکرد میوه پایین بود. از این‌رو با در نظر گرفتن وراثت‌پذیری و واریانس ژنتیکی پایین در این تحقیق گزینش در شرایط نرمال برای عملکرد نمی‌تواند برای شرایط تنش مؤثر باشد. از آنجایی که در شرایط تنش بر محتوای اسانس افزوده می‌شود می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً گزینش در شرایط نرمال می‌تواند در بهبود این صفت در شرایط تنش مؤثر باشد اما به دلیل پایین بودن واریانس ژنتیکی، پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار در نسل بعد ناچیز بوده و بستگی به محیط دارد. تأثیر بالای محیط بر روی محتوای رطوبت نسبی برگ نشان می‌دهد که احتمالاً این صفت برای غربال‌گری ژنوتیپ‌های متحمل می‌تواند مفید باشد. محتوای نسبی بالای برگ در شرایط تنش نشان‌دهنده پتانسیل بالای گیاه برای حفظ رطوبت در شرایط تنش بوده و باعث ایجاد مقاومت گیاه نسبت به تنش خشکی می‌شود. کمبود آب در گیاه می‌تواند باعث اختلال در فعالیت آنزیم‌ها شود بنابراین حفظ رطوبت نسبی برای یک ژنوتیپ می‌تواند یک مزیت محسوب شود (Parida *et al.*, 2008).

زودرسی صفتی است که می‌تواند تأثیر بالایی در بروز تحمل به خشکی ایفا کند. بوته‌های زودرس می‌توانند در شرایط رطوبت کافی و قبل از شروع خشکی انتهای فصل، سریع‌تر

چرخه زندگی خود را تکمیل کنند (Farooq *et al.*, 2009). همان‌طور که ملاحظه می‌شود صفات مربوط به زودرسی دارای واریانس ژنتیکی نسبتاً بالایی بودند و درصد پیشرفت ژنتیکی آن‌ها نیز نسبتاً بالا بود، بنابراین احتمالاً گزینش می‌تواند در بهبود این صفات در شرایط معمولی و تنش مؤثر باشد. در تحقیق عینی‌زاده و همکاران (Eynizadeh *et al.*, 2018b) نیز وراثت‌پذیری بالایی برای صفات فنولوژیکی در شرایط رطوبتی مختلف گزارش شد. بیشترین درصد پیشرفت ژنتیکی مربوط به تعداد برگ مشاهده شد، بنابراین احتمالاً برای بهبود عملکرد اندام هوایی گیاه انیسون گزینش می‌تواند مؤثر باشد. افزایش تعداد برگ می‌تواند در افزایش فتوسنتز و جذب نور و در نتیجه افزایش عملکرد میوه و اسانس نقش مهمی داشته باشد که بر اساس نتایج این آزمایش می‌توان این صفت را به کمک گزینش در شرایط معمولی و تنش بهبود بخشید. این موضوع با نتایج آزمایش‌های پیشین در گیاهان انیسون، پنبه، گشنیز و آویشن مطابقت داشت (Letchamo *et al.*, 1995; Karademir *et al.*, 2009; Maleki *et al.*, 2017; Eynizadeh *et al.*, 2018a).

در این آزمایش صفات تعداد برگ، ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد چتر، تعداد میوه در بوته دارای وراثت‌پذیری و درصد پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار بالایی بودند، بنابراین این صفات می‌توانند در گزینش غیرمستقیم برای افزایش عملکرد میوه به‌طور هم‌زمان در شرایط معمولی و تنش مورد استفاده قرار گیرند. حنیفه‌ئی و همکاران (Hanifei *et al.*, 2017) و قلی‌زاده و همکاران (Gholizadeh *et al.*, 2018b) نیز وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی بالایی برای صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ و تعداد شاخه در شرایط معمولی و تنش خشکی گیاه گشنیز مشاهده کردند.

به کمک همبستگی‌های ژنوتیپی و فنوتیپی می‌توان گزینش را در جهت بهبود چندین صفت به‌طور هم‌زمان انجام داد (Hallauer *et al.*, 2010). مقادیر ضرایب همبستگی فنوتیپی و ژنوتیپی بالاتر از ۱ نیز به دلیل افزایش کوواریانس بین دو صفت و کاهش واریانس‌های فنوتیپی و ژنوتیپی هر یک از صفات مشاهده شد که در این موارد، مقادیر مربوط به حداکثر مقدار ۱ گزارش می‌شود (Holland, 2005).

جدول ۵- برآوردهای ژنوتیپی و فنوتیپی صفات اندازه‌گیری شده بر روی ژنوتیپ‌های انیسون بومی ایران به کمک جدول تجزیه واریانس مرکب

Table 5. Genotypic and phenotypic estimates of measured traits on Iranian endemic anise using table of combined analysis of variance

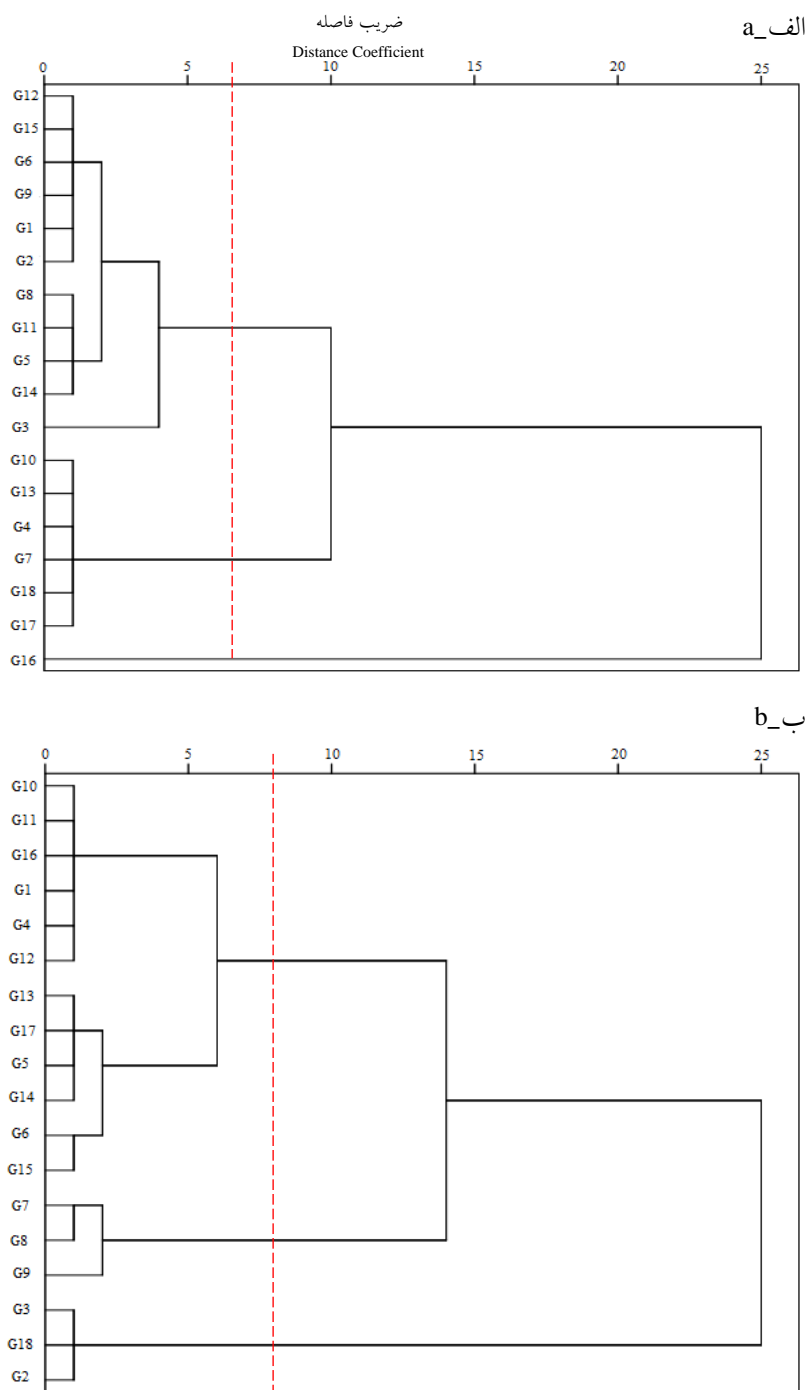
صفات Traits	واریانس ژنتیکی Genotypic variance	واریانس فنوتیپی Phenotypic variance	ضریب تغییرات ژنتیکی (درصد) Genotypic coefficient of variance (%)	ضریب تغییرات فنوتیپی (درصد) Phenotypic coefficient of variance (%)	وراثت‌پذیری عمومی Broad sense heritability (%)	درصد پیشرفت ژنتیکی مورد انتظار Percentage of expected genetic advance (%)
روز تا گل‌دهی Days to flowering	78.01	95.27	11.32	12.51	81.88	18.03
روز تا رسیدگی Days to ripening	75.91	101.45	10.13	11.71	74.82	2.41
شاخص برداشت Harvest index	0.007	0.02	20.91	35.35	35.00	21.77
عملکرد میوه Plant Fruit yield	1.05	4.09	29.82	42.13	25.67	18.06
اسانس میوه Essential oil	0.004	0.009	31.62	47.43	44.44	37.10
تعداد میوه Fruit number	9851.15	54797.65	16.34	38.54	17.97	12.19
محتوای رطوبت نسبی Relative water content	15.07	38.16	0.05	0.07	39.49	5.13
وزن خشک بوته Plant dry weight	22.32	59.77	27.30	44.68	37.34	29.36
ارتفاع بوته Plant height	30.25	67.77	12.06	18.05	44.63	14.18
تعداد شاخه Branch number	3.42	8.62	17.28	27.43	39.67	19.15
قطر ساقه Stem diameter	1.10	3.11	13.27	22.32	35.36	13.89
وزن هزار میوه Fruit thousand weight	0.79	2.45	19.32	34.02	32.24	19.30
تعداد برگ Leaf number	822.53	1867.76	23.01	34.68	44.03	26.87
تعداد چتر Umbel number	131.80	499.03	20.72	40.32	26.41	18.74
عملکرد اسانس Essential oil yield	22.22	15.11	6.54	4.25	35.11	7.25

بین صفت شاخص برداشت و صفات مربوط به فنولوژی نشان می‌دهد که در ژنوتیپ‌های دیررس‌تر، رشد رویشی بیشتر از رشد زایشی و تولید میوه تحت تأثیر قرار می‌گیرد. بدین معنی که گیاه انرژی خود را بیشتر صرف تولید زیست‌توده می‌کند. نتایج این پژوهش در رابطه با دیررسی با پژوهش احمدیان و نورزاد (Ahmadian and Noorzad, 2014) و عینی‌زاده و همکاران (Eynizadeh et al., 2018a) بر روی گیاه گشنیز قرابت داشت.

تجزیه خوشه‌ای: با توجه به تفاوت میان ژنوتیپ‌های انیسون در شرایط معمولی و تنش تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش وارد انجام گرفت که بالاترین مقدار ضریب همبستگی کوفتیک را در بین دیگر روش‌ها نشان داد ($r=0/88^{**}$ در شرایط معمولی و $r=0/86^{**}$ در شرایط تنش). اختلاف آماره ویلکس لامبدا متوالی حاصل از تجزیه واریانس چندمتغیره، ژنوتیپ‌های تحت بررسی در شرایط معمولی را در سه خوشه گروه‌بندی کرد (شکل ۳-الف). تحت این شرایط، ۱۱ ژنوتیپ در خوشه اول، شش ژنوتیپ در خوشه دوم و یک ژنوتیپ در خوشه سوم قرار گرفتند. در شرایط تنش خشکی نیز ژنوتیپ‌های مورد بررسی در سه خوشه دسته‌بندی شدند. تجزیه خوشه‌ای تحت این شرایط نشان داد که ۱۲ ژنوتیپ در خوشه اول، سه ژنوتیپ در خوشه دوم و سه ژنوتیپ در خوشه سوم قرار گرفتند (شکل ۳-ب).

به‌منظور تأیید اختلافات بین خوشه‌ها، از تجزیه واریانس چندمتغیره بر پایه طرح کاملاً تصادفی نامتعادل برای صفات مورد نظر استفاده شد که آماره ویلکس لامبدا (Wilks Lambda) برابر با $0/007$ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شدند؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که بین بردارهای میانگین‌های ژنوتیپ‌های خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای اختلاف معناداری وجود داشت. در نتیجه، در این مرحله از خوشه‌بندی بیشترین شباهت میان ژنوتیپ‌های درون هر خوشه (کمترین مقدار برای ماتریس مجموع مربعات درون خوشه‌ها) و بیشترین اختلاف بین خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای (بیشترین مقدار برای ماتریس مجموع مربعات بین خوشه‌ها) بود.

همان‌طور که ملاحظه می‌شود عملکرد میوه بیشترین همبستگی فنوتیپی را با صفات تعداد میوه، وزن هزار میوه، عملکرد اسانس و ارتفاع بوته داشت. در صورتی که این صفات با یکدیگر همبستگی ژنوتیپی مثبت و معنی‌دار داشتند. در تحقیق کاساهون و همکاران (Kassahun et al., 2013) روی همبستگی عملکرد میوه و اجزاء عملکرد در گشنیز، مشاهده شد که تعداد میوه و وزن هزار میوه دارای همبستگی ژنوتیپی و فنوتیپی مثبت با عملکرد میوه در بوته بود. با افزایش تعداد میوه، وزن هزار میوه کاهش یافت، بنابراین احتمالاً میزان تجمع مواد فتوسنتزی در تک میوه وابسته به تعداد میوه بوده است. همچنین در بررسی جمعیت‌های رازیانه توسط دوودی و همکاران (Dwivedi et al., 2008) همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عملکرد میوه با تعداد میوه در بوته مشاهده شد ابو‌النصر و اوتایی (Abou El-Nasr and Ottai, 2012)، نیز عنوان کرده‌اند که با گزینش برای هر یک از ویژگی‌های عملکرد میوه در بوته و تعداد میوه و یا گزینش هم‌زمان برای بیش از یکی از این ویژگی‌ها، می‌توان عملکرد اسانس را در گیاه انیسون بهبود بخشید. وجود همبستگی ژنوتیپی مثبت و معنی‌دار بین صفات فنولوژیک و صفات مربوط به زیست‌توده نشان می‌دهد که احتمالاً بوته‌های دیررس‌تر به دلیل داشتن فرصت بیشتر برای رشد، دارای زیست‌توده بیشتری بودند بنابراین با توجه به وراثت‌پذیری نسبتاً بالای این صفات انتخاب ژنوتیپ‌های دیررس‌تر برای مناطقی که خشکی انتهایی فصل در آن‌ها مشکل‌ساز نیست می‌تواند مناسب باشد. بر اساس نتایج احمدیان و نورزاد (Ahmadian and Noorzad, 2014) تأخیر در برداشت می‌تواند باعث افزایش وزن خشک بوته، ارتفاع بوته و عملکرد بوته در گشنیز شود. با توجه به وراثت‌پذیری بالا و همچنین همبستگی مثبت و معنی‌دار تعداد روز تا گل‌دهی، تعداد روز تا رسیدگی، تعداد برگ و ارتفاع بوته با درصد اسانس، می‌توان اظهار داشت که با گزینش این ویژگی‌ها در ژنوتیپ‌های انیسون، عملکرد و درصد اسانس قابل افزایش است. این نتیجه‌گیری با نتایج سینگ و همکاران (Singh et al., 2002) و کوریونی و همکاران (Curioni et al., 2003) در توافق است. همبستگی ژنوتیپی منفی و معنی‌دار



شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های انیسون با روش وارد بر اساس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط معمولی (الف) و تنش خشکی (ب)

Figure 3. Cluster analysis of anise genotypes by Ward's method based on measured traits in non-stress (a) and stress (b) conditions.

واریانس یک‌طرفه انجام گرفت. نتایج حاکی از تفاوت معنادار بین خوشه‌ها برای تمامی صفات در هر دو شرایط معمولی و تنش بود. به این ترتیب می‌توان این‌گونه بیان کرد که بین بردارهای میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در مرحله

لذا تنوع ژنتیکی درون خوشه‌ای کمی نسبت به تنوع ژنتیکی بین خوشه‌ای وجود داشت و ژنوتیپ‌های هر خوشه، فاصله ژنتیکی کمی با یکدیگر داشتند. به‌منظور بررسی بهتر خوشه‌ها، برای تک‌تک صفات تحت بررسی، به‌صورت جداگانه تجزیه

ژنوتیپ‌های با میانگین عملکرد میوه و درصد اسانس بالا را نوید می‌دهد. در استفاده از مقیاس فاصله ژنتیکی، ژنوتیپ‌هایی که در خوشه‌های متفاوت گروه‌بندی می‌شوند نسبت به ژنوتیپ‌هایی که در یک خوشه قرار می‌گیرند، شباهت کمتری وجود دارد. در برنامه‌های اصلاحی، انتخاب والدین برای برنامه‌های دورگ‌گیری بسیار پر اهمیت است. تلاقی دادن ژنوتیپ‌هایی که در یک خوشه قرار دارند، نمی‌تواند پاسخگوی انتظارات اصلاح‌گران برای افزایش عملکرد میوه و اسانس باشد؛ بنابراین برنامه‌های دورگ‌گیری که شامل والدین با تنوع ژنتیکی، متعلق به خوشه‌های دارای فواصل ژنتیکی زیاد باشد فرصت مناسبی را برای ترکیب شدن مجموعه‌های ژنی مختلف فراهم می‌سازد. با این وجود تلاقی ژنوتیپ‌هایی که در خوشه ۳ قرار گرفته‌اند با ژنوتیپ‌های خوشه ۲ می‌تواند به‌ژادگر را در رسیدن به اهداف خود یعنی عملکرد میوه و اسانس مطلوب در شرایط بدون تنش یاری دهد.

در شرایط تنش خشکی ژنوتیپ‌های خوشه اول از نظر صفات تعداد چتر در میوه، تعداد شاخه، تعداد برگ، ارتفاع بوته، وزن خشک بوته و عملکرد میوه میانگین بیشتری را در میان سایر خوشه‌ها و همچنین میانگین کل ژنوتیپ‌ها داشتند (جدول ۶). در خوشه دوم ژنوتیپ‌های زودرس قرار گرفتند. این خوشه از نظر صفات فنولوژیکی مانند تعداد روز تا گل‌دهی و تعداد روز تا رسیدگی کمترین مقدار و از نظر صفات درصد اسانس، عملکرد اسانس، قطر ساقه، شاخص برداشت، تعداد میوه و وزن هزار میوه بالاترین مقادیر میانگین را داشتند. ژنوتیپ‌های خوشه سوم تنها برای صفت محتوای رطوبت نسبی از میانگین بالاتری برخوردار بودند. با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین خوشه‌ها در شرایط تنش خشکی می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ‌های موجود در خوشه اول (۱۰، ۱۱، ۱۶، ۱، ۴، ۱۲، ۱۳، ۱۷، ۵، ۱۴، ۶ و ۱۵) از نظر اکثر صفات زراعی و عملکرد میوه میانگین بالاتری را در میان سایر خوشه‌ها و میانگین کل داشتند و به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر در شرایط تنش خشکی شناخته شدند. نتایج فاصله ماهالانویس در شرایط تنش خشکی نشان داد که بیشترین فاصله بین خوشه‌های ۲ و ۳ مشاهده شد (جدول ۷). ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۳ بالاترین میزان میانگین را در اکثر صفات زراعی مورد بررسی و عملکرد میوه نشان دادند در حالی که ژنوتیپ‌های خوشه ۲، از نظر اکثر صفات زراعی مورد بررسی و عملکرد میوه میانگین کمتری را در مقایسه با ژنوتیپ‌های خوشه ۳ داشتند ولی نسبت به سایر خوشه‌ها دارای درصد و عملکرد اسانس بالاتری بودند؛ بنابراین تلاقی ژنوتیپ‌های این دو خوشه، احتمال تولید

بعد برای بررسی تفاوت خوشه‌ها از لحاظ صفات مورد بررسی، مقایسه میانگین خوشه‌ها برای صفات مورد بررسی انجام گرفت. بدیهی است که اگر میانگین یک صفت در یک خوشه از میانگین آن صفت در سایر خوشه‌ها و همچنین میانگین کل بالاتر باشد بدین مفهوم است که ژنوتیپ‌های آن خوشه برای آن صفت ارزش بیشتری دارند. نتایج مقایسه میانگین خوشه‌ها در شرایط بدون تنش نشان داد که ژنوتیپ‌های خوشه سوم از نظر اکثر صفات زراعی شامل تعداد چتر در میوه، تعداد میوه در بوته، تعداد شاخه، تعداد برگ، قطر ساقه، ارتفاع بوته، وزن هزار میوه و عملکرد میوه میانگین بالاتری را در میان سایر خوشه‌ها و همچنین میانگین کل ژنوتیپ‌ها داشتند (جدول ۶). در خوشه دوم ژنوتیپ‌هایی قرار گرفتند که بالاترین مقدار میانگین را در صفات درصد اسانس، شاخص برداشت، عملکرد اسانس، تعداد روز تا گل‌دهی و تعداد روز تا رسیدگی داشتند، بنابراین ژنوتیپ‌های این خوشه نسبت به ژنوتیپ‌های سایر خوشه‌ها دیررس‌تر هستند. ژنوتیپ‌های خوشه اول با توجه به صفات فنولوژیک، نسبت به سایر خوشه‌ها زودرس‌تر بودند ولی از نظر اکثر صفات زراعی مورد بررسی و عملکرد میانگین کمتری را در میان سایر خوشه‌ها و همچنین میانگین کل ژنوتیپ‌ها داشتند. با توجه به نتایج حاصل از مقایسه میانگین خوشه‌ها در شرایط بدون تنش می‌توان چنین استنباط کرد که ژنوتیپ‌های موجود در خوشه سوم (۱۶) از نظر اکثر صفات زراعی مورد بررسی و عملکرد میوه میانگین بالاتری را در میان سایر خوشه‌ها و میانگین کل ژنوتیپ‌ها داشتند و به‌عنوان ژنوتیپ برتر در شرایط بدون تنش شناخته شدند. از آماره ماهالانویس برای تعیین فاصله خوشه‌ها استفاده شد. نتایج فاصله ماهالانویس در شرایط معمولی نشان داد که بیشترین فاصله بین خوشه‌های ۲ و ۳ مشاهده شد (جدول ۷). ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۳ بالاترین میزان میانگین را در اکثر صفات زراعی مورد بررسی و عملکرد میوه نشان دادند در حالی که ژنوتیپ‌های خوشه ۲، از نظر اکثر صفات زراعی مورد بررسی و عملکرد میوه میانگین کمتری را در مقایسه با ژنوتیپ‌های خوشه ۳ داشتند ولی نسبت به سایر خوشه‌ها دارای درصد و عملکرد اسانس بالاتری بودند؛ بنابراین تلاقی ژنوتیپ‌های این دو خوشه، احتمال تولید

جدول ۶- میانگین صفات در هر خوشه در شرایط بدون تنش
Table 6. The traits mean in each cluster in non-stress condition

صفات Traits	میانگین Mean						میانگین کل Total mean	
	خوشه اول First cluster		خوشه دوم Second cluster		خوشه سوم Third cluster		بدون تنش	تنش
	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش		
تعداد ژنوتیپ در هر خوشه Genotypes number in each cluster	11	12	6	3	1	3	-	-
تعداد چتر Umbel number	73.67	24.26	102.57	20.59	151.40	21.82	87.62	23.24
تعداد برگ Leaf number	176.28	62.01	208.39	48.06	255	50.70	191.40	57.80
وزن هزار میوه (گرم) Fruit thousand weight (g)	8.10	0.67	8.13	1.00	8.56	0.63	8.39	0.72
قطر ساقه (mm) Stem diameter (mm)	6.24	8.64	8.15	10.13	10.17	7.57	7.10	8.71
تعداد شاخه Branch number	13.58	6.62	17.16	5.81	20.10	5.75	15.14	6.34
ارتفاع بوته (cm) Plant height (cm)	44.92	44.16	50.88	41.81	58.90	42.9	47.68	43.55
وزن خشک بوته (g) Plant dry weight (g)	25.94	6.62	31.94	5.38	36.33	4.62	28.52	6.08
محتوای رطوبت نسبی (درصد) Relative water content (%)	87.71	77.93	89.82	76.54	91.74	83.56	88.64	78.63
تعداد میوه Fruit number	890.13	193.66	1128.25	293.63	1774.60	107.49	1018.64	195.96
میزان اسانس میوه (درصد) Essential oil (%)	0.19	0.19	0.21	0.32	0.12	0.25	0.20	0.22
عملکرد میوه (گرم در بوته) Plant fruit yield (g per plan)	5.34	4.37	5.30	3.42	6.33	2.47	5.67	3.89
شاخص برداشت (درصد) Harvest index (%)	0.21	0.60	0.21	0.70	0.14	0.49	0.20	0.60
تعداد روز تا رسیدگی Days to ripening	85.18	83.25	101.66	73.22	96.66	86.00	89.92	82.03
تعداد روز تا گل‌دهی Days to flowering	79.97	73.30	95.66	63.00	89.83	75.11	84.13	71.88
عملکرد اسانس میوه (کیلوگرم در هکتار) Essential oil yield (Kg h ⁻¹)	1.09	0.80	1.17	1.14	0.65	0.54	1.09	0.82

جدول ۷- مقایسه بردار میانگین و فواصل ماهالانویس خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط معمولی
Table 7. Mean comparison and mahalanobis distances of cluster obtained from cluster analysis in non-stress condition

خوشه‌ها Clusters	خوشه اول vs خوشه دوم First cluster vs second cluster	خوشه اول vs خوشه سوم First cluster vs third cluster	خوشه دوم vs خوشه سوم Second cluster vs third cluster
آماره T ² هتلینگ Hotelling's T-squared	4.04**	211.10**	1140.60**
فاصله بین خوشه‌ها (D ²) Clusters distance (D ²)	4.66	21.20	25.30

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪
** : Significant at 0.01 probability level

جدول ۸- مقایسه بردار میانگین و فواصل ماهالانوبیس خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش

Table 8. Mean comparison and mahalanobis distances of cluster obtained from cluster analysis in stress condition

خوشه‌ها Clusters	خوشه اول vs خوشه دوم First cluster vs second cluster	خوشه اول vs خوشه سوم First cluster vs third cluster	خوشه دوم vs خوشه سوم Second cluster vs third cluster
آماره T^2 هتلینگ	988.25**	168.54**	2.16**
Hotelling's T-squared			
فاصله بین خوشه‌ها (D^2)	37.65	31.23	11.41
Clusters distance (D^2)			

** : معنی دار در سطح احتمال ۱٪

** : Significant at 0.01 probability level

و معنی‌داری با عملکرد میوه نشان دادند. با توجه به همبستگی منفی و معنی‌دار بین تعداد روز تا گل‌دهی و تعداد روز تا رسیدگی با عملکرد میوه در شرایط معمولی و تنش خشکی، می‌توان نتیجه گرفت که برای داشتن ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا، باید به دنبال توسعه ژنوتیپ‌های زودرس بود. در این پژوهش، همبستگی معنی‌داری بین صفات محتوای رطوبت نسبی برگ با عملکرد میوه، تحت تنش خشکی مشاهده شد؛ بنابراین می‌توان این صفت را از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک تحمل خشکی به‌شمار آورد.

همچنین تجزیه خوشه‌ای در جداسازی ژنوتیپ‌ها به زیرگروه‌های مشابه بر اساس صفات اندازه‌گیری شده، به‌صورت مطلوب عمل نمود. با توجه به نتایج ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۵، ۶، ۱۱، ۱۲، ۱۴، ۱۵ و ۱۶ از نظر اکثر صفات زراعی مورد بررسی و عملکرد میوه و اسانس میانگین بالاتری را در میان سایر ژنوتیپ‌ها در دو محیط معمولی و تنش خشکی داشتند. از این ژنوتیپ‌ها می‌توان در شرایط تنش خشکی و اصلاح برای تولید ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی استفاده نمود.

ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۱ از نظر اکثر صفات زراعی و عملکرد میوه میانگین بالاتری را در میان سایر خوشه‌ها داشتند ولی نسبت به سایر خوشه‌ها دارای درصد اسانس پایینی بودند. در حالی‌که ژنوتیپ‌های خوشه ۲، بالاترین میزان میانگین را در صفات درصد اسانس، شاخص برداشت، تعداد میوه و وزن هزار میوه نشان دادند. از آنجایی که افزایش عملکرد میوه همراه با افزایش درصد اسانس یکی از اهداف اصلاحی در انیسون بوده است (Yan *et al.*, 2011)، بنابراین تلاقی ژنوتیپ‌های این دو خوشه، امکان تولید ژنوتیپ‌های با عملکرد میوه و درصد اسانس بالا را در شرایط تنش خشکی نوید می‌دهد.

در این مطالعه، برای بررسی روابط متقابل میان صفات و انتخاب ژنوتیپ‌های برتر از لحاظ چند صفت در انیسون، از روش جی‌تی‌بای‌پلات استفاده شد. نتایج نشان داد که این روش، ابزار قوی برای بررسی روابط متقابل میان صفات و همچنین ارزیابی، مقایسه و انتخاب ژنوتیپ‌های مختلف انیسون، از لحاظ چند صفت بود. نمایش برداری ژنوتیپ در صفت (GT) در شرایط معمولی و تنش خشکی نشان داد که صفات تعداد میوه و وزن هزار میوه همبستگی مثبت

References

- Abou El-Nasr, T.H.S. and Ottai, M.E.S. (2012). Enhancement of essential oil yield of Egyptian anise, *Pimpinella anisum*, L. by individual plant selection. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **6(7)**: 510-517.
- Ahmadian, A. and Noorzad, S. (2014). Effect of water stress and harvesting stages on quantitative and qualitative yields of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Agroecology*, **6(1)**: 130-141 (In Persian).
- Akbarpour, O.A., Deghani, H. and Rousta, M.J. (2015). Evaluation of salt stress of Iranian wheat germplasm under field conditions. *Crop and Pasture Science*, **66(8)**: 770-781.

- Allard, R.W.** (1999). *Principles of Plant Breeding*. 2th Ed. John Wiley and Sons, New York, USA.
- Al Mofleh, I., Alhaider, A., Mossa, J.S., Al-Soohaibani, M. and Rafatullah, S.** (2007). Aqueous suspension of anise (*Pimpinella anisum*) protects rats against chemically induced gastric ulcers. *World Journal of Gastroenterology*, **13(7)**: 1112-1118.
- Asgari, F., Sefidkon, F. and Mirzaee, M.** (1998). Quantitative and qualitative composition of the essential oil of anise. *Research and Development*, **38**: 110-114 (In Persian).
- Ashraf, M.F. and Foolad, M.R.** (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, **59(2)**: 206-216.
- Behera, T.K., Gaikward, A.B., Singh, A.K. and Staub, J.E.** (2008). Relative efficiency of DNA markers (RAPD, ISSR and AFLP) in detecting genetic diversity of bitter melon (*Momordica charantia* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **88(4)**: 733-737.
- Blum, A.** (1996). Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. *Plant Growth Regulation*, **20**: 135-148.
- Brandle, J. and McVetty, P.** (1989). Heterosis and combining ability in hybrids derived from oilseed rape cultivars and inbred lines. *Crop Science*, **29(5)**: 1191-1194.
- Curioni, A.O., Arizio, O.P., Garcia, M. and Alfonso, W.** (2003). Preharvest phenometric characteristics of anise *Pimpinella anisum* L. plants under various agroedaphoclimatic conditions. *Revista Brasileira de Plantas Medicinalis*, **5**: 17-22.
- Dabiri, M., Bahramnejad, M. and Baghbanzadeh, M.** (2009). Ammonium salt catalyzed multicomponent transformation: simple route to functionalized spirochromenes and spiroacridines. *Tetrahedron*, **65(45)**: 9443-9447.
- Dehghani, H., Dvorak, J. and Sabaghnia, N.** (2012). Biplot analysis of salinity related traits in beard wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Biological Research*, **3(7)**: 3723-3731.
- Dehghani, H., Omid, H. and Sabaghnia, N.** (2008). Graphic analysis of trait relations of rapeseed using the biplot method. *Agronomy Journal*, **100(5)**: 1443-1449.
- Duhoon, S.S., Chandra, S., Basu, A.K. and Makhija, O.P.** (1982). Components of genetic variation for yield & its attributes in a diallel cross of yellow-seeded Indian colza. *Indian Journal of Agricultural Science*, **52(3)**: 154-158.
- Dwivedi, S.V., Singh, T. and Mishra, S.K.** (2008). Association studies of yield with quantitative and qualitative characters of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Progressive Horticulture*, **40(1)**: 114-116.
- Dyulgerov, N. and Dyulgerova, B.** (2013). Variation of yield components in coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Agricultural Science & Technology*, **5(2)**: 160-163.
- Erice, G., Louahlia, S., Irigoyen, J.J., Sánchez-Díaz, M., Alami, I.T. and Avice, J.C.** (2011). Water use efficiency, transpiration and net CO₂ exchange of four alfalfa genotypes submitted to progressive drought and subsequent recovery. *Environmental and Experimental Botany*, **72(2)**: 123-130.
- Eynizadeh, P., Dehghani, H. and Khodadadi, M.** (2016). Investigation of drought stress tolerance and adaptation in Iranian endemic coriander (*Coriandrum sativum* L.) populations. *Iranian Journal of Horticultural Science*, **47(2)**: 317-327 (In Persian).
- Eynizadeh, P., Dehghani, H. and Khodadadi, M.** (2018a). Multipurpose selection of some Iranian endemic coriander (*Coriandrum sativum* L.) populations for simultaneous improvement of traits under different irrigation regimes. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, **12(1)**: 223-237 (In Persian).
- Eynizadeh, P., Dehghani, H. and Khodadadi, M.** (2018b). Selecting drought tolerant endemic coriander ecotypes based on fruit yield and related traits using univariate and multivariate indices. *Journal of Crop Production and Processing*, **8(3)**: 99-114 (In Persian).
- Fakerbaher, Z., Rezaei, M.B., Mehdi, M. and Abaszadeh, B.** (2002). Study of quantitative and qualitative changes of essential oil (*Satureja hortensis* L.) during drought on the field. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, **11**: 37-51 (In Persian).
- Falconer, D.S., Mackay, T.F.C. and Frankham, R.** (1996). *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th Ed. Longman, Harlow, UK.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A.** (2009). Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, **29**: 185-212.
- GGEBiplot** (2011). *A Statistical Package*. Ottawa, ON, CA.

- Gholizadeh, A. and Dehghani, H.** (2016). Graphic analysis of trait relations of Iranian bread wheat germplasm under non-saline and saline conditions using the biplot method. *Genetika*, **48(2)**: 473-486.
- Gholizadeh, A., Dehghani, H., Amini, A. and Akbarpour, O.** (2018a). Study on trait relations of wheat genotypes using the biplot method. *Iranian Journal of Field Crop Science*, **49(3)**: 121-136 (In Persian).
- Gholizadeh, A., Dehghani, H. and Khodadadi, M.** (2018b). Estimation of genetic parameters, general and specific combining ability in Iranian endemic coriander populations. *Plant Genetic Researches*, **5(1)**: 19-38 (In Persian).
- Gholizadeh, A., Dehghani, H. and Khodadadi, M.** (2019). Interactions among traits in some coriander genotypes using the biplot method. *Iranian Journal of Field Crop Science*, **50(2)**: 181-193 (In Persian).
- Golparvar, A.R., Ghanadha, M.R., Zali, A.A. and Ahmadi, A.** (2002). Evaluation of morphological traits as selection criteria in breeding of wheat. *Iranian Journal of Crop Sciences* **4**: 202-205 (In Persian).
- Grattan, S.R. and Grieve, C.M.** (1998). Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, **78(1-4)**: 127-157.
- Hallauer, A.R., Carena, M.J. and Miranda, J.B.** (2010). *Quantitative Genetic In Maize Breeding*. 2th Ed. Iowa State University Press, Ames Iowa, USA.
- Hanifei, M., Dehghani, H. and Khodadadi, M.** (2017). Estimation of Genetic Parameters of some quantitative traits in coriander under drought stress, using triple test cross. *Plant Genetic Researches*, **4(1)**: 25-38 (In Persian).
- Hassani, A. and Omidbaigi, R.** (2002). Effect of water stress on some morphological, physiological and metabolic characteristics of basil. *Agricultural Science*, **12(3)**: 47-99 (In Persian).
- Holland, J.B.** (2005). Estimating genotypic correlations and their standard errors using multivariate restricted maximum likelihood estimation with SAS proc mixed. *Crop Science*, **46(2)**: 642-654.
- Huehn, M.** (1993). Harvest index versus grain/straw-ratio. Theoretical comments and experimental results on the comparison of variation. *Euphytica*, **68**: 27-32.
- Johnson, R. A. and Wichern, D. W.** (2002). *Applied Multivariate Statistical Analysis*, 3th Ed. The Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Kaplan, M., Kokten, K. and Akcura, M.** (2017). Assessment of genotype× trait× environment interactions of silage maize genotypes through GGE biplot. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **77(3)**: 212-217.
- Kara, N.** (2015). Yield, quality, and growing degree days of anise (*Pimpinella anisum* L.) under different agronomic practices. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **39(6)**: 1014-1022.
- Karademir, C., Karademir, E., Ekinci, R. and Gençer, O.** (2009). Correlations and path coefficient analysis between leaf chlorophyll content, yield and yield components in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under drought stress conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, **37(2)**: 241-244.
- Kassahun, B.M., Alemaw, G. and Tesfaye, B.** (2013). Correlation studies and path coefficient analysis for seed yield and yield components in Ethiopian coriander accessions. *African Crop Science Journal*, **21**: 51-59.
- Kearsey, M.J. and Pooni, H.S.** (1996). *The Genetic Analysis of Quantitative Traits*. Stanley Thornes, Cheltenham, Great Britain, UK.
- Kendal, E.** (2019). Comparing durum wheat cultivars by genotype× yield× trait and genotype× trait biplot method. *Chilean Journal of Agricultural Research*, **79(4)**: 512-522.
- Keyvan, S.** (2010). The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *Journal of Animal and Plant Science*, **8(3)**: 1051-1060.
- Khodadadi, M., Dehghani, H., Javaran, M.J., and Christopher, J.T.** (2016a). Fruit yield, fatty and essential oils content genetics in coriander. *Industrial Crops and Products*, **94**: 72-81.
- Khodadadi, M., Dehghani, H., Jalali-Javaran, M., Rashidi-Monfared, S. and Christopher, J.T.** (2016b). Numerical and graphical assessment of relationships between traits of the Iranian *Coriandrum sativum* L. core collection by considering genotype × irrigation interaction. *Scientia Horticulturae*, **200**: 73-82.

- Kramer, P.J. and Boyer, J.S.** (1995). *Water Relations of Plants and Soils*. 1th Ed. Academic Press, New York, USA.
- Laribi, B., Bettaieb, I., Kouki, K., Sahli, A., Mougou, A. and Marzouk, B.** (2009). Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition. *Industrial Crops and Products*, **30(3)**: 372-379.
- Letchamo, W., Xu, H.L. and Gosselin, A.** (1995). Variations in photosynthesis and essential oil in thyme. *Journal of Plant Physiology*, **147(1)**: 29-37.
- Li, J.J., Pei, G.L., Pang, H.X., Bilderbeck, A., Chen, S.S. and Tao, S.H.** (2006). A new method for RAPD primers selection based on primer bias in nucleotide sequence data. *Journal of Biotechnology*, **126(4)**: 415-423.
- Lilliefors, H.W.** (1967). On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of the American statistical Association*, **62(318)**: 399-402.
- Maleki, A., Saba, J., Pouryousef, M., Jafari, H. and Jafari, A.A.** (2017). Evaluation of genetic variation and comparison of Iranain anise (*Pimpinella anisum* L.) populations. *Iranian Journal of Field Crop Science*, **47(4)**: 661-670 (In Persian).
- Mandal, K., Saravanan, R. and Maiti, S.** (2008). Effect of different levels of N, P and K on downy mildew (*Peronospora plantaginis*) and seed yield of isabgol (*Plantago ovata*). *Crop Protection*, **27(6)**: 988-995.
- Mardeh, A.S., Ahmadi, A., Poustini, K. and Mohammadi, V.** (2006). Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. *Field Crops Research*, **98(2)**: 222-229.
- Msaada, K., Taarit, M.B., Hosni, K., Hammami, M. and Marzouk, B.** (2009). Regional and maturational effects on essential oils yields and composition of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits. *Scientia Horticulturae*, **122(1)**: 116-124.
- Noroozi-Shahri, F., Pouryousef, M., Tavakoli, A., Saba, J. and Yazdinejad, A.** (2015). Evaluation the performance of some of Iran's native fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) accessions under drought stress condition. *Iranian Journal of Field Crop Science*, **46**: 49-56 (In Persian).
- Omidbeigi, R.** (2005). *Approaches to the Production and Processing of Medicinal Plants*, 8th Ed. Astan Quds Razavi press, Tehran, Iran (In Persian).
- Ozbek, H., Guvenalp, Z., Kuruuzum-Uz, A., Kazaz, C. and Demirezer, L.O.** (2015). Trinorguaian and germacradiene type sesquiterpenes along with flavonoids from herbs of *Pimpinella cappadocica* Boiss. & Bal. *Phytochemistry Letters*, **11**: 74-79.
- Parida, A.K., Dagaonkar, V.S., Phalak, M.S. and Aurangabadkar, L.P.** (2008). Differential responses of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery. *Acta Physiologiae Plantarum*. **30**: 619-627.
- Pavela, R.** (2014). Insecticidal properties of *Pimpinella anisum* essential oils against the *Culex quinquefasciatus* and the non-target organism *Daphnia magna*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **17(3)**: 287-293.
- Ramirez-Vallejo, P. and Kelly, J.D.** (1998). Traits related to drought resistance in common bean. *Euphytica*, **99(2)**: 127-136.
- Razmjoo, K., Heydarizadeh, P. and Sabzalian, M.R.** (2008). Effect of salinity and drought stresses on growth parameters and essential oil content of *Matricaria chamomile*. *International Journal of Agriculture and Biology*, **10(4)**: 451-454.
- Rebey, I.B., Jabri-Karoui, I., Hamrouni-Sellami, I., Bourgou, S., Limam, F. and Marzouk, B.** (2012). Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. *Industrial Crops and Products*, **36(1)**: 238-245.
- Roy, D.** (2000). *Plant Breeding: Analysis and Exploitation of Variation*. Alpha Science International LTD, Panchsheel Park, New Delhi, IND.
- Sabaghnia, N., Dehghani, H. and Sabaghpour, S.H.** (2008). Graphic analysis of genotype by environment interaction for lentil yield in Iran. *Agronomy Journal*, **100(3)**: 760-764.
- Safikhani, F.** (2006). *Investigation of Physiological Aspects of Drought Resistance in Dragonhead (Dracocephalum moldavica L.)*. Ph.D. Thesis, Shahid Chamran University, Ramin Higher Education Agriculture and Natural Resources, Ahvaz, Iran (In Persian).
- SAS/STAT users guide.** (2004). *SAS 9.1 for Windows Update*. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

- Siddique, M.R.B., Hamid, A.I.M.S. and Islam, M.S.** (2000). Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, **41(1)**: 35-39.
- Singh, H.P., Patra, N.K., Kalra, A., Kumar, H.S.B., Singh, S.P. and Singh, A.K.** (2002). Genetic distance in coriander (*Coriandrum sativum* L.) for essential oil yield and yield traits. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, **11(2)**: 101-105.
- SPSS Inc** (2010). *IBM SPSS Statistics 20 Core System User's Guide*. IBM Corp, Chicago, USA.
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobus, U. and Weschke, W.** (2000). Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). *Physiologia Plantarum*, **109(4)**: 435-442.
- Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R. and Kulkarni, R.** (2000). Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in periwinkle. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, **22**: 356-358.
- Turner, N.C.** (1986). Crop water deficits: a decade of progress. *Advances in Agronomy*, **39**: 1-51.
- Wahb-Allah, M.A., Alsadon, A.A. and Ibrahim, A.A.** (2011). Drought tolerance of several tomato genotypes under greenhouse conditions. *World Applied Sciences Journal*. **15**: 933-940.
- Weir, B.S.** (1990). *Genetic Data Analysis. Methods for Discrete Population Genetic Data*. 1th Ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Yan, F., Beyer, E.M., Azizi, A. and Honermeier, B.** (2011). Effects of sowing time and sowing density on fruit yield, essential oil concentration and composition of anise (*Pimpinella anisum* L.) under field conditions in Germany. *Zeitschrift für Arznei- and Gewürzpflanzen*, **16(1)**: 26-33.
- Yan, W., Hunt, L., Sheng, Q. and Szlavnic, Z.** (2000). Cultivar evaluation & mega-environment investigation based on the GGE biplot. *Crop Science*, **40(3)**: 597-605.
- Yan, W. and Kang, M.S.** (2002). *GGE biplot Analysis: A Graphical Tool for Breeders, Geneticists, and Agronomists*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Yan, W. and Rajcan, I.** (2002). Biplot analysis of test sites and trait relations of soybean in Ontario. *Crop Science*, **42(1)**: 11-20.
- Zabet, M., Esmat, K., Izanlo, A. and Zohan, M.H.S.** (2020). Evaluation of salinity stress tolerance of some fennel ecotypes in greenhouse conditions using GT biplot and GGE biplot. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, **27(2)**: 1-10 (In Persian).
- Zehtab-Salmasi, S., Ghasemi-Golezani, K. and Moghbeli, S.** (2006). Effect of sowing date and limited irrigation on the seed yield and quality of dill (*Anethum graveolens* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, **30**: 1-6.
- Zeinaly-Khanghah, H., Izanloo, A., Hoseinzadeh, A. H. and Majnoonhoseini, N.** (2004). Determination of the suitable drought resistance indices in commercial soybeans varieties. *Iranian Journal of Agricultural Science*, **35(4)**: 875-885 (In Persian).
- Zhang, K. and John, P.C.L.** (2005). Raised level of cyclin dependent kinase A after prolonged suspension culture of *Nicotiana plumbaginifolia* is associated with more rapid growth and division, diminished cytoskeleton and lost capacity for regeneration: implications for instability of cultured plant cells. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, **82**: 295-308.

Investigation of Drought Stress Tolerance and Adaptation in Iranian Endemic Anise (*Pimpinella anisum* L.) Genotypes

Shaghayegh Mehravi¹, Gholam Ali Ranjbar^{2,*}, Hamid Najafi-Zarrini²
and Ghader Mirzaghaderi³

1- Ph.D. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

3- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, University of Kurdistan, Iran

(Received: June 15, 2020– Accepted: August 15, 2020)

Abstract

Anise is an annual plant belonging to *Apiaceae* family and fruit essential oil of this herb is used in various pharmaceutical, cosmetic and beverage industries. Drought stress is one of the most critical limiting factors for anise production in worldwide. In this research, to finding interrelationships among different traits and performance, some anise genotypes were evaluated using the biplot method. In this study, 18 anise genotypes were evaluated in normal irrigation regime and drought stress conditions according to a randomized complete block design with three replications at the field of the Western Australia University (UWA), Australia. Fifteen phenological, morphological and physiological traits were measured. Results indicated the positive and significant correlations between yield and fruit number and fruit thousand weight in both conditions. Due to the negative correlation between phenological features with fruit yield in two different irrigation conditions, it could be concluded that to have genotypes with high fruit yield, selection for early ripening genotypes should be done in anise. In this study, a significant correlation was observed between fruit yield and relative water content in the stress condition. Therefore, this trait can be used as a physiological index to evaluate drought tolerance in anise. According to cluster analysis based on the measured traits, genotypes were divided into 3 groups in both non-stress and stress conditions. According to the results of the comparison of the means of the groups in non-stress and drought stress conditions, genotypes No. 1, 5, 6, 11, 12, 14, 15 and 16 were identified as the most drought-tolerant genotypes. These genotypes could be utilized in breeding programs for further improvement of drought tolerance in anise germplasm.

Keywords: Anise, Drought stress, Fruit yield, Essential oil, Biplot, Genotypic correlation

* Corresponding Author, E-mail: ali.ranjbar@sanru.ac.ir