

بررسی تنوع ژنتیکی صفات رویشی اکوتیپ‌های زعفران خوراکی (*Crocus sativus* L.) تحت تنش سرما

فاطمه امیریان^۱، علی مصطفایی^۲، سید محمد علی کارگر^{۳*}

۱- گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی، دانشکده دارو سازی، دانشگاه علوم پزشکی، کرمانشاه، ایران

۳- گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران

* نویسنده مسئول: [Email: Sma.Kargar@Iauksh.ac.ir](mailto:Sma.Kargar@Iauksh.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۱/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۱/۲۰

چکیده

به منظور بررسی اثر تنش سرما بر صفات اکوتیپ‌های زعفران (*Crocus sativus* L.)، آزمایشی بر روی پنج اکوتیپ شامل (تربت‌حیدریه، فردوس، گناباد، قائن، کاشمر) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت گلدانی در سال ۱۳۹۲ انجام پذیرفت. دو شرایط دمایی ۲۵ (شرایط غیرتنش) و پنج درجه سانتی‌گراد (شرایط تنش) در اتافک رشد بر اکوتیپ‌ها اعمال و برخی صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر روی اکثر صفات مورد مطالعه وجود داشت. نتایج تجزیه عاملی، به روش مؤلفه‌های اصلی نشان داد که سه مؤلفه در مجموع، ۸۴/۶ درصد از تغییرات صفات در شرایط بدون تنش و چهار مؤلفه ۸۶/۱۲ درصد از تغییرات صفات تحت تنش را توجیه نمودند. در تجزیه کلاستر در شرایط بدون تنش مشخص شد که اکوتیپ‌های قائن، گناباد، کاشمر و فردوس در کلاستر اول و اکوتیپ تربت‌حیدریه در کلاستر دوم و تحت شرایط تنش، اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه و فردوس در کلاستر اول، اکوتیپ‌های کاشمر و گناباد در کلاستر دوم و اکوتیپ قائن نیز در سومین کلاستر قرار گرفتند. آنالیز تابع تشخیص نشان داد که یک تابع با مقدار ویژه (۶۱/۵۱)، ۱۰۰ درصد تغییرات اکوتیپ‌های مورد بررسی را از نظر صفات مورد مطالعه توجیه نمود. آنالیز تابع تشخیص تحت شرایط تنش نشان داد که دو تابع در مجموع ۱۰۰ درصد از تنوع اکوتیپ‌های مورد مطالعه را از نظر صفات مورد بررسی توجیه نمودند که فقط تابع اول دارای مقدار ویژه بزرگتر از یک بود. بر اساس جدول پیش‌بینی عضویت گروه‌ها اکوتیپ‌های موجود در هریک از سه گروه حاصل از برش دندروگرام با ۱۰۰ درصد احتمال به طور صحیح تقسیم‌بندی شده‌اند. به طور کلی، اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه و فردوس که از نظر عملکرد بیولوژیک تحت شرایط سرما بیشترین میزان را داشته و در یک کلاستر قرار گرفتند؛ برای کاشت در مناطق سرد سیر می‌توانند مورد نظر باشند.

واژه‌های کلیدی: تنش محیطی، تجزیه کلاستر، تابع تشخیص.

مقدمه

تجزیه خوشه‌ای، اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه، مشهد و تربت‌جام در یک خوشه و اکوتیپ‌های بیرجند، قاین و گناباد در خوشه دیگر گروه‌بندی گردیدند (Bayat et al., 2016). تنش‌های محیطی مهم‌ترین عوامل کاهش‌دهنده عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان هستند. در بین تنش‌های غیرزنده، سرما یکی از مهم‌ترین عوامل ایجاد خسارت به زراعت‌های پاییزه است. آگاهی از نقش صفات فیزیولوژیک مؤثر بر عوامل محدودکننده عملکرد و نحوه توارث آنها به منظور طراحی برنامه‌های به‌نژادی دقیق‌تر، برای بهبود ژنتیکی پتانسیل عملکرد، ضروری است. بنابراین، دسته‌بندی صفات و همچنین گروه‌بندی اکوتیپ‌های زعفران تحت شرایط تنش سرما از جمله اهداف این پژوهش بودند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۹۲ بر روی پنج اکوتیپ زعفران زراعی جمع‌آوری شده از مناطق قائن، فردوس، گناباد، تربت‌حیدریه و کاشمر استان خراسان، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار به صورت کشت در گلدان‌های با حجم ۹/۱۲ لیتر، با بستر شنی در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه انجام پذیرفت.

وزن بنه‌های مادری بین ۵/۵ تا ۶/۵ گرم بود و در هر گلدان ۱۲ بنه کاشته شد. پس از آبیاری اولیه، گلدان‌ها ابتدا در شرایط دمای +۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ماه تحت شرایط ایده‌آل در ژرمیناتور قرار گرفته و آبیاری گلدان‌ها به طور منظم به فواصل چهار روزه و به مدت یک ماه انجام گرفت. در هر مرحله ۵۰۰ سی‌سی آب به هر گلدان اضافه و مازاد آن نیز تخلیه گردید. در پایان دوره یک ماهه صفات (طول ساقه، تعداد ساقه، درصد کلروفیل برگ، تعداد برگ در هر بنه، متوسط سطح برگ، حجم برگ، وزن خشک برگ، وزن تر بنه، حجم ریشه، متوسط طول ریشه، وزن خشک ریشه و مجموع طول ریشه و ساقه) اندازه‌گیری و یادداشت‌برداری شدند. سپس گلدان‌ها به منظور سرما سازگاری در ژرمیناتور تحت شیب نزولی دما قرار گرفتند. برای جلوگیری از ایجاد تنش دمایی ناگهانی در

زعفران زراعی با نام علمی (*Crocus sativus L.*) به عنوان ارزشمندترین محصول کشاورزی و دارویی جهان و چاشنی غذایی، جایگاه ویژه‌ای در جهان داشته و بیش از ۹۰ درصد تولید جهانی این محصول گران‌بها به ایران اختصاص دارد (Kafii et al., 2001) و طبق آمارهای جدید به ۹۴ درصد افزایش یافته است (www.slideshar.net). کشت زعفران در کشور ایران دارای سابقه تاریخی مستند بوده و برخی از محققین منشأ این گیاه را ایران معرفی نموده‌اند (Mollafilabi, 2004). بنابر گزارشات علمی این گیاه از ۱۵۰۰ تا ۲۵۰۰ سال قبل از میلاد در ایران کشت می‌شده و احتمالاً از ایران، آسیای صغیر به هند و چین و همچنین یونان و شرق اروپا گسترش یافته است (Negbi, 1999; Tamarro, 1987). با انجام پژوهشی بر روی ۲۵ نمونه از دو گونه وحشی زعفران با بررسی ۱۶ صفت مورفولوژیک بیشترین تنوع در ضخامت گلبرگ و کمترین آن در طول برگ مشاهده گردید. در تجزیه خوشه‌ای صفات مورفولوژیک در سه گروه و در تجزیه به عامل‌ها در چهار عامل با ۸۱/۴۶ درصد از تغییرات، مورد مطالعه قرار گرفتند (Khansari nejad et al, 2015). در بررسی تنوع ژنتیکی ۱۳ گونه جمع‌آوری شده از نواحی مختلف ایران با روش استخراج DNA با استفاده از تجزیه کلاستر هفت گروه با قرابت ژنتیکی شناسایی و معرفی گردیده است (Alavi-Kia et al., 2008). در پژوهشی شش کلونی زعفران جمع‌آوری شده از شش منطقه تولید این محصول با استفاده از مارکرهای RAPD^۱ و SRAP^۲ بررسی گردیدند و تجزیه کلاستر بر اساس داده‌های هر یک از مارکرها چهار گروه ژنتیکی را مشخص نمود که نتایج کاربرد مارکر RAPD سودمندتر بود (Keify & Beiki, 2012). تنوع ژنتیکی ۶۵ نمونه جمع‌آوری شده از پنج منطقه استان خراسان، با استفاده از مارکرهای RAPD و ISSR مطالعه گردیده و چهار گروه ژنتیکی با استفاده از تجزیه کلاستر شناسایی گردیده است (Shokrpour et al., 2017). در یک فعالیت پژوهشی شش اکوتیپ جمع‌آوری شده از استان خراسان از نظر تنوع ژنتیکی بررسی و در نهایت، با

1- Random amplified polymorphic DNA

2- Sequence-related amplified polymorphism

خشک شدن با استفاده از ترازوی با دقت یک هزارم گرم توزین شدند و میانگین آنها ثبت شد. برای محاسبه وزن بنه‌ها، پس از خارج نمودن چهار بنه به طور تصادفی و موقت از داخل گلدان‌ها و جدا نمودن ریشه‌ها و ساقه‌ها، وزن هر بنه بر حسب گرم محاسبه و میانگین آن ثبت شد. برای اندازه‌گیری حجم ریشه‌ها، چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از استوانه مدرج و آب، حجم ریشه‌ها بر حسب میلی‌لیتر مکعب اندازه‌گیری و میانگین حاصله یادداشت‌برداری شد. برای اندازه‌گیری متوسط طول ریشه، تعداد چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و از محل خروج ریشه، از بنه تا انتهای‌ترین نقطه آن بر حسب سانتی‌متر با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و میانگین آن ثبت شد. همچنین ریشه‌های چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و پس از جدا و خشک نمودن آنها، با استفاده از ترازوی با دقت یک هزارم گرم توزین و میانگین حاصله یادداشت‌برداری شد. برای اندازه‌گیری مجموع طول ریشه و ساقه، چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از خط‌کش طول کل از انتهای‌ترین نقطه ریشه تا انتهای‌ترین نقطه ساقه، بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری و میانگین حاصله یادداشت‌برداری گردید.

بررسی‌های آماری شامل تجزیه واریانس، تجزیه عاملی، کلاستر و تابع تشخیص بودند که با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS¹⁶ و C-MSTAT انجام شدند.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس صفات تحت شرایط بدون تنش

نتایج نشان داد که تنوع معنی‌داری در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر اکثر صفات در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. هر چند که این تنوع از نظر صفت وزن خشک برگ در هر بنه معنی‌دار نبود. بیشترین ضریب تغییرات مربوط به وزن خشک برگ بنه (۲۹/۹۹) و کمترین آن، متعلق به صفت درصد کلروفیل برگ (۵/۸۴) بود. زیاد بودن ضریب تغییرات صفت وزن خشک برگ هر بنه، می‌تواند حاکی از اثر بالای محیط روی این صفت باشد و به همین دلیل این تنوع از نظر آماری معنی‌دار نشده است (جدول ۱).

گیاه، روزانه ۱/۵ درجه سانتی‌گراد در صبح و ۱/۵ درجه سانتی‌گراد در شب از دمای دستگاه ژرمیناتور کاسته شد و پس از یک هفته دما به ۵+ درجه سانتی‌گراد رسید. به این ترتیب گلدان‌ها به مدت یک ماه در شرایط دمایی ۵+ درجه سانتی‌گراد و آبیاری به فواصل چهار روزه و با آب ۵+ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در پایان این دوره نیز خصوصیات مورفولوژیک مورد اشاره یادداشت‌برداری و ثبت شدند.

صفات مورد اندازه‌گیری

تعداد چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و صفات اندازه‌گیری شده در شرایط دمایی ایده‌آل، در شرایط تنش نیز به شرح ذیل اندازه‌گیری شدند:

طول آنها از محل خروج ساقه، از روی بنه تا انتهای‌ترین نقطه آن بر حسب سانتی‌متر و با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و میانگین حاصله از آنها یادداشت‌برداری گردید. همچنین چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و ساقه‌های فرعی خارج شده شمارش و میانگین آن یادداشت‌برداری شد. برای اندازه‌گیری درصد کلروفیل برگ، چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و از هر بنه سه نمونه برگ به صورت تصادفی تهیه و با دستگاه کلروفیل متر (Minolta مدل SPAD₅₀₂) اندازه‌گیری و میانگین حاصله ثبت شد. همچنین چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و تمام برگ‌های خارج شده از ساقه‌های فرعی در هر بنه شمارش و میانگین آنها یادداشت‌برداری شد. از آنجا که شکل برگ‌های زعفران شبیه مثلث متساوی‌الساقین است، چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از خط‌کش طول و با استفاده از کولیس، قاعده هر برگ بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از فرمول (ارتفاع × قاعده) متوسط سطح برگ بر حسب میلی‌متر مربع برای تمام برگ‌های خارج شده از بنه محاسبه و میانگین آنها به عنوان متوسط سطح برگ هر بنه یادداشت شد. همچنین چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و با استفاده از استوانه مدرج و آب، حجم برگ آنها بر حسب میلی‌لیتر اندازه‌گیری و میانگین حاصله یادداشت‌برداری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک برگ، برگ‌های چهار بنه به صورت تصادفی انتخاب و پس از

جدول ۱. آنالیز واریانس (میانگین مربعات) صفات مورد مطالعه پنج اکوتیپ زعفران تحت شرایط بدون تنش
Table 1. Analysis of variance (means of squares) for studied traits on five saffron ecotypes under non-stress condition

حجم برگ Leaf volume (ml)	متوسط سطح برگ Average leaf area (mm ²)	تعداد برگ در بنه Number of leaves per corm	درصد کلروفیل برگ Percent of leaf Chlorophyll	تعداد ساقه Number of stems	طول ساقه Stem length (cm)	درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V.
0.388**	4538.221**	36.46**	13.20**	3.058**	33.00**	4	تیمار Treatment
0.010	354.831	2.82	0.546	0.177	5.87	15	اشتباه Error
-	-	-	-	-	-	19	کل Total
10.46	11.88	15.86	5.84	20.28	14.02		ضریب تغییرات C.V.
0.94	158.61	9.84	12.64	2.07	17.28		میانگین Mean
0.30	77.81	6.00	9.32	1.00	9.40		حد پایینی Min
1.37	211.46	14.37	15.70	3.50	23.35		حد بالایی Max
0.05	9.42	0.84	0.37	0.21	1.21		S _x ⁻

*, **, و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد غیر معنی‌دار
 *, **, and ns significant: are significant at 5 and 1 probability levels and non-significant, respectively.

جدول ۱. ادامه

Table 1. Continued

مجموع طول ریشه و ساقه Total length of root and stem (cm)	وزن خشک ریشه Dried weight of roots (g)	متوسط طول ریشه Average length of roots (cm)	حجم ریشه Roots volume (ml)	وزن تر بنه Wet corm weight (g)	وزن خشک برگ Dried weight of leaves (g)	درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V.
60.795**	0.021**	25.964**	0.992**	2/484**	0.011 ^{ns}	4	تیمار Treatment
6.026	0.001	0.780	0.045	0.125	0.004	15	اشتباه Error
-	-	-	-	-	-	19	کل Total
7.00	16.60	6.29	20.96	6.71	29.99		ضریب تغییرات C.V.
35.09	0.15	14.03	1.01	5.26	0.22		میانگین Mean
25.25	0.05	9.62	0.25	3.92	0.09		حد پایینی Min
42.22	0.29	18.07	1.75	6.54	0.38		حد بالایی Max
1.23	0.01	0.44	0.11	0.18	0.03		S _x ⁻

*, **, و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد غیر معنی‌دار
 *, **, and ns significant: are significant at 5 and 1 probability levels and non-significant, respectively.

جدول ۲. میانگین مربعات صفات مورد مطالعه برای پنج اکوتیپ زعفران، تحت شرایط تنش

Table 2. The means of square of studied traits on five saffron ecotypes under stress condition

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	طول ساقه Stem length (cm)	تعداد ساقه Number of stems	درصد کلروفیل برگ Percent of leaf Chlorophyll	تعداد برگ در بنه Number of leaves per corm	متوسط سطح برگ Average leaf area (mm ²)	حجم برگ Leaf volume (ml)
تیمار Treatment	4	10.412**	0.581*	43.814**	10.698**	1836.498**	0.097*
اشتباه Error	15	0.712	0.154	4.943	0.944	148.293	0.025
کل Total	19	-	-	-	-	-	-
ضریب تغییرات C.V.		8.67	17.99	10.97	9.49	14.37	17.22
میانگین Mean		9.68	2.16	20.27	10.23	84.74	0.92
حد پایینی Min		7.29	1.5	12.53	7.00	52.4	0.04
حد بالایی Max		12.46	3.00	27.03	13.31	126.31	1.30
S _x		0.42	0.2	1.11	0.49	6.9	0.08

*, ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد غیر معنی‌دار

*, ** and ns significant: are significant at 5 and 1 probability levels and non-significant, respectively.

تجزیه واریانس صفات تحت شرایط تنش

نتایج نشان داد که تنوع معنی‌داری در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر اکثر صفات در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. هرچند که صفات تعداد ساقه فرعی، حجم برگ، متوسط طول ریشه‌های هر بنه و مجموع طول ریشه و ساقه فقط در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند. بیشترین ضریب تغییرات مربوط به متوسط طول ریشه‌های هر بنه (۲۹/۶۶) و کمترین ضریب تغییرات متعلق به صفت وزن تر بنه (۷/۴۶) بود. بالا بودن ضریب تغییرات صفت متوسط طول ریشه‌های هر بنه می‌تواند نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه باشد و این تنوع از نظر آماری نیز معنی‌دار بود (جدول ۲). تجزیه به عامل‌ها تحت شرایط بدون تنش

تجزیه به عامل‌ها به روش مؤلفه‌های اصلی تحت شرایط بدون تنش در اکوتیپ‌های مورد مطالعه صورت گرفت و پس از چرخش واریمکس (Varimax) نشان داد که به طور کلی، سهم مؤلفه اصلی، (۸۴/۶۵) درصد از تغییرات صفات مورد مطالعه را توجیه نمودند که در این مورد سهم مؤلفه اول (۳۶/۲۸)، مؤلفه دوم (۲۹/۷۱) و مؤلفه سوم (۱۸/۶۵) درصد از تغییرات توجیه شده بود. با توجه به بیشترین ضرایب، مؤلفه اول را با نام برگ و ترکیبات آن، مؤلفه دوم را با نام ریشه و ساقه و مؤلفه سوم، برگ و ساقه نام‌گذاری شدند (جدول ۳). محمدی و پراسانا (Mohammadi & Prasanna, 2003) اشاره نمودند که تجزیه به مؤلفه‌های اصلی می‌تواند به عنوان روشی برای تعیین تعداد مطلوب کلاستر استفاده شود.

Table 2. Continued

مجموع طول ریشه و ساقه Total length of root and stem (cm)	وزن خشک ریشه Dried weight of roots (g)	متوسط طول ریشه Average length of roots (cm)	حجم ریشه Roots volume (ml)	وزن تر بنه Wet corm weight (g)	وزن خشک برگ Dried weight of leaves (g)	درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V.
14.358*	0.038**	4.084*	0.116**	2.208**	0.006**	4	تیمار Treatment
3.964	0.001	1.031	0.009	0.143	0.001	15	اشتباه Error
-	-	-	-	-	-	19	جمع کل Total
12.41	23.23	29.66	11.81	7.46	28.26		ضریب تغییرات C.V.
16.04	0.13	3.42	0.793	5.07	0.120		میانگین Mean
11.60	0.00	1.52	0.57	3.67	0.05		حد پایینی Min
21.40	0.28	6.09	1.04	6.30	0.19		حد بالایی Max
1.00	0.02	0.51	0.05	0.19	0.02		S_x^2

*, ** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد غیر معنی‌دار
*, ** and ns significant: are significant at 5 and 1 probability levels and non-significant, respectively.

جدول ۳. تجزیه به عامل‌ها تحت شرایط بدون تنش

Table 3. Analysis of factors under non-stress condition

مؤلفه‌ها Components			
سوم Third	دوم Second	اول First	
18.65	29.71	36.28	مقادیر ویژه سهم هر مؤلفه Eigenvalue
84.65	66.00	36.28	سهم تجمعی Cumulative (%)
0.223	0.373	0.765	طول ساقه Stem length
0.811	0.486	0.173	تعداد ساقه فرعی Number of sub branches
0.289	0.157	0.840	درصد کلروفیل Percent of chlorophyll
0.940	0.167	0.127	تعداد برگ در بنه Number of leaves per corm
0.064	0.487	0.812	متوسط سطح برگ Average leaf area
0.284	0.309	0.865	حجم برگ Leaf volume
0.501	0.061	0.555	وزن خشک برگ Dried weight of leaves

جدول ۳. ادامه

Table 3. Continued

0.045	0.129	-0/883	وزن تر بنه <i>Wet weight of corm</i>
0.407	0.350	0.168	حجم ریشه <i>Roots volume</i>
0.139	0.941	0.187	متوسط طول ریشه <i>Average length of roots</i>
0.195	0.917	0.153	وزن خشک ریشه <i>Dried weight of roots</i>
0/049	0/580	0/659	مجموع طول ریشه و ساقه <i>Total length of root and stem</i>

Extraction method: Principal component analysis

Rotation method: Varimax with Kaiser normalization

گرفتند (شکل ۱). تجزیه خوشه ای یکی از روش‌های آماری چندمتغیره است که برای تعیین تنوع بین جوامع مختلف گیاهی و جانوری و دسته‌بندی آنها به گروه‌های مختلف بر اساس فاصله ژنتیکی و یا تشابه ژنتیکی آنها به کار گرفته می‌شود (Romesburg, 2004). تجزیه کلاستر نخستین بار توسط Tryon در سال ۱۹۳۹ جهت رده‌بندی و بررسی تنوع ژنتیکی استفاده گردید (Tryon, 1939). در مطالعه‌ای برای ارزیابی تنوع ژنتیکی گندم‌های تتراپلوئید در کشور اتیوپی از روش‌های خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده نمودند که نتایج به دست آمده از گروه‌بندی این دو روش یکسان بود (Hailu et al., 2006).

تجزیه کلاستر صفات تحت شرایط تنش

نتایج تجزیه کلاستر صفات به روش وارد تحت شرایط تنش و برش دندروگرام حاصله از ناحیه ۱۵ از فاصله اقلیدوسی نشان داد که به طور کلی، صفات مورد مطالعه در سه کلاستر قابل دسته‌بندی هستند. صفات طول ساقه، متوسط سطح برگ، وزن خشک برگ، طول متوسط ریشه، وزن تر ریشه و درصد کلروفیل برگ در کلاستر اول، حجم ریشه و وزن خشک ریشه در کلاستر دوم، تعداد برگ، حجم کلی برگ، تعداد ساقه، وزن تر بنه نیز در سومین کلاستر قرار گرفتند (شکل ۲).

تجزیه به عامل‌ها تحت شرایط تنش

تحت شرایط تنش سرما در اکوتیپ‌های مورد مطالعه پس از چرخش واریمکس به طور کلی، چهار مؤلفه اصلی (۸۶/۱۲) درصد از تغییرات صفات را توجیه نمودند که در این مورد سهم مؤلفه اول (۲۷/۹)، مؤلفه دوم (۲۱/۴)، مؤلفه سوم (۲۱/۲۱) و مؤلفه چهارم (۱۵/۵۹) درصد از تغییرات صفات را توجیه نمودند. با توجه به بیشترین ضرایب عامل که در هر مؤلفه وجود داشت، مؤلفه اول با نام برگ و ریشه، مؤلفه دوم برگ و ساقه، مؤلفه سوم برگ و ترکیبات آن و مؤلفه چهارم بنه و ریشه نام‌گذاری گردید (جدول ۴). در بررسی ضرایب عاملی گزارش گردیده که صفاتی چون عملکرد بیولوژیک در گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب حائز اهمیت می‌باشد (Naghdi pour et al., 2011) (تحت شرایط سرما نیز چنین خواهد بود).

تجزیه کلاستر صفات تحت شرایط بدون تنش

نتایج تجزیه کلاستر صفات تحت شرایط بدون تنش به روش وارد^۱ و برش دندروگرام حاصله از ناحیه ۱۵/۲ از فاصله اقلیدوسی نشان داد که به طور کلی، صفات مورد مطالعه در سه کلاستر قابل دسته‌بندی هستند. که به ترتیب صفات طول متوسط ریشه، وزن خشک ریشه، حجم ریشه، تعداد ساقه فرعی و تعداد برگ در کلاستر اول، وزن تر بنه در کلاستر دوم، درصد کلروفیل برگ، حجم برگ، طول ساقه، متوسط سطح برگ، طول ریشه و ساقه و وزن خشک برگ نیز در سومین کلاستر قرار

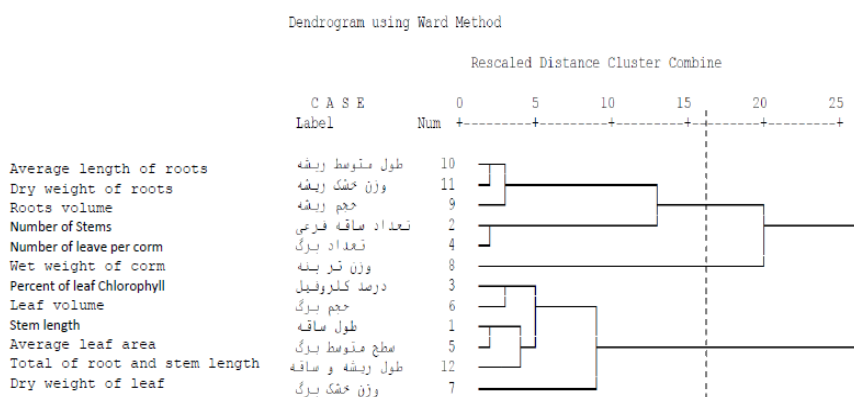
جدول ۴. تجزیه به عامل‌ها تحت شرایط تنش

Table 4. Analysis of factors under stress condition

مؤلفه‌ها				
Components				
چهارم	سوم	دوم	اول	
Forth	Third	Second	First	
15.59	21.21	21.40	27.90	مقادیر ویژه سهم هر مؤلفه Eigenvalue
86.12	70.52	49.30	27.90	سهم تجمعی Cumulative (%)
0.234	0.520	0.052	0.794	طول ساقه Stem length
0.001	-0.106	0.923	0.094	تعداد ساقه فرعی Number of sub branches
-0.314	0.829	0.073	-0.027	درصد کلروفیل Percent of chlorophyll
0.322	0.461	0.765	0.128	تعداد برگ در بنه Number of leaves per corm
0.175	0.553	0.050	0.791	متوسط سطح برگ Average leaf area
0.248	0.285	0.833	-0.079	حجم برگ Leaf volume
0.249	0.824	0.326	0.211	وزن خشک برگ Dried weight of leaves
0.833	0.074	0.092	-0.069	وزن تر بنه Wet weight of corm
0.101	0.029	0.101	-0.933	حجم ریشه Roots volume
-0.812	0.126	-0.222	-0.053	متوسط طول ریشه Average length of roots
0.075	0.097	-0.198	-0.927	وزن خشک ریشه Dried weight of roots
-0.262	0.516	-0.462	0.528	مجموع طول ریشه و ساقه Total length of root and stem

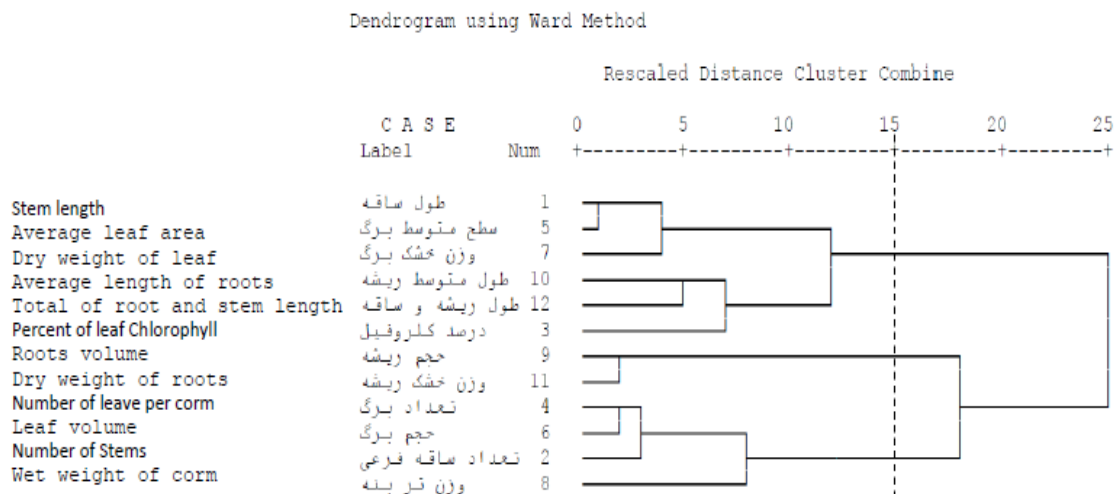
Extraction method: Principal component analysis

Rotation method: Varimax with Kaiser normalization



شکل ۱. دندروگرام تجزیه کلاستر صفات اکوتیپ‌های زعفران تحت شرایط بدون تنش به روش وارد

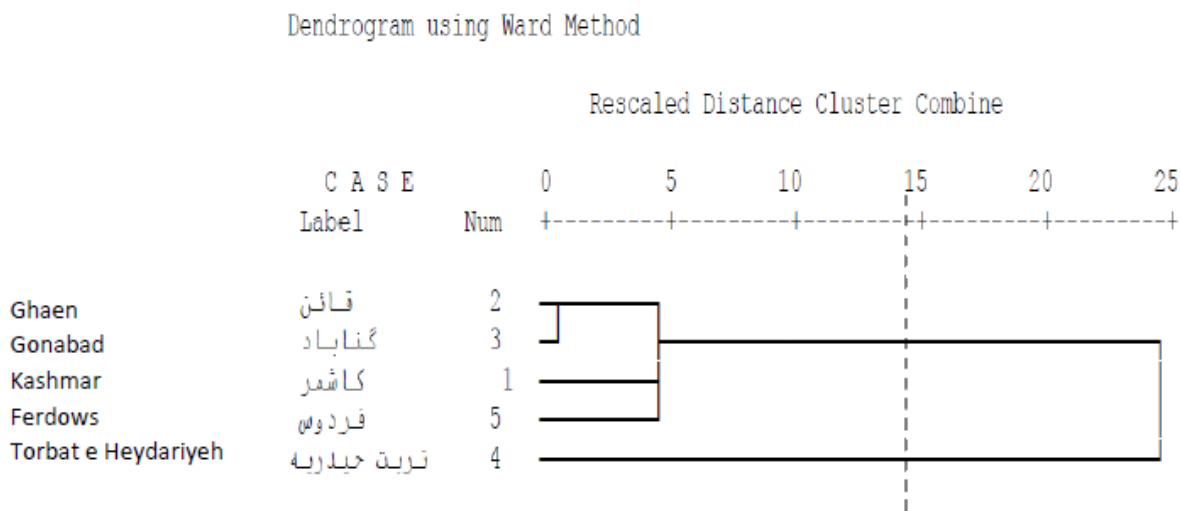
Fig. 1. Denrogram of cluster analysis for traits of saffron ecotypes affected as non-stress using Ward method



شکل ۲. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر صفات اکوتیپ‌های زعفران مورد مطالعه تحت شرایط تنش به روش وارد
Fig. 2. Displaying acquired denrogram of analysis of cluster based on studied traits of saffron ecotypes under stress using ward method

دوم قرار گرفتند، و مشخص شد در شرایط بدون تنش چهار اکوتیپ قائن، گناباد، کاشمر و فردوس تقریباً مشابه یکدیگر عمل نموده و در عین حال، اکوتیپ تربت‌حیدریه با توجه به شرایط و خصوصاتی که دارد در گروه جداگانه‌ای واقع شده است (شکل ۳).

تجزیه کلاستر اکوتیپ‌ها شرایط بدون تنش
 نتایج تجزیه کلاستر اکوتیپ‌ها با برش دندروگرام حاصله از ناحیه ۱۵ از فاصله اقلیدوسی نشان داد که اکوتیپ‌های قائن، گناباد، کاشمر و فردوس (۲، ۳، ۱، ۵) در کلاستر اول و اکوتیپ تربت‌حیدریه (۴) در کلاستر



شکل ۳. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر اکوتیپ‌های زعفران مورد مطالعه تحت شرایط بدون تنش به روش وارد
Fig. 3. Displaying acquired denrogram of analysis of cluster based on studied saffron ecotypes under non-stress using ward method

جدول ۸. خلاصه نتایج انتساب صحیح اکوتیپ‌ها به گروه‌های حاصله از دندروگرام بر اساس تابع تشخیص

Table 8. Summary of the results of correction assignment of ecotypes to acquired dendrogram

مجموع Total	عضویت پیش‌بینی شده در گروه		روش وارد Ward method
	2	1	
4	0	4	تعداد اصلی Original count
1	1	0	2
100%	0%	100%	1
100%	100%	0%	2

a. 100% of original grouped cases correctly classified

آنالیز تابع تشخیص بر روی اکوتیپ‌های زعفران مورد مطالعه بر اساس ۱۲ صفت مورد بررسی نشان داد که یک تابع با مقدار ویژه (۶۱/۵۱) ۱۰۰ درصد تغییرات اکوتیپ‌های مورد بررسی را از نظر صفات مورد مطالعه توجیه نمود که در طول ساقه، تعداد ساقه و درصد کلروفیل که بیشترین تنوع را داشتند وارد مدل تابع شدند و در این میان صفت تعداد ساقه با ضریب تابعی استاندارد شده (۳/۴۵) بیشترین تنوع را در شرایط بدون تنش دارا بود (جدول‌های ۵، ۶، ۷ و ۸). همانگونه که در شکل‌های ذیل ملاحظه می‌شود، تحت شرایط بدون تنش و بر اساس تابع اول تشخیص اکوتیپ‌های فردوس، کاشمر، قاین و گناباد دارای تنوع مثبت و اکوتیپ تربت‌حیدریه تنوع منفی بوده‌اند، در واقع در شرایط رطوبتی بالا اکوتیپ تربت‌حیدریه نسبت به بقیه اکوتیپ‌های مورد مطالعه رشد کمتری دارد (شکل ۴).

جدول ۵. مقادیر ویژه و درصد تنوع توجیهی توسط تابع تشخیص تحت شرایط بدون تنش

Table 5. The eigenvalue and percent of explained variation using discriminant function under non-stress

تابع Function	مقادیر ویژه درصد از واریانس Eigen Value	درصد تجمعی Percent of cumulative variance	همبستگی کانونی Canonical correlation
1	61.516 ^a	100	0.992

a. برای اولین بار دو تابع جدا متعارف در این آنالیز استفاده شد.

a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis

جدول ۶. ضرایب استاندارد شده حاصل از تابع تشخیص تحت شرایط بدون تنش

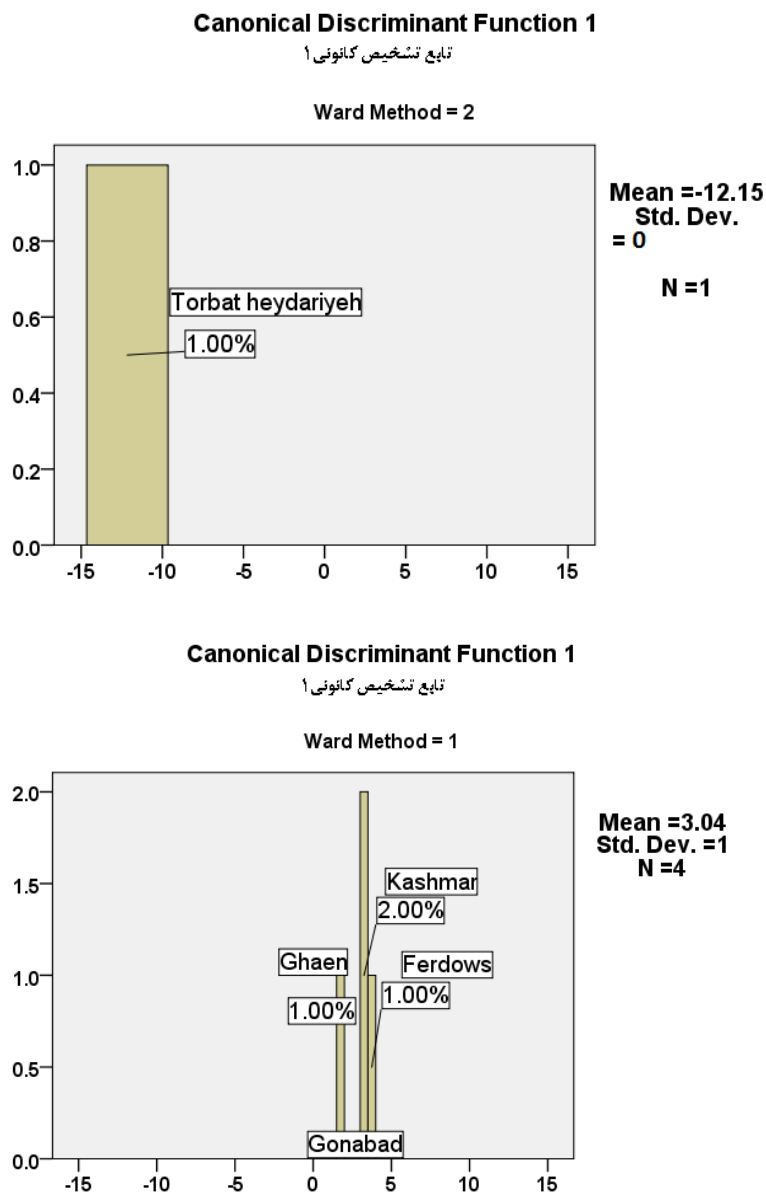
Table 6. Standardized canonical discriminant function coefficients under non-stress condition

تابع Function	ضرایب
1	
3.400	طول ساقه Stem length
3.459	تعداد ساقه Number of stem
-3.26	درصد کلروفیل برگ Percent of leaf chlorophyll

جدول ۷. ضرایب تابعی استاندارد نشده حاصل از صفات وارد شده به مدل تابع تشخیص

Table 7. Canonical discriminant function coefficients

تابع Function	صفات وارد شده به مدل Inserted traits to model
1	
3.627	طول ساقه Stem length
0.374	تعداد ساقه Number of stems
-2.411	درصد کلروفیل برگ Percent of leaf chlorophyll
-32.973	مقدار ضریب ثابت (Constant)



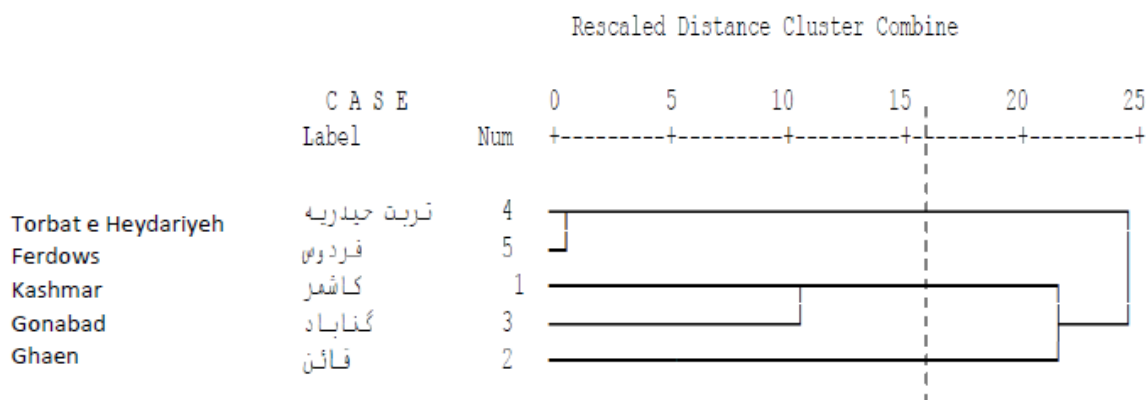
شکل ۴. موقعیت اکوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس تابع ۱ تشخیص در شرایط بدون تنش

Fig. 4. Displaying ecotype citation based on canonical discriminant 1 under non-stress condition

یکدیگر عمل نموده و در عین حال، اکوتیپ‌های کاشمر و گناباد نیز تقریباً شرایطی مشابه هم داشتند. اکوتیپ قائن با توجه به شرایط و خصوصیتی که دارد در گروه جداگانه‌ای واقع شده است (شکل ۵). در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای اصولی‌ترین روش برای برآورد شباهت بین افراد در یک مجموعه ذخایر توارثی است (Moghaddam et al., 1994).

تجزیه کلاستر اکوتیپ‌ها تحت شرایط تنش نتایج تجزیه کلاستر اکوتیپ‌های مورد مطالعه با برش دندروگرام حاصله از ناحیه ۱۵/۲ از فاصله اقلیدوسی نشان داد که اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه و فردوس (چهار و پنج) در کلاستر اول، اکوتیپ‌های کاشمر و گناباد (یک و سه) در کلاستر دوم و اکوتیپ بومی قائن نیز در سومین کلاستر قرار گرفتند و مشخص شد تحت شرایط تنش سرما دو اکوتیپ فردوس و تربت‌حیدریه تقریباً مشابه

Dendrogram using Ward Method



شکل ۵. دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر اکوتیپ‌های زعفران مورد مطالعه تحت شرایط تنش به روش وارد
Fig. 5. Displaying acquired dendrogram of analysis of cluster based on studied saffron ecotypes under stress using ward method

جدول ۹. مقادیر ویژه و درصد تنوع توجیهی توسط تابع تشخیص تحت شرایط تنش سرما

Table 9. The egenvalue and percent of explained variation using discriminant function under cold stress

همبستگی کانونی Canonical correlation	درصد تجمعی Percent of cumulative variance	درصد از واریانس Percent of variance	مقادیر ویژه Eigen value	تابع Function
0.997	99.5	99.5	163.705a	1
0.674	100	0.5	834a	2

a. برای اولین بار دو تابع جدا متعارف در این آنالیز استفاده شد.
 a. First 2 canonical discriminant functions were used in the analysis

جدول ۱۰. ضرایب استاندارد شده حاصل از تابع تشخیص تحت شرایط تنش سرما

Table 10. Standardized canonical discriminant function coefficients under cold stress condition

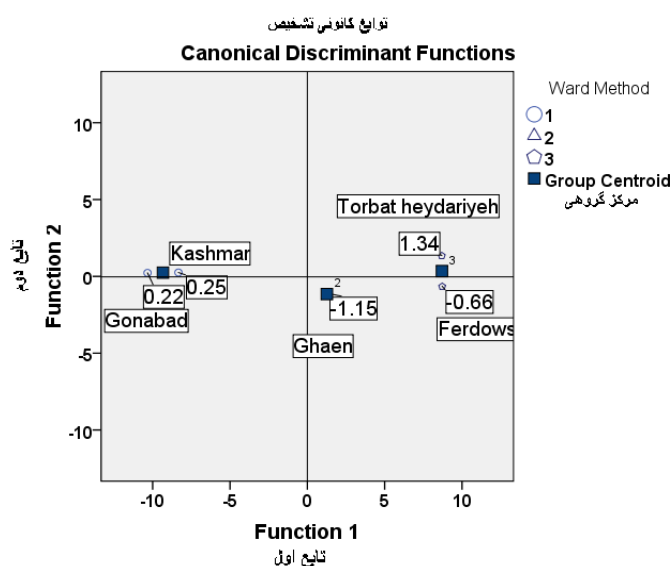
تابع Function		صفات وارد شده به مدل Inserted traits to model
2	1	
0.707	3.400	طول ساقه Stem length
-0.302	3.459	تعداد ساقه Number of stems

تحت شرایط تنش با انجام آنالیز تابع تشخیص مشخص شد که در مجموع دو تابع ۱۰۰ درصد از تنوع اکوتیپ‌های مورد مطالعه را از نظر صفات مورد بررسی توجیه نمودند که فقط تابع اول دارای مقدار ویژه بزرگتر از یک بود. به عبارت دیگر، ۹۹/۵ درصد (۷۰/۱۶۳) از

تنوع اکوتیپ‌ها را توجیه نموده است و تابع دوم مقدار ناچیزی از تغییرات را توجیه می‌نمود. در این شرایط فقط صفات طول ساقه و تعداد ساقه‌ها در بنه وارد مدل تابع شدند. در این مورد تعداد ساقه‌ها با ضریب تابعی استاندارد شده (۳/۴۵) از تنوع بیشتری برخوردارند و بر

پژوهش‌گران دیگر نیز استفاده شده است (Moreda et al., 2003; Balocchi et al., 2001; Jaynes et al., 2003). تابع تشخیص در ارقام گندم ایرانی تحت تنش سرمای بهاره (Mohammdi et al, 2013)، در لاین‌های گندم دروم تحت تحمل به سرمای اول فصل (Rashidi et al 2010) و همچنین در لوبیای معمولی تحت تنش خشکی (Shafiee Khorshidi et al, 2012) استفاده شده‌است.

اساس جدول پیش‌بینی عضویت گروه‌ها، اکوتیپ‌های موجود در هر یک از سه گروه حاصل از برش دندروگرام با ۱۰۰ درصد احتمال به طور صحیح تقسیم‌بندی شده‌اند (جدول‌های ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲). تابع تشخیص یکی از روش‌های تجزیه آماری چند متغیره است که از آن می‌توان برای آزمون صحت نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای استفاده نمود. برای تأیید درستی محل برش از تابع تشخیص استفاده می‌شود. (Moghaddam et al., 1994). این آزمون توسط



شکل ۶. نمودار دو بعدی وضعیت مراکز تنوع و موقعیت اکوتیپ‌های زعفران نسبت به آنها بر اساس توابع اول و دوم تشخیص در شرایط تنش سرما

Fig. 6. Two dimensional diagram of center of diversity of saffron ecotypes based on the first and second functions affected as cold stress condition

بین اکوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد. در نتایج تجزیه به عامل‌ها سه مؤلفه تحت شرایط بدون تنش و چهار مؤلفه تحت شرایط تنش بیشترین درصد تغییرات صفات را توجیه نمودند و نشان می‌دهد تحت شرایط سرما تنوع صفات زعفران بیشتر شده و اکوتیپ‌ها عکس‌العمل‌های متفاوتی در مقابل این تنش محیطی از خود بروز می‌دهند و این تنوع به حفظ حیات آنها تأثیر گذار است. در تجزیه کلاستر صفات تحت شرایط تنش مشخص شد که طول ساقه، متوسط سطح برگ، وزن خشک برگ، متوسط طول ریشه، وزن تر ریشه و درصد کلروفیل برگ در کلاستر اول قرار گرفته‌اند. این مطلب حاکی از آن است که در شرایط سرما بنه‌های بزرگتر با

همچنین با توجه به نمودار دو بعدی ملاحظه می‌شود که اولاً پراکنش اکوتیپ‌ها در اطراف مراکز تنوع، دارای پراکنش نسبتاً مناسبی بوده و با توجه به فاصله هر مرکز تنوع از مراکز بعدی، نسبت به تابع اول قابل ملاحظه است. یعنی در یک گستره -10 تا $+10$ در حالی که نسبت به تابع دوم این پراکنش اکثراً در اطراف نقطه صفر متمرکز است و نشان می‌دهد تابع اول به خوبی توانسته تنوع اکوتیپ‌ها را توجیه نماید (شکل ۶).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی معنی دار شدن اکثر صفات در شرایط تنش و بدون تنش حاکی از وجود تنوع ژنتیکی قابل توجه

فردوس (چهار و پنج) در کلاستر اول، اکوتیپ‌های کاشمر و گناباد (یک و سه) در کلاستر دوم و اکوتیپ بومی قائن نیز در سومین کلاستر قرار گرفتند، که نشان داد تحت شرایط تنش سرما دو اکوتیپ فردوس و تربت‌حیدریه تقریباً مشابه یکدیگر عمل نموده و در عین حال، اکوتیپ‌های کاشمر و گناباد نیز تقریباً شرایطی مشابه هم داشتند. اکوتیپ قائن با توجه به شرایط و خصوصیتی که دارد در گروه جداگانه‌ای واقع شده است. با توجه به شکل ۶ از آنجا که اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه و فردوس در مقادیر مثبت از تابع اول واقع شده‌اند چنین استنتاج می‌گردد که بیشترین انحراف از میانگین جامعه را از نظر عملکرد بیولوژیک و تولید ماده خشک تحت شرایط سرما را داشته باشند و برای کاشت در مناطق سرد سیر و توسعه کشت گیاه زعفران در نقاط مختلف کشور مناسب باشند.

داشتن تعداد و حجم بیشتر برگ، سرما را بهتر تحمل کرده و این صفات رابطه بیشتری با هم دارند. در تجزیه کلاستر اکوتیپ‌های مورد مطالعه تحت شرایط بدون تنش مشخص شد که اکوتیپ‌های قائن، گناباد، کاشمر و فردوس (۲، ۳، ۱، ۵) در کلاستر اول و اکوتیپ تربت‌حیدریه (۴) در کلاستر دوم قرار گرفتند، که نشان داد در شرایط بدون تنش چهار اکوتیپ قائن، گناباد، کاشمر و فردوس تقریباً مشابه یکدیگر عمل نموده و در عین حال، اکوتیپ تربت‌حیدریه با توجه به شرایط و خصوصیتی که دارد در گروه جداگانه‌ای واقع شده است. چنین استنتاج می‌شود که در دمای ایده‌آل، اکوتیپ تربت‌حیدریه از نظر فیزیولوژیکی نسبت به بقیه اکوتیپ‌ها متفاوت بوده و عملکرد بهتری دارد. همچنین در تجزیه کلاستر اکوتیپ‌های مورد مطالعه تحت شرایط تنش مشخص شد که اکوتیپ‌های تربت‌حیدریه و

منابع

- Alavi-Kia, S.S., Mohammadi, S.A., Aharizad S., and Moghaddam, M., 2008. Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships in *Crocus* genus of Iran using inter retrotransposon amplified polymorphism. *Biotech & Biotechnologic Equip.* 22(3), 795-800.
- Bayat, M., Amirniya, R., Tajbakhsh, M., Tanyolac, B. 2016. Study of genetic diversity and some of quality and agronomic traits in saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Saffron Agron. & Technol.* 4(3), 185-200. [in Persian with English Summary].
- Kafii, M., Rashed-Mohasel, M., Kouchaki, A., and Mollafilabi, A., 2001. *Saffron, Production Technology and Processing. First Print. Zaban va Adab Publication, Iran.* 280 pp. [in Persian].
- Keify, F., and Beiki, A., 2012. Exploitation of random amplified polymorphic DNA (RAPD) and sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers for genetic diversity of saffron collection. *J. Medic Plants Res.* 6(14), 2761-2768.
- Khonsarinejad, B., Hassandokht, M.R., Nazeri, V., and Sourni, A., 2015. The evaluation of genetic diversity on some (edible) desirable native saffron species using morphological and molecular marker of ISSR. *Iran. J. Hort. Sci.* 46(1), 51-61. [in Persian with English Summary].
- Mollafilabi, A., 2004. Experimental finding of production and echo physiological aspects of saffron (*Crocus sativus* L.). *Acta Hort. (ISHS).* 650, 195-200.
- Balocchi, L.O., Caballero, J.V., and Smith, R.R., 2001. Characterization and agronomic variability of 125 ecotypes of *Bromus valdivianus* phil., collected from Valdivia province. *Agro. Sur. J.* 29, 64-77.
- Hailu, F., Merker, A., Harjit, S., Belay, G., and Johansson, E., 2006. Multivariate analysis of diversity of tetraploid wheat germplasm from Ethiopia. *Genetic Resour Corp Environ.* 53, 1089-1098.
- Jaynes, D.B., Kaspar, T.C., Colvin, T.S., and James, D.E., 2003. Cluster analysis of spatiotemporal

- corn yield patterns in an Iowa field. *Agron. J.* 95, 574-586.
- Moghaddam, M., Mohammadi-Shoti, A., and Aghaei-Sarbarzeh, M., 1994. *Introduction to Multivariate Statistical Methods*. Science Vanguard Publishers, Tabriz, Iran, 208 pp. [in Persian].
- Mohammadi, S.A., and Prasanna, B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants: Salient statistical tools and considerations. *Crop Sci.* 43, 123-1248.
- Mohamadi, M., Mirfakhrai, R.G., and Abbasi, A.R., 2013. Study of genetic diversity of spring cold stress in Iranian bread wheat cultivars by using multivariate statistical methods. *Electron. J. Crop Prod.* 6(2), 149-166. [in Persian with English Summary].
- Moreda, A.P., Fisher, A., and Hill, S.J., 2003. The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. *J. Food Compos Anal.* 16, 195-211.
- Naghdi pour, A., Khoda Rahmi, M., Pour Shahbazi, A., and Esmaeil Zadeh, M. 2011. Factor analysis for grain yield and other traits in durum wheat. *J. Agron. Plant breed.* 7(1) 84-96.
- Rashidi, V., Effat-Doust, N., Biroun-Ara, A., Babazadeh, A., and Moghaddasi, L., 2010. Evaluation of durum wheat lines for tolerant to first cold season through early cultivation. *J. Echophysiol. Crop Plants (Agric Sci.)*. 4(14), 53-64. [in Persian with English Summary].
- Romesburg, C., 2004. *Cluster Analysis for Researchers*, www.Lulu.com, 340 pp.
- Shafiee Khorshidi, M., Bihamta, M.R., Khialparast, F., and Naghavi, M.R., 2012. Assessment of genetic variation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes under drought condition using cluster and Canonical Discriminant Analysis (CDA). *J. Crop Plant Breed.* 4(10), 1-17. [in Persian with English Summary].
- Shokrpour, M., Abedi, Z., Kalantari, S., and Salami, S.A., 2017. Study of genetic variation in some Iranian saffron accessions using molecular markers of RAPD and ISSR. *J. Saffron Agron. & Technol.* 4(4), 257-256. [in Persian with English Summary].
- Tryon, R.C., 1939. *Cluster Analysis: Correlation Profile and Orthometric (Factor) Analysis for the Isolation of Unities in Mind and Personality*. Edwards Brothers, Ann. Arbor, Michigan. (<https://www.scirp.org>).
- www.slideshare.net.
- Negbi, M., 1999. *Saffron. (Crocus sativus L.)* Harwood Academic Publishers, Overseas Publishers Association, Amsterdam. 149 pp.

Original Article:

The Investigation of Genetic Diversity of Saffron (*Crocus sativus* L.) Ecotypes Traits under Chilling Stress

Fatemeh Amiriyani¹, Ali Mostafaie², Seyyed Mohammad Ali Kargar^{*3}

1- The Former Scholar of Engineering of Agriculture (Plant Breeding), Faculty of Agriculture, Branch of Kermanshah, Islamic Azad university, Kermanshah, Iran.

2- Professor of Department of Immunology, Faculty of Drug Producing, University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

3- Assistant of Professor, Department of Plant Breeding, Faculty of agriculture, Branch of Kermanshah, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

* Corresponding author Email: Sma.Kargar@Iauksh.ac.ir

Received 11 February 2019; Accepted 08 April 2020

Abstract

In order to study the effects of chilling stress on saffron ecotypes traits, a completely randomized design as pot experiment with four replicates on five ecotypes (including Torbat Heydariyeh, Ferdows, Gonabad, Ghaen, and Kashmar) was performed. Two temperatures (25° C (as non-stress conditions) and 5° C (as stress conditions) were applied to the ecotypes in the growth chamber (germinator) and twelve morphological traits were measured. The results of analysis of variance showed that there was a significant difference in the most studied traits at 1% probability level. The factor analysis based on PCA showed that three components totally explained 84.6% of the studied traits under non-stress conditions and four components totally explained 86.12% of the studied traits under stress conditions. Cluster analysis under non-stress conditions revealed that Ghaen, Gonabad, Kashmar and Ferdows ecotypes were in the first cluster and Torbat Heydariyeh ecotype in the second cluster. Based on cluster analysis results under stress conditions, Torbat Heydariyeh and Ferdows ecotypes were in the first cluster, the Kashmar and Gonabad ecotypes were in the second cluster, and the Ghaen ecotype was in the third cluster. The discriminant analysis showed a function with Eigenvalue (61.51%) explained 100% of ecotypes variation under non-stress condition while two functions explained 100% of ecotypes variation under stress condition, with only the first function had a specific eigenvalue greater than 1. According to the group membership prediction table, the ecotypes in each of the three groups of dendrogram cuts were correctly divided by 100% probability. It can be concluded that the ecotypes of Torbat-e-Heydariyeh and Ferdows which grouped in one cluster and had the highest biologic yield under chilling conditions can be recommended for cultivation in cold regions.

Keywords: Experimental stress, Analysis of cluster, Discriminant function.