

شناسایی صفات قابل اعتماد برای غربالگری ژنوتیپ های گوجه فرنگی در شرایط تنش شوری

Identifying reliable traits for screening tomato genotypes under salt stress conditions

داود کیانی^{۱*}، مختار زلفی باوریانی^۲، مهرداد نوروزی^۲
Davood Kiani^{*1}, Mokhtar Zolfi Bavariani², Mehrdad Nowroozi²

۱- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.
۲- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران.

1. Assistance prof., Agronomy and Horticulture Crops Research, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Bushehr, Iran.
2. Assistant Professor, Soil and Water Research Department, Bushehr Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Bushehr, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Email :Corresponding Author

d.kiani1986@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۲۰)

چکیده

واژه‌های کلیدی

شوری یک تنش غیر زیستی مهم است و گیاهان بر اساس ساختار ژنتیکی خود واکنش‌های مختلفی را در مواجهه با این تنش نشان می‌دهند. با ایجاد تغییرات در ساختار ژنتیکی و فعالیت‌های به نژادی گیاهان، امکان دست‌یابی به ژنوتیپ متحمل به شوری وجود دارد. گوجه‌فرنگی در دسته گیاهان حساس به شوری قرار دارد. شناسایی یک شاخص قابل اعتماد در مراحل اولیه رشد گیاهان تحت تنش شوری برای ارزیابی تعداد زیاد نمونه در پروژه‌های به‌نژادی ضروری است. بر این اساس در پژوهش حاضر تعداد ۱۰ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) تحت تنش شوری در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس بین ژنوتیپ‌های مختلف برای شاخص تحمل تنش در صفات وزن خشک ریشه، وزن تر ریشه، وزن خشک برگ، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک کل و وزن تر کل اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. برپایه آنالیز تجزیه خوشه‌ای و GGEbiplot ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مختلف در چهار گروه طبقه‌بندی شدند. بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون چندگانه شاخص تحمل تنش وزن خشک کل و وزن تر کل به‌عنوان شاخص مناسبی برای ارزیابی تحمل به تنش شوری در ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی تشخیص داده شدند و به نظر می‌رسد این شاخص‌ها می‌تواند برای غربالگری ژرم‌پلاسماهای گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری در پروژه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرد.

تجزیه رگرسیون،
تجزیه خوشه‌ای،
شاخص تحمل تنش،
وزن خشک.

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 11, Number 2, 2023

Abstract

Salinity is considered as complex stress and plants show different reactions to this stress based on their genetic structure. Therefore, it is possible to achieve the salinity-tolerant genotype in plants through creating changes in the genetic structure and breeding activities. Tomato is in the group of plants sensitive to salinity stress. Distinct studies have been explained different indicators for tolerance to salt stress in tomato. Identifying a reliable indicator in the early stages of plant growth under salt stress is necessary to evaluate a large number of samples in plant breeding projects. Based on this, in the current project, 10 tomato genotypes were evaluated under salt stress in the form of a randomized complete block design with three replications. The results of variance analysis showed a statistically significant difference between genotypes for the stress tolerance index in the traits of root dry weight (RDW), root fresh weight (RFW), leaf dry weight (LDW), leaf fresh weight (LFW), stem fresh weight (SFW), total dry weight (TDW) and total fresh weight (TFW). The results of cluster analysis and GGEbiplot analysis classified the genotypes into four groups. Based on the results of multiple regression analysis, the index of stress tolerance with total dry weight (STI-TDW) and total fresh weight (STI-TFW) was recognized as a suitable index for evaluating tolerance to salt stress in tomato genotypes. It seems that these index can be used for the screening of tomato germplasms under salt stress for plant breeding projects.

Keywords: Cluster analysis, dry weight, Regression analysis, stress tolerance index.

مقدمه

ژنوتیپ های متحمل به شوری در گیاهان وجود دارد، به طوری که حتی در زمین هایی با آبیاری شور نیز می توان تولید بهتری داشت (Hamid et al. 2008). با تکنیک های غربالگری موثر امکان ایجاد ژنوتیپ های متحمل به شوری با بهره وری مناسب وجود دارد. از شاخص های فیزیولوژیکی به عنوان ابزار غربالگری برای شناسایی گونه های گیاهی متحمل به شوری در بسیاری از محصولات استفاده شده است (Ashraf et al. 2012). شوری از چندین جنبه مکانیسم فتوسنتز گیاهان را مختل می کند و اثر آن از گونه ای به گونه دیگر متفاوت است. تنش شوری به دلیل تنش اسمزی و سمیت یونی باعث کاهش زیست توده و بهره وری کلی گیاه می شود و سطح متابولیت های سلولی را تغییر می دهد (Wu et al. 2019). گیاهان به منظور زنده ماندن در خاک با غلظت نمک بالا، مکانیسم های مختلف فیزیولوژیکی، مولکولی و بیوشیمیایی را توسعه می دهند (Zhang et al. 2012). توانایی گیاه برای زنده ماندن و تکمیل چرخه زندگی خود در شرایط شور بستگی به میزان تحمل نمک دارد که در میان گونه ها و مراحل مختلف رشد متفاوت است (Zeng et al. 2002; Akbari et al. 2007).

بهره وری محصولات به طور قابل توجهی توسط تغییرات محیطی محدود شده است (Zhu. 2016). شوری یک تنش مهم در زمین های کشاورزی است که باعث کاهش بهره وری محصولات در سراسر جهان می شود (Kumar et al. 2010; Tavakoli et al. 2011) و این در حالی است که ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی در سراسر دنیا، با تنش شوری مواجه هستند (Jamil et al. 2007). گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) از سبزیجات فصل گرم بوده و اهمیت آن بدلیل وجود انواع ویتامین ها و املاح معدنی است (Rick. 1978). همچنین گوجه فرنگی گیاهی مدل برای تحقیقات ژنتیکی و مطالعه عملکرد ژن ها است (Zhang et al. 2020) که در دسته گیاهان حساس به شوری قرار دارد و تنش شوری با ایجاد اختلال در متابولیسم باعث کاهش عملکرد این گیاه می گردد (Bologa et al. 2015; Foolad. 2004). گونه های گیاهی با توجه به ترکیب ژنتیکی و سطوح شوری در خاک، در تحمل به شوری متفاوت هستند. گیاهان واکنش های متنوع فیزیولوژیکی تحت تنش شوری نشان می دهند و این امر منجر به کاهش رشد و بهره وری گیاهان می شود. بر همین اساس نیاز مبرم به شناسایی

رشدی گیاه به تنش شوری در اکثر گونه های گیاهی مراحل اولیه رشد می باشد و بیشتر پژوهش ها در ارتباط با تنش شوری در همین مرحله اجرا شده است (Wu et al. 2019). ارقام گوجه فرنگی در مرحله جوانه زنی بذر و مراحل اولیه رشد گیاهچه بیشترین حساسیت را نسبت به شوری دارند (Foolad. 2004). در بسیاری از گونه های گیاهی تحمل تنش شوری در مراحل مختلف نمودی متفاوت است و تحمل در یک مرحله نمودی ارتباطی با دیگر مراحل رشد و نمو ندارد.

در گوجه فرنگی غربالگری ها و آنالیزهای فیزیولوژی در مراحل اولیه رشد گیاه انجام شده است (Alian et al. 2000; Dombrowski. 2003; Lopez-Delacalle et al. 2020; Jia et al. 2020). پژوهش های زیادی در گونه های گیاهی مختلف کاهش وزن تر و خشک اندام های هوایی و ریشه را در نتیجه افزایش غلظت کلرید سدیم گزارش کردند (Wu et al. 2019; Abbas et al. 2007; Jamil et al. 2013). از این رو شناسایی تنوع موجود در میان ژنوتیپ های گوجه فرنگی برای تحمل تنش شوری و استفاده از این تنوع در برنامه های به نژادی گوجه فرنگی ضروری به نظر می رسد. تحمل تنش شوری یک صفت پیچیده است و با فاکتورهای محیطی، فیزیولوژیکی و مولکولی ارتباط دارد. روش های غربالگری زیادی برای تحمل شوری توسعه یافته اند، از این رو صفات های متفاوتی مانند درصد جوانه زنی، طول ریشه و ساقه، وزن تر ریشه و اندام هوایی، میزان سدیم، نسبت سدیم به پتاسیم و غیره برای تحمل تنش شوری معرفی شده است، اما تاثیر شوری بر این صفات در گونه های گیاهی مختلف متفاوت است (Wu et al. 2019). در گزارشی تفاوت حضور یون سدیم در برگ های جوان و پیر و افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی از علل تحمل شوری معرفی شدند (Maggio et al. 2006). همبستگی میان غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی، نسبت کلسیم به سدیم، وزن خشک ریشه و اندام هوایی به عنوان عامل طبقه بندی ژنوتیپ ها گوجه فرنگی برای تحمل تنش شوری بیان شده است (Dasgan et al. 2002). نتایج متفاوتی برای تحمل تنش شوری در گوجه فرنگی گزارش شده است و از این رو معرفی یک شاخص برای تحمل تنش که جنبه های مختلف فنوتیپی و فیزیولوژی گیاه را شامل شود ضروری به نظر می رسد. تاکنون شاخص های مختلف براساس روابط ریاضی

برای شرح دادن رفتار یک ژنوتیپ خاص تحت شرایط تنش و غیر تنش مورد استفاده قرار گرفته است (Rosielle and Hamblin. 2002; Fernandez. 1992; Farshadfar and Sutka. 1981). مدل های مبتنی بر رگرسیون خطی چندگانه رایج ترین شکل تحلیل رگرسیون خطی هستند و بیش از سایر روش های پیش بینی در پروژه های کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته اند (Abdipour et al. 2015). از روش رگرسیون در مطالعات زیادی برای ارزیابی ژنوتیپ ها برای تحمل تنش شوری استفاده شده است (Wu et al. 2019). شناسایی یک شاخص قابل اعتماد و موثر برای گونه های گیاهی در مراحل اولیه تنش شوری برای ارزیابی تعداد زیاد نمونه در پروژه هدف پژوهش حاضر تعدادی از ژنوتیپ های گوجه فرنگی تحت تنش شوری شناسایی یک شاخص قابل اعتماد و موثر برای بررسی تحمل به تنش شوری در گوجه فرنگی در مرحله گیاهچه ای بود.

مواد و روش ها

مواد گیاهی و اعمال تنش شوری: در این مطالعه تعداد ۱۰ ژنوتیپ گوجه فرنگی (جدول ۱)، از بانک ژن موسسه تحقیقات ژنتیک گیاهی The Leibniz Institute of Plant Genetics (IPK) and Crop Plant Research در کشور آلمان تهیه و استفاده شد. این آزمایش به صورت گلدانی اجرا شد. بذر هر ژنوتیپ به طور مستقیم در گلدان هایی با حجم ۸ لیتر مورد کشت قرار گرفت و با توجه با آستانه تحمل تنش شوری در گیاه گوجه فرنگی (1 dsm^{-1}) (Foolad. 2004; Maggio et al. 2006) ۲/۵ شامل سطح اول پایین تر از سطح آستانه تحمل (1 dsm^{-1}) به عنوان شاهد و سطح شوری دوم بالاتر از آستانه تحمل (6 dsm^{-1}) با استفاده از کلرید سدیم در نظر گرفته شد. در تیمار شوری به دلیل وجود زهکشی گلدان ها تمام مراحل آبیاری با آب شور انجام شد و هدایت الکتریکی خروجی و ورودی اندازه گیری شد تا سطح تنش در تمام گلدان و در مراحل رشد ثابت باشد. این آزمایش بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد.

Table 1. Genotypes studied

جدول ۱- ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

G5	G4	G3	G2	G1	Genotype
LYC 3715	LYC 3721	LYC 3655	LYC 3719	LYC 3652	Genotype code
G10	G9	G8	G7	G6	Genotype
LYC 3753	LYC 3729	LYC 3653	LYC 3718	LYC 3720	Genotype code

نتایج و بحث

اندازه گیری شاخص‌های فیزیولوژیک

صفات فیزیولوژیک شامل وزن خشک ریشه (Root Dry Weight (RDW)، وزن تر ریشه (Root Fresh Weight (RFW)، وزن خشک برگ (Leaf Dry Weight (LDW)، وزن تر برگ (Leaf Fresh Weight (LFW)، وزن خشک ساقه (Stem Dry Weight (SDW)، وزن تر ساقه (Stem Fresh Weight (SFW)، وزن خشک کل (Total Dry Weight (TDW) و وزن تر کل (Total Fresh Weight (TFW) به عنوان پاسخ رشد اندازه‌گیری شد و بر اساس این صفات شاخص تحمل تنش شوری (Salt Tolerance Index (STI) برای این صفات محاسبه (معادله ۱) گردید.

$$\text{معادله ۱: } STI = \frac{\text{ارزش صفت در محیط تنش}}{\text{ارزش صفت در محیط بدون تنش}}$$

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین
بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بین ژنوتیپ‌های مختلف مورد مطالعه برای شاخص تحمل تنش شوری در صفات وزن خشک ریشه، وزن تر ریشه، وزن خشک برگ، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک کل و وزن تر کل در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت، اما برای شاخص تحمل وزن خشک ساقه، بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده نگردید (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نشان داد تنوع بین ژنوتیپ‌های مختلف گوجه‌فرنگی برای شاخص تحمل تنش شوری وجود دارد.

بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین بیشترین و کمترین ارزش شاخص تحمل تنش شوری در صفت وزن خشک ریشه به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های G۲ (۰/۹۹) و G۷ و G۹ (۰/۴۴) بود. همچنین بیشترین ارزش برای شاخص تحمل تنش در صفت وزن تر ریشه مربوط به ژنوتیپ G۱ به ارزش ۱/۴۱ بود. در مقابل کمترین ارزش شاخص تحمل تنش در صفت وزن تر ریشه مربوط به ژنوتیپ G۴ به میزان ۰/۰۵ بود. نتایج مربوط به مقایسه میانگین برای صفت شاخص تحمل تنش شوری برای وزن خشک و وزن تر برگ نشان داد که ژنوتیپ G۵ به ترتیب با ارزش‌های ۲/۳۲ و ۱/۳۱ بیشترین ارزش را نشان داد. در مقابل ژنوتیپ G۹ کمترین ارزش‌ها را در صفات شاخص تنش وزن خشک برگ (۰/۴۱) و شاخص وزن خشک ساقه (۰/۳۸) را نشان داد. ژنوتیپ G۱۰ برای شاخص تحمل در صفت وزن خشک ساقه با ارزش ۱/۰۲ و ژنوتیپ G۵ برای شاخص تحمل در صفت وزن تر ساقه با ارزش ۰/۸۷ بیشترین ارزش را نشان دادند. ژنوتیپ G۹ برای شاخص

تجزیه‌های آماری: تجزیه واریانس داده‌ها در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و مقایسه میانگین بر اساس روش حداقل اختلاف معنی‌دار (Least Significant Difference (LSD) انجام شد. آنالیز رگرسیون چندگانه بر روی میانگین شاخص تحمل تنش صفات به عنوان متغیر وابسته و ارزش‌های STI به عنوان متغیر مستقل انجام شد. تجزیه همبستگی پیرسون برای ارزش STI صفات انجام شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شد. تجزیه کلاستر با استفاده از ماتریس فاصله اقلیدوسی و روش کلاستربندی Ward's با استفاده از نرم افزار SPSS 18.0 صورت گرفت. برای تجزیه به مولفه‌های اصلی و نمایش دو بعدی و گرافیکی ژنوتیپ در صفات نیز از نرم افزار GGEbiplot استفاده گردید. آنالیز رگرسیون بین ارزش میانگین شاخص تحمل صفات و شاخص تحمل در هر صفت نیز با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد.

ترین رتبه تحمل تنش شوری را نشان دادند (جدول ۳). همچنین بر اساس میانگین رتبه‌ها در شاخص‌های مختلف ژنوتیپ G۵ با میانگین رتبه ۲/۷۵ بالاترین رتبه تحمل تنش و ژنوتیپ G۹ با میانگین رتبه ۸/۲۵ پایین رتبه تحمل به تنش را نشان داد (جدول ۴). گیاهان برای تحمل تنش شوری مکانیسم‌های تحمل مختلف را توسعه داده‌اند و تنوع برای تحمل تنش شوری و مکانیسم‌های مورد استفاده برای تحمل در ژنوتیپ‌های مختلف در یک گونه گیاهی وجود دارد (Ashraf and Wu, 1994). تنش شوری به دلیل تنش اسمزی و سمیت یونی باعث کاهش زیست توده و بهره‌وری کلی گیاه می‌شود (Marium et al. 2019).

تحمل در صفت وزن خشک و تر ساقه به ترتیب با ارزش ۰/۴۴ و ۰/۲۶ کمترین ارزش را در میان ژنوتیپ‌ها نشان داد. بر پایه نتایج حاصل از مقایسه میانگین ژنوتیپ G۵ دارای بیشترین میزان شاخص تحمل تنش شوری در صفت وزن خشک کل و وزن تر کل به ترتیب به ارزش ۱/۴۱ و ۰/۹۴ بود و همچنین ژنوتیپ G۹ کمترین میزان شاخص تحمل به تنش شوری در صفت وزن خشک کل و وزن تر کل به ترتیب به ارزش ۰/۴۳ و ۰/۳۲ را نشان داد. بر اساس میانگین شاخص تحمل تنش شوری برای همه صفات ژنوتیپ G۵ و G۱۰ به ترتیب با رتبه ۱ و ۲ بالاترین رتبه تحمل تنش و ژنوتیپ‌های G۹ و G۴ به ترتیب با رتبه‌های ۱۰ و ۹ پایین-

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) شاخص تحمل تنش شوری برای صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های گوجه فرنگی

Table 2. Analysis of variance (MS) of stress tolerance index for measured traits in tomato genotypes

Source of variation				
C.V (%)	Error	Genotype	Replication	df
-	18	9	2	
18.72	0.017	0.117**	0.027 ns	STI-RDW
19.95	0.011	0.524**	0.014 ns	STI-RFW
20.46	0.041	0.897**	0.015 ns	STI-LDW
18.01	0.025	0.234**	0.024 ns	STI-LFW
19.1	0.059	0.092 ns	0.018 ns	STI-SDW
16.53	0.018	0.115**	0.001ns	STI-SFW
16.67	0.02	0.236**	0.014 ns	STI-TDW
16.82	0.009	0.104**	0.005 ns	STI-TFW

ns, * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

ns, * and **: Non-significant and significant at the %5 and %1 probability level, respectively.

جدول ۳- مقایسه میانگین شاخص تحمل تنش شوری برای صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های گوجه فرنگی

Table 3. Mean comparison of stress tolerance index for measured traits in tomato genotypes

Ranking based on mean of indicators	mean of indicators	STI-TFW	STI-TDW	STI-SFW	STI-SDW	STI-LFW	STI-LDW	STI-RFW	STI-RDW	Genotype
3	0.84	0.66	0.87	0.29	0.84	0.81	0.85	1.41	0.97	G1
4	0.76	0.59	0.86	0.47	0.81	0.58	0.86	0.89	0.99	G2
5	0.70	0.62	0.84	0.57	0.94	0.74	0.8	0.36	0.75	G3
9	0.48	0.39	0.61	0.52	0.64	0.43	0.61	0.05	0.61	G4
1	1.1	0.94	1.41	0.87	0.88	1.21	2.32	0.54	0.69	G5
7	0.57	0.51	0.69	0.61	0.72	0.62	0.73	0.1	0.54	G6
8	0.55	0.32	0.74	0.24	1	0.53	0.88	0.25	0.44	G7
6	0.68	0.64	0.78	0.66	0.74	0.68	0.86	0.48	0.64	G8
10	0.38	0.32	0.43	0.26	0.44	0.38	0.41	0.32	0.44	G9
2	0.87	0.61	1.2	0.50	1.02	1.16	1.53	0.12	0.84	G10
		0.16	0.24	0.23	0.42	0.27	0.35	0.18	0.22	LSD 5%

جدول ۴- رتبه‌بندی شاخص تحمل تنش شوری برای صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های گوجه فرنگی

Table 4. Ranking stress tolerance index for traits measured in tomato genotypes

Ranking based on mean of indicators	mean of indicators	STI-TFW	STI-TDW	STI-SFW	STI-SD W	STI-LFW	STI-LD W	STI-RFW	STI-RD W	Genotype
3	3.75	2	3	8	5	3	6	1	2	G1
5	4.62	6	4	7	6	7	4	2	1	G2
4	4.5	4	5	4	3	4	7	5	4	G3
9	8.2	8	9	5	9	9	9	10	7	G4
1	2.12	1	1	1	4	1	1	3	5	G5
8	7.12	7	8	3	8	6	8	9	8	G6
7	7.12	10	7	10	2	8	3	7	10	G7
6	4.75	3	6	2	7	5	5	4	6	G8
10	9.12	9	10	9	10	10	10	6	9	G9
2	3.62	5	2	6	1	2	2	8	3	G10

هوایی و افزایش وزن خشک ریشه نشان داده شد و بیان کردند این رخداد ممکن است به دلیل انتقال مجدد مواد فتوسنتزی به ریشه باشد (Maggio *et al.* 2006). در پژوهش‌های دیگری تغییرات وزن ریشه در مقابل اندام هوایی تحت تنش گزارش شده است (Moya *et al.* 1999; Dalton *et al.* 2000). از این رو به نظر می‌رسد، ژنوتیپ‌هایی با وزن تر برگ بیشتر تحت تنش شوری قابلیت تحمل بیشتر تنش را خواهند داشت.

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه خوشه‌ای به منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گوجه فرنگی بر اساس کلیه صفات مورد مطالعه انجام شد. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان داد که ۱۰ ژنوتیپ گوجه‌فرنگی مورد مطالعه به چهار گروه مجزا از هم تفکیک شدند (شکل ۱). در گروه اول حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ G۵ و G۱۰ (گروه متحمل)، در گروه دوم ژنوتیپ G۱ و G۲ (گروه نیمه متحمل)، در گروه سوم ژنوتیپ G۹ (گروه حساس) و در گروه چهارم سایر ژنوتیپ‌ها (گروه نیمه حساس) قرار گرفتند. بر اساس مقادیر استاندارد شده شاخص‌های تحمل تنش (شکل ۲) گروه یک و گروه دو (متحمل و نیمه متحمل) برای شاخص تحمل تنش وزن خشک کل مقادیر مثبت را نشان دادند و گروه سه و چهار (حساس و نیمه حساس) برای شاخص تحمل تنش وزن خشک کل مقادیر منفی را نشان دادند (شکل ۲). بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای (شکل ۱) و مقادیر عدد استاندارد شده (شکل ۲) برای ژنوتیپ‌ها به نظر می‌رسد تنوع زیادی بین ژنوتیپ‌ها در پاسخ به تنش شوری وجود دارد. مطالعات قبلی نشان داده است صفات‌های

فاکتورهای متفاوتی مانند غلظت سدیم در ریشه و اندام هوایی، نسبت کلسیم به سدیم، وزن خشک ریشه و اندام هوایی عنوان عامل طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی برای تحمل تنش شوری معرفی شده است (Dasgan *et al.* 2002). نتایج در مطالعه حاضر تنوع میان ژنوتیپ‌ها در واکنش به تنش شوری را نشان داد. در گام‌های بعدی اندازه‌گیری غلظت عناصر در اندام‌های مختلف گیاهان می‌تواند در فهم دلایل این تنوع کمک کند.

تجزیه همبستگی

برای ارزیابی ارتباط میان شاخص تحمل تنش شوری در صفات مختلف تجزیه همبستگی انجام شد و نتایج در جدول ۵ نشان داده شده است. تجزیه همبستگی صفات اندازه‌گیری شده برای ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی همبستگی‌های قوی و معنی‌داری را در برخی صفات نشان داد. بیشترین ضریب همبستگی مثبت و معنی‌دار به ترتیب با ارزش ۰/۹۳۱ و ۰/۹۰۸ بین شاخص تحمل تنش وزن خشک کل با شاخص تحمل تنش وزن خشک برگ و وزن تر برگ مشاهده شد. از سوی دیگر شاخص تحمل وزن تر کل بالاترین ضریب همبستگی مثبت و معنی‌دار را به ارزش ۰/۸۳۷ با شاخص تحمل وزن تر برگ نشان داد. همچنین همبستگی منفی (۰/۱۸۵-) میان شاخص وزن تر ساقه و وزن تر ریشه مشاهده شد. بر اساس نتایج تجزیه همبستگی شاخص تحمل وزن تر برگ بالاترین ضرایب همبستگی را با شاخص تحمل وزن سایر قسمت‌های گیاه و وزن تر و خشک کل گیاه دارد. از این رو به نظر می‌رسد وزن تر برگ تعیین کننده برای شاخص‌های تحمل تنش است. در پژوهشی ارتباط بین کاهش زیست توده اندام

مولفه اول و دوم تجزیه به مولفه‌های اصلی ۸۲/۵ درصد از تغییرات بین ژنوتیپ‌ها را توجیه کردند. ژنوتیپ‌های G۵ برای شاخص تحمل تنش شوری برای صفات وزن خشک برگ، وزن تر برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک کل و وزن تر کل مناسب‌ترین شرایط را داشت. ژنوتیپ G۱ برای شاخص تحمل تنش شوری برای صفات وزن خشک ریشه، وزن تر ریشه شرایط ایده‌آل داشت. ژنوتیپ G۹ برای تمامی شاخص‌ها ضعیف‌ترین وضعیت را نشان داد. بیشترین ضرایب مولفه اول برای شاخص تحمل وزن خشک کل و وزن تر کل و برای مولفه دوم برای شاخص وزن تر ریشه بدست آمد. از این رو این شاخص‌ها نقش مهمی برای توجیه تغییرات بین ژنوتیپ‌ها داشتند.

متفاوتی مانند درصد جوانه‌زنی، طول ریشه و ساقه، وزن تر ریشه و اندام هوایی، میزان سدیم، نسبت سدیم به پتاسیم و غیره برای تحمل تنش شوری در گیاهان مختلف معرفی شده است، اما تاثیر شوری بر این صفات در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت است (Wu *et al.* 2019). بنابراین شناسایی یک شاخص قابل اعتماد برای تحمل تنش شوری در گیاهان برای برنامه‌های به‌نژادی تحمل تنش شوری با تعداد زیاد نمونه‌های گیاهی ضروری به نظر می‌رسد.

آنالیز GGEbiplot

یک نمایش گرافیکی GGEbiplot کمک می‌کند تا مشخص شود چه ژنوتیپی برای چه صفتی شرایط مناسب‌تری داشته است (Ghafari *et al.* 2021). بر اساس آنالیز GGEbiplot (شکل ۳) دو

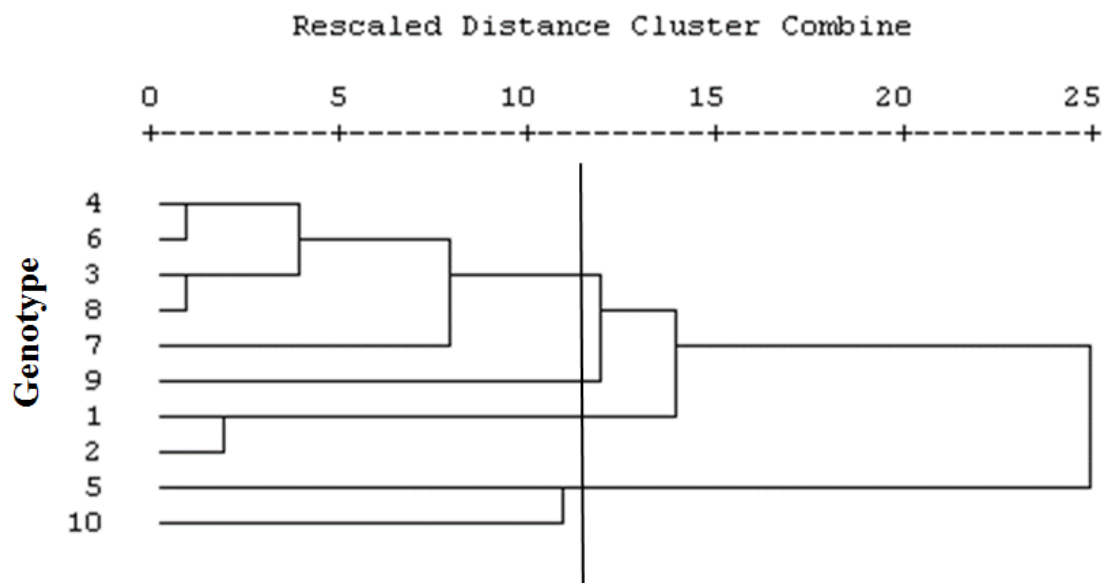
جدول ۵- همبستگی ساده بین شاخص تحمل تنش شوری برای صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی

Table 5. Simple correlation between stress tolerance index for traits measured in tomato genotypes

STI-TFW	STI-TDW	STI-SFW	STI-SDW	STI-LFW	STI-LDW	STI-RFW	STI-RDW	
							1	STI-RDW
							0.616**	STI-RFW
					1	0.04 ns	0.189 ns	STI-LDW
				1	0.853**	0.142**	0.364*	STI-LFW
			1	0.542**	0.437**	0.058 ns	0.346 ns	STI-SDW
		1	0.206 ns	0.552**	0.596**	-0.185 ns	0.081 ns	STI-SFW
	1	0.562**	0.663**	0.908**	0.931**	0.161 ns	0.448*	STI-TDW
1	0.812**	0.756**	0.371*	0.837**	0.762**	.380*	0.466**	STI-TFW

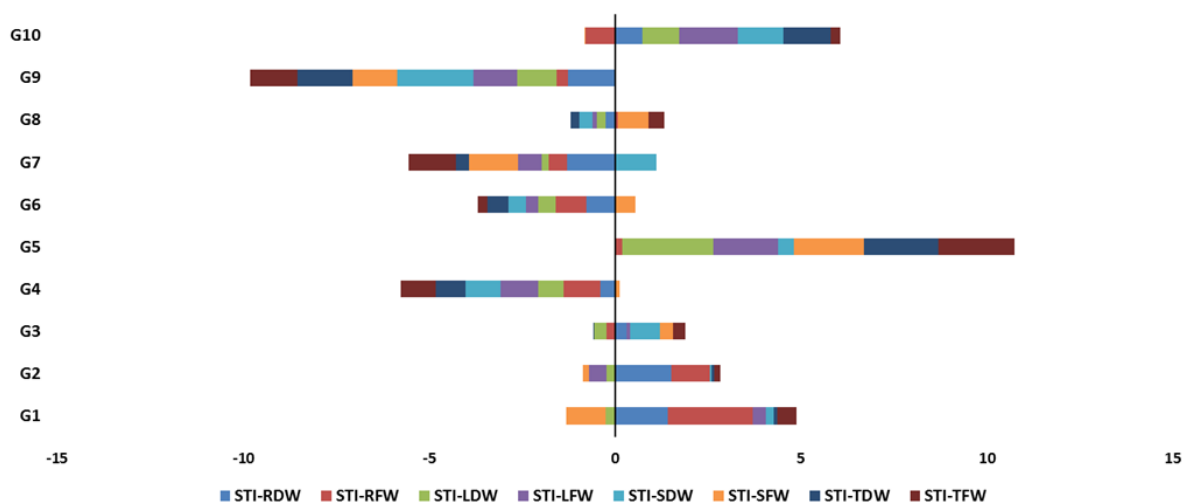
ns, ** و * به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

ns, * and **:Non-significant and significant at the %5 and %1 probability level, respectively.



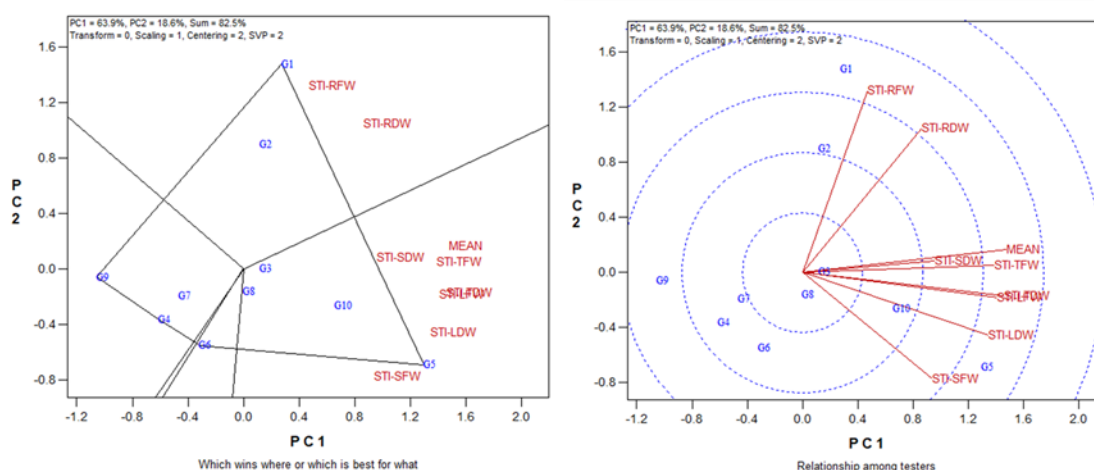
شکل ۱- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر مبنای کلیه صفات مورد مطالعه برای تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی

Figure 1. Dendrogram obtained from cluster analysis based on all studied traits for tolerance of salinity stress in tomato genotypes



شکل ۲- میانگین‌های استاندارد شده صفات مورد بررسی بین گروه‌های مختلف در تجزیه خوشه‌ای

Figure 2. Z-score mean comparison of evaluated traits among different groups of cluster analysis



شکل ۳- تصویر برداری چند ضلعی و نمودار بای پلات شاخص‌های تحمل تنش شوری برای ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی

Figure 3. Polygonal imaging and bi-plot of salinity stress tolerance indices for tomato genotypes

رگرسیون در مطالعات زیادی برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها برای تحمل تنش شوری استفاده شده است (Wu et al. 2019). نتایج تجزیه رگرسیون گام به گام به روش پس رونده نشان داد با ورود متغیرهای شاخص تحمل وزن خشک کل، وزن تر کل و وزن تر ریشه معادله رگرسیونی خطی با ضریب تبیین ۰/۹۹ معنی‌دار شده و قابلیت پیش‌بینی و رتبه بندی ژنوتیپ‌ها را دارد (جدول ۶). برای شناسایی حساس‌ترین عامل در پیش‌بینی با این مدل رگرسیونی متغیرهای به طور جداگانه از مدل خارج شدند. تجزیه و تحلیل حساسیت متغیرها درک روشنی از تاثیر متغیرهای ورودی بر مقادیر پیش‌بینی‌شده فراهم می‌کند (Abdipour et al.

ارزیابی مدل رگرسیون چندگانه و شناسایی عامل موثر در تحمل به تنش شوری

برای شناسایی یک عامل مهم در پیش‌بینی تحمل به تنش شوری در ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی مورد مطالعه از آنالیز رگرسیون چندگانه استفاده شد. مدل‌های مبتنی بر رگرسیون خطی چندگانه رایج‌ترین شکل تحلیل رگرسیون خطی هستند و بیش از سایر روش‌های پیش‌بینی در پروژه‌های کشاورزی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Abdipour et al. 2015). آنالیز رگرسیون چندگانه بر روی میانگین شاخص تحمل تنش صفات به عنوان متغیر وابسته و ارزش‌های STI به عنوان متغیر مستقل انجام شد. از روش

(2015). نتایج نشان داد زمانی که شاخص تحمل وزن خشک کل از مدل خارج شد کمترین میزان ضریب تبیین ۰/۸۷ بدست آمد (جدول ۷). بیشترین ضریب همبستگی مثبت و معنی دار به ترتیب با ارزش ۰/۹۳۱ و ۰/۹۰۸ بین شاخص تحمل تنش وزن خشک کل با شاخص تحمل تنش وزن خشک برگ و وزن تر برگ مشاهده شد (جدول ۵). از این رو به نظر می رسد این شاخص نقش مهمی در رتبه بندی ژنوتیپ های گوجه فرنگی برای تحمل تنش شوری دارد. به منظور طبقه بندی ژنوتیپ های گوجه فرنگی برای تحمل تنش شوری نیاز است تا صفات بسیار زیادی اندازه گیری شود و پیدا کردن ارتباط بین آنها کار سختی است (Dasgan et al. 2002). بر اساس مطالعات (Al-Karaki, 2000; Dasgan et al. 2002) شاخص های متفاوتی برای تحمل به تنش شوری در گوجه فرنگی معرفی شده است. اندازه گیری صفات مختلف در مطالعات به نژادی که تعداد زیادی ژنوتیپ ارزیابی خواهد شد کار وقت گیری است از این رو می توان برای غربالگری ژنوتیپ ها صفت وزن خشک کل و وزن تر کل را اندازه گیری کرد. از همین روش در کلزا برای ارزیابی ژنوتیپ ها تحت تنش شوری استفاده شده است و شاخص وزن تر اندام هوایی برای تحمل تنش شوری

معرفی شد (Wu et al. 2019). از این رو بر اساس این نتایج می توان پیشنهاد داد که ایجاد تغییرات و دستکاری های به نژادی در افزایش شاخص تحمل وزن خشک کل و وزن تر کل امکان دستیابی به ژنوتیپ ایده آل برای ایجاد سازگارترین ژنوتیپ به تنش شوری خواهد شد. نتایج حاصل از مدل پیش بینی عملکرد و تعیین حساسیت صفات در این مدل (جدول ۶ و ۷) و همچنین نتایج تجزیه کلاستر ژنوتیپ ها و GGEbiplot (شکل ۳) و مقایسه میانگین صفات (جدول ۳) می تواند تاییدی بر این توضیحات باشد، به طوری که ژنوتیپ G۵ با بالاترین رتبه تحمل بیشترین ارزش را برای شاخص تحمل وزن خشک کل و وزن تر کل نشان داد و از طرفی ژنوتیپ G۹ با پایین ترین رتبه تحمل کمترین ارزش را برای این شاخص داشت. در گام های بعدی اندازه گیری غلظت عناصر در اندام های مختلف گیاهان، آنالیزهای مولکولی برای شناسایی ژن های تحمل تنش شوری و استفاده از گیاهان با پس زمینه ژنتیکی مشابه مانند گیاهان جهش یافته که تحمل تنش شوری متفاوتی نشان می دهند، ممکن است در فهم دلایل این تنوع کمک کننده باشند.

جدول ۶- آنالیز رگرسیون چندگانه بر روی میانگین شاخص های تحمل به عنوان متغیر وابسته و ارزش های STI به عنوان متغیرهای مستقل

Table 6. Multiple regression analysis on mean of tolerance indices as a dependent variable and STI value as an independent variables

model	or $\mu\beta$	Standard Error	
constant	0.034	0.00	**
TDW-STI	0.544	0.00	**
RFW-STI	0.103	0.00	**
TFW-STI	0.275	0.00	**

**, معنی دار در سطح احتمال ۱ % **: significant at the 1% probability level

جدول ۷- آنالیز حساسیت متغیرهای مدل رگرسیون

Table 7. Sensitivity analysis of the regression model

model	R ²
model with all three variables	0.99
Model excluding STI-TDW	0.87
Model excluding STI-RFW	0.97
Model excluding STI-TFW	0.98

نتیجه‌گیری کلی

در فعالیت‌های به‌نژادی که تعداد زیادی ژنوتیپ ارزیابی خواهد شد، اندازه‌گیری تعداد زیادی صفت کاری وقت‌گیر و پرهزینه است. برای معرفی ارقام جدید برای تحمل تنش‌های محیطی، ژنوتیپ‌های مختلف باید در محیط‌های تنش ارزیابی شوند و صفات برتر و موثر برای دستکاری‌های به‌نژادی معرفی گردد. این بررسی‌ها به متخصصین به‌نژادی اجازه می‌دهد تا ایده بهتری از صفات مهم بدست آورند و در طول آزمایش‌های به‌نژادی مورد پایش قرار دهند. برای این هدف، بررسی و مقایسه تعداد ۱۰ ژنوتیپ گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اختلاف معنی‌دار آماری را بین ژنوتیپ‌های مختلف بر اساس شاخص تحمل تنش شوری (STI) در صفات مورد بررسی نشان داد. این نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی در پاسخ به تحمل به تنش شوری بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. بیشترین ضریب همبستگی مثبت و

معنی‌دار به ترتیب با ارزش ۰/۹۳۱ و ۰/۹۰۸ بین شاخص تحمل تنش وزن خشک کل با شاخص تحمل تنش وزن خشک برگ و وزن تر برگ مشاهده شد. نتایج تجزیه کلاستر و GGEbiplot ژنوتیپ‌ها را به چهار گروه تقسیم کرد. بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون چندگانه شاخص تحمل تنش وزن خشک کل و وزن تر کل به‌عنوان شاخص مناسبی برای ارزیابی تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های گوجه‌فرنگی تشخیص داده شد.

سپاسگزاری

از سازمان جهاد کشاورزی استان بوشهر به خاطر تامین هزینه این پروژه در قالب طرح مصوب ۰۰۰۸۱۰-۰۷۴-۰۳۱۰-۴۰-۳۴ (مصوب شده در سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ایران) سپاسگزاری می‌شود. از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان بوشهر، بدلیل فراهم کردن امکانات پژوهشی این پروژه تشکر می‌شود.

منابع

- Ashraf M. 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences 13(1): 17-42.
- Bologa M, Jitäreanu CD, Slabu C, Mart AE. 2015. Salinity Stress Effects on the Growing Rates of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Bulletin USAMV series Agriculture 72(1): 277-278.
- Dalton FN, Maggio A, Piccinni G. 2000. Simulation of shoot chloride accumulation: separation of physical and biochemical processes governing plant salt tolerance. Plant and Soil 219(1): 1-11.
- Dasgan HY, Aktas H, Abak K, Cakmak I. 2002. Determination of screening techniques to salinity tolerance in tomatoes and investigation of genotype responses. Plant Science 163(4): 695-703.
- Dombrowski JE. 2003. Salt stress activation of wound-related genes in tomato plants. Plant Physiology 132.4: 2098-2107.
- Farshadfar E, Sutka J. 2002. Screening drought tolerance criteria in maize. Acta Agronomica Hungarica, 50(40): 411-416.
- Fernandez GCJ. 1992. Effective selection criteria for assessing stress tolerance. Proceedings of the International Symposium.Taiwan.13-18. Agu. 257-270 pp.
- Abbas MK, Ali AS, Hasan HH, Ghal RH. 2013. Salt tolerance study of six cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) during germination and early seedling growth. Journal of agricultural science 5(1): 250.
- Abdipour M, Ramazani SHR, Younessi-Hmazekhanlu M, Niazian M. 2018. Modeling oil content of sesame (*Sesamum indicum* L.) using artificial neural network and multiple linear regression approaches. Journal of the American Oil Chemists' Society 95(3): 283-297.
- Akbari G, Sanavy SA, Yousefzadeh, S. 2007. Effect of auxin and salt stress (NaCl) on seed germination of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Pakistan journal of biological sciences 10(15): 2557-2561.
- Alian A, Altman A, Heuer B. 2000. Genotypic difference in salinity and water stress tolerance of fresh market tomato cultivars. Plant science 152(1): 59-65.
- Al-Karaki GN. 2000. Growth, water use efficiency, and sodium and potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress. Journal of plant nutrition 23(1): 1-8.
- Ashraf MY, Awan, AR, Khalid M. 2012. Rehabilitation of saline ecosystems through cultivation of salt tolerant plants. Pakistan Journal of Botany 44:69-75.

- Foolad MR. 2004.** Recent advances in genetics of salt tolerance in tomato. *Plant Cell, tissue and organ culture* 76(2): 101-119.
- Ghaffari M, Gholizadeh A, Andarkhor SA, Zareei Siahbidi A, Kalantar Ahmadi SA, Shariati F, Rezaeizad A. 2021.** Stability and genotype× environment analysis of oil yield of sunflower single cross hybrids in diverse environments of Iran. *Euphytica*, 217(10): 1-11.
- Hamid M, Ashraf MY, Arashad M. 2008.** Influence of salicylic acid seed priming on growth and some biochemical attributes in wheat grown under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany* 40(1):361-367.
- Jamil M, Lee KB, Jung KY, Lee DB, Han MS, Rha ES. 2007.** Salt stress inhibits germination and early seedling growth in cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10(6):910-914.
- Jia J, Liang Y, Gou T, Hu Y, Zhu Y, Huo, H, Gong H. 2020.** The expression response of plasma membrane aquaporins to salt stress in tomato plants. *Environmental and Experimental Botany* 178: 104190.
- Kumar V, Shriram V, Kishor PBK, Jawali N, Shitole, MG. 2010.** Enhanced proline accumulation and salt stress tolerance of transgenic indica, rice by over-expressing P5CSF129A, gene. *Plant Biotechnology Report* 4:37-48.
- Lopez-Delacalle M, Silva CJ, Mestre TC, Martinez V, Blanco-Ulate B, Rivero, RM. 2021.** Synchronization of proline, ascorbate and oxidative stress pathways under the combination of salinity and heat in tomato plants. *Environmental and Experimental Botany*, 183: 104351.
- Maggio A, Raimondi G, Martino A, De Pascale S. 2007.** Salt stress response in tomato beyond the salinity tolerance threshold. *Environmental and Experimental Botany* 59(3): 276-282.
- Marium A, Kausar A, Ali Shah SM, Ashraf MY, Akhtar N, Akram M, Riaz M. 2019.** Assessment of cucumber genotypes for salt tolerance based on germination and physiological indices. *Dose-Response*, 17(4): 1559325819889809. doi: 10.1177/1559325819889809.
- Moya JL, Primo-Millo E, Talón, M. 1999.** Morphological factors determining salt tolerance in citrus seedlings: the shoot to root ratio modulates passive root uptake of chloride ions and their accumulation in leaves. *Plant, Cell and Environment*, 22(11): 1425-1433.
- Rick CM. 1978.** The tomato. *Scientific American* 23: 76-87.
- Rosielle AA, Hamblin J. 1981.** Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. *In Crop Science*. 21: 943-946.
- Tavakkoli E, Fatehi F, Coventry S, Rengasamy P, McDonald GK. 2011.** Additive effects of NaCl and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress. *Journal of Experimental Botany* 62: 2189-2203.
- Wu H, Guo J, Wang C, Li K, Zhang X, Yang Z, Maoteng L, Wang B. 2019.** An effective screening method and a reliable screening trait for salt tolerance of *Brassica napus* at the germination stage. *Frontiers in Plant Science* 10: 530.
- Zeng L, Shannon MC, Grieve CM. 2002.** Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by multiple agronomic parameters. *Euphytica* 127(2): 235-245.
- Zhang H, Han B, Wang T, Chen S, Li H, Zhang Y, Dai, S. 2012.** Mechanisms of plant salt response: insights from proteomics. *Journal of proteome research* 11(1): 49-67.
- Zhang X, Bao Z, Gong B, Shi Q. 2020.** S-adenosylmethionine synthetase 1 confers drought and salt tolerance in transgenic tomato. *Environmental and Experimental Botany* 179: 104226.
- Zhu JK. 2016.** Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell* 167: 313-324.