Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 16, Issue 1, 2024 p: 61-73

OPEN ACCESS

Research Paper

The Response of Early-Maturing Grass Pea (*Lathyrus sativus*) Genotypes to Different Levels of Salinity Stress

Somayeh Soofinia[1], Alireza Pourmohammad[2], Aliasghar Aliloo[3] and Khoshnood Alizadeh[4]

1- MSc, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
2- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran, (Corresponding author: pourmohammad@ymail.com)
3- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
4- Professor, Dryland Agricultural Research Institute (DARI), Maragheh, Iran

Received: 2 July, 2023 Accepted: 2 December, 2023

Extended Abstract

Background: *Lathyrus sativus* L. is an annual plant from the legume family, which is used as a very valuable protein source for livestock and poultry, as well as for human nutrition. This genus has several useful agronomic traits, such as high grain yield capacity and high protein content of its grains. Legumes produce an economic yield in different environmental conditions and have a high potential for use in marginal areas with low rainfall, making the plant a popular crop in subsistence agriculture, especially in developing countries. The greatest importance of grass pea is related to the high resistance of this plant to harsh environmental conditions, such as drought, low soil fertility, and resistance to pests and plant diseases, making its production and cultivation economical. Salinity stress is an important abiotic stress that adversely affects plant yield and product quality and is a limiting factor for plant growth. Although salinity stress can occur in all growth stages of the plant, the initial establishment of the plant has a great impact on the final yield. Salinity stress in the seedling stage can be one of the most harmful stages for the plant. To improve salinity tolerance in crops, genetic diversity between and within species can be used through selection and breeding. This experiment aimed to investigate the response of early-maturing grass pea genotypes to different levels of salinity by evaluating some agronomic traits and identifying salinity-tolerant genotypes.

Methods: To evaluate the response of grass pea early-maturing genotypes to salinity stress, 26 genotypes were studied in a factorial experiment based on a randomized complete block design with two replications at the Research Farm of Plant Production and Genetics Department, Faculty of Agriculture, University of Maragheh. The salinity treatments were applied at four levels (0, 40, 80, and 120 mM) of NaCl. Different seedling and agronomic traits, such as shoot fresh weight, shoot dry weight, fruit fresh weight, fruit dry weight, the number of grains, the number of grains per pod, plant height, leaf angle to the stem, leaf length, leaf width, the number of leaves, the number of shoots, location of the first shoot from the soil surface, and root length, were evaluated in the genotypes. During the experiment, the date of flowering, the date of pod formation, the date of pod filling, and the date of grain maturity were recorded for each pot. Before data analysis, the assumptions of data variance analysis were examined with tests of normality and homogeneity of variances. Mean comparisons were made using Duncan's method at the 1% probability level. The genotypes were grouped using cluster analysis by Ward's method and Euclidean distance measure using standardized variables. Principal component analysis (PCA) was used to determine the contribution of each trait to the total variation, reduce the amount of data, and better interpret the relationships.

Results: The difference between genotypes and salinity levels was significant in most seedling traits, and the dry forage yield was decreased with increasing salinity. Genotypes 19, 14, 13, 21, 10, 7, 25, 15, 24, and 12 were the best genotypes in terms of dry forage yield in the seedling stage. In the agronomic traits, differences between genotypes and salinity levels were significant in most traits. In general, the yield trait decreased with increasing salinity. In cluster analysis with Ward's algorithm, the genotypes were divided into three clusters. The first cluster contained the best genotypes (8, 23, 11, 21, 7, 20, 2, 22, 3, 10, and 26) for yield improvement. In PCA, the first four principal components explained 82.08% of the total variation. Based on the results, the first and second components could be identified as biological yield and forage yield components, respectively. Thus, the shoot length,

Copyright ©2024 Soofinia et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

root length, seedling length, and the ratio of shoot length to root length traits were significant for the effect of genotypes, salinity, and the interaction of genotype × salinity at the probability level of 1%. The shoot dry weight, root dry weight, and seedling dry weight traits showed a significant effect of salinity at the probability level of 1%. The ratio of shoot dry weight to root dry weight trait showed no significant difference for all effects. Genotypes 19, 14, 13, 21, 10, 7, 25, 15, 24, and 12 were the best genotypes in terms of dry forage yield in the seedling stage. In field traits, the difference between genotypes and salinity levels was also significant in most of the traits. In cluster analysis by Ward's method, the genotypes were divided into three clusters. The first cluster contained the best genotypes (8, 23, 11, 21, 7, 20, 2, 22, 3, 10, and 26) for yield improvement. In PCA, the first three main components explained 82.08% of the total variation. The first, second, and third components accounted for 38.31%, 25.31%, and 19.74% of the total variation, respectively. Based on the results, the first and second components can be named as the biological yield and forage yield components, respectively.
The difference between genotypes and salinity levels was significant in most seedling traits, and dry forage yield decreased with increasing salinity. Thus, the shoot length, root length, seedling length, and the ratio of shoot length to root length traits were significant for the effect of genotypes, salinity, and the interaction of genotype × salinity at the probability level of 1%. Shoot dry weight, rhizome dry weight, and seedling dry weight traits showed a significant effect of salinity at the probability level of 1%. The ratio of dry weight of shoot to root trait showed no significant difference for all effects. The results of the seedling stage showed that genotypes 2, 6, 10, 13, and 26 (local) had high yields, and genotypes 1, 3, and 5 produced the lowest forage yield. The field results showed a decrease in yield with the increase of salinity levels.
Conclusion: Generally, forage yield decreased with increasing salinity. Genotypes 10, 20, 22, and 23 were the most tolerant genotypes, and genotypes 16, 17, and 18 were identified as the most sensitive genotypes.

Keywords: Cluster Analysis, Forage yield, Principal Components Analysis, Tolerance

How to Cite This Article: Soofinia, S., Pourmohammad, A., Aliloo, A., & Alizadeh, K. (2024). The Response of Early-Maturing Grass Pea (*Lathyrus sativus*) Genotypes to Different Levels of Salinity Stress. *J Crop Breed*, *16*(1), 61-73. DOI:10.61186/jcb.16.49.61

مقاله پژوهشی

پاسخ ژنوتیپ‌های زودرس خلر زراعی (*Lathyrus sativus*) به سطوح مختلف تنش شوری

سمیه صوفی‌نیا[۱]، علیرضا پورمحمد[۲]، علی اصغر علیلو[۳] و خشنود علیزاده[۴]

۱- کارشناس ارشد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
۲- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران، (نویسنده مسوول: pourmohammad@ymail.com)
۳- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
۴- استاد موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، مراغه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۴/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۱۱
صفحه: ۶۱ تا ۷۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: خلر (*Lathyrus sativus* L.) گیاهی یک‌ساله از خانواده بقولات، به‌عنوان یک منبع پروتئین بسیار با ارزش برای دام و طیور و همچنین به‌منظور استفاده در تغذیه‌ی انسان مصرف می‌شود. این جنس دارای چندین ویژگی زراعی مفید مانند ظرفیت عملکرد دانه بالا و محتوای پروتئین بالای دانه آن است. لگوم‌ها در شرایط محیطی مختلف، عملکرد اقتصادی تولید می‌کنند و پتانسیل بالایی برای استفاده در مناطق حاشیه‌ای کم بارش دارند. در واقع، این امر، آن‌را به یک محصول محبوب در کشاورزی معیشتی به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه تبدیل کرده است. بیشترین اهمیت خلر مربوط به مقاومت فوق‌العاده این گیاه نسبت به شرایط سخت محیطی از جمله خشکی، حاصلخیزی کم خاک و مقاومت به آفات و بیماری‌های گیاهی می‌باشد که سبب شده تا تولید و کشت آن از نظر اقتصادی به‌صرفه باشد. تنش شوری از تنش‌های غیرزیستی مهم است که اثرات زیانباری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول دارد و برای رشد گیاه یک عامل محدود کننده است. اگرچه تنش شوری درتمام مراحل رشدی گیاه می‌تواند رخ دهد اما با توجه به اینکه استقرار اولیه گیاه در عملکرد نهایی تاثیر زیادی دارد. تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای می‌تواند برای گیاه یکی از مراحل بسیار مضر باشد. برای بهبود تحمل به شوری در گیاهان زراعی می‌توان از تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای از طریق گزینش و اصلاح استفاده کرد. هدف این آزمایش بررسی واکنش ژنوتیپ‌های زودرس خلر نسبت به سطوح مختلف شوری با ارزیابی برخی ویژگی‌های زراعی و مشخص کردن ژنوتیپ‌های متحمل به شوری بود.

مواد و روش‌ها: به‌منظور بررسی واکنش ۲۶ ژنوتیپ زودرس خلر نسبت به تنش شوری، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار در سال ۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه انجام شد. تیمارهای شوری در چهار سطح (صفر، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار) نمک NaCl اعمال شدند و صفات گیاهچه‌ای و زراعی متعددی نظیر وزن تر شاخساره، وزن خشک شاخساره، وزن تر میوه، وزن خشک میوه، تعداد نیام، تعداد دانه در نیام، ارتفاع گیاه، زاویه برگ نسبت به ساقه، طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ، تعداد شاخه، محل شاخه اولی از سطح خاک، طول ریشه اندازه‌گیری شد. همچنین در طول آزمایش تاریخ گلدهی، تاریخ غلاف‌دهی، تاریخ پر شدن غلاف و تاریخ رسیدن دانه برای هر گلدان نیز یادداشت شد. قبل از تجزیه داده‌ها مفروضات تجزیه واریانس داده‌ها با آزمون‌های نرمالیته و یکنواختی واریانس‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مقایسات میانگین به‌روش دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از تجزیه خوشه‌ای به‌روش وارد و معیار فاصله اقلیدسی با استفاده از داده‌های استاندارد شده انجام شد. به‌منظور تعیین سهم هر صفت در تنوع کل، کاهش حجم داده‌ها و تفسیر بهتر روابط، از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد.

یافته‌ها: اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح شوری در اکثر صفات گیاهچه‌ای معنی‌دار بود و با افزایش میزان شوری صفت عملکرد علوفه خشک کاهش یافت. بدین‌صورت که صفات طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه و نسبت طول ساقه‌چه به طول ریشه‌چه برای اثر ژنوتیپ، شوری و اثر متقابل ژنوتیپ در شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. صفات وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک گیاهچه دارای اثر شوری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بودند و صفت نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه برای هیچکدام از اثرات دارای اختلاف معنی‌داری نبود. ژنوتیپ‌های ۱۹، ۱۴، ۱۳، ۲۱، ۱۰، ۷، ۲۵، ۱۵، ۲۴ و ۱۲ بهترین ژنوتیپ‌ها از لحاظ عملکرد علوفه خشک در مرحله گیاهچه‌ای بودند. در صفات مزرعه‌ای اختلاف بین ژنوتیپ‌ها و سطوح شوری در اکثر صفات نیز معنی‌دار بود. در تجزیه خوشه‌ای به‌روش وارد، ژنوتیپ‌ها به سه خوشه تقسیم‌بندی شدند. خوشه اول با ژنوتیپ‌های ۸، ۲۳، ۱۱، ۲۱، ۷، ۲۰، ۲، ۲۲، ۳، ۱۰ و ۲۶ دارای برترین ژنوتیپ‌ها برای بهبود عملکرد بودند. در تجزیه به مولفه‌های اصلی، سه مؤلفه اصلی اول، ۸۲/۰۸ درصد از تنوع کل را توجیه کردند. بدین‌صورت که مؤلفه اول ۳۸/۳۱ درصد، مؤلفه دوم ۲۵/۳۱ درصد و مولفه سوم ۱۹/۷۴ درصد از تنوع کل را به‌خود اختصاص دادند. بر اساس نتایج به‌دست آمده می‌توان مؤلفه اول را به‌عنوان مؤلفه عملکرد بیولوژیک و مؤلفه دوم را به‌عنوان عملکرد علوفه نام‌گذاری کرد.

نتیجه‌گیری: نتایج آزمایش در مرحله گیاهچه نشان داد که ژنوتیپ‌های ۲، ۶، ۱۰، ۱۳ و ۲۶ (بومی) دارای عملکردی بالا و ژنوتیپ‌های ۱، ۳ و ۵ کمترین عملکرد علوفه را داشتند. نتایج مزرعه‌ای نشان داد با افزایش سطوح شوری به مراتب کاهش عملکرد مشاهده شد. ژنوتیپ‌های ۱۰ و ۲۶ (بومی) دارای بیشترین عملکرد و ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۱۹ کمترین عملکرد را داشتند. به‌طور کلی، ژنوتیپ‌های ۶، ۱۰، ۲۰، ۲۲ و ۲۳ متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند و ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۲۱، ۲۴ و ۲۶ به‌عنوان ژنوتیپ‌های نیمه‌حساس و ژنوتیپ‌های ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹و ۲۵ حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها به شوری معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، تجزیه خوشه‌ای، تحمل، عملکرد علوفه

مقدمه

خلر (*Lathyrus sativus* L.) گیاهی یک‌ساله از خانواده بقولات، خودگشن و دارای مقداری دگرگشنی (۲۷/۸-۹/۸ درصد) است. بیشتر گونه‌ها دیپلوئید (۲n=۱۴) هستند (Khawaja *et al.*, 1998) و به‌عنوان یک منبع پروتئین بسیار با ارزش برای دام و طیور و همچنین به‌منظور استفاده در تغذیه‌ی انسان مصرف می‌شود (Hanbury and Hughes, 2003). این گیاه در مقایسه با شبدر، یونجه، اسپرس و سایر گیاهان علوفه‌ای ارزش غذایی یکسانی داشته و پروتئین آن‌ها با توجه به مرحله‌ای از رشد که برداشت می‌شوند بین ۱۲ تا ۲۰ درصد متغیر است. این گیاه با حداقل مراقبت‌های لازم، رشد کرده و در مقایسه با سایر بقولات می‌تواند در اقلیم‌های متنوعی رشد و نمو موفقیت‌آمیزی داشته

باشد. ضمن اینکه این گیاه در تناوب با غلات جهت کنترل علف‌های هرز و همچنین فرسایش در اراضی شیب‌دار از اهمیت بالایی برخوردار است (Karadag *et al.*, 2004). شوری خاک سلامت گیاه و خاک را محدود می‌کند، و این امر می‌تواند توسط سیستم‌های زراعی در جایی‌که گونه‌های گیاهی، نمک‌ها را حذف کرده و چرخه‌های غذایی میکروبی را فعال می‌کنند جبران شود (Ashilenje *et al.*, 2023). به‌طور کلی، جو با کشت مخلوط خلر می‌تواند شوری را کاهش دهد. خلر گیاهی با تحمل زیاد به خشکی شدید و شوری متوسط است (Tokarz *et al.*, 2020). در یک مطالعه، گیاهچه‌های خلر در یک سیستم هیدروپونیک حاوی غلظت‌های مختلف NaCl کشت شدند و به‌مدت سه هفته به‌ترتیب صفر، شوری متوسط و شدید اعمال گردید. تفاوت معنی‌داری در پاسخ دستگاه فتوسنتزی برگ و ساقه به تنش شدید نمک مشاهده شد. تغییرات مشاهده شده حاکی از انعطاف‌پذیری بالای دستگاه فتوسنتزی خلر بود که مکانیسم مؤثر تحمل به تنش شوری را فراهم می‌کند (Tokarz *et al.*, 2021). بیشترین اهمیت خلر مربوط به مقاومت فوق‌العاده این گیاه نسبت به شرایط سخت محیطی از جمله خشکسالی، غرقابی، حاصلخیزی کم خاک و مقاومت به آفات و بیماری‌های گیاهی می‌باشد که سبب شده تا تولید و کشت آن از نظر اقتصادی به‌صرفه باشد (Hanbury and Hughes, 2003). میزان سطح زیرکشت خلر در جهان، یک و نیم میلیون هکتار با تولید سالیانه یک و نیم ملیون تن در هکتار برآورد می‌شود (FAO, 2021). خلر به‌طور گسترده در جنوب آسیا، جنوب صحرای آفریقا و در منطقه مدیترانه کشت می‌شود. این گیاه، به‌عنوان یک محصول مناسب برای سیستم‌های تولید پایدار مانند کشت مخلوط گزارش شده است (Gonçalves, 2022). خلر به‌دلیل تحمل بالا نسبت به خشکی امروزه به‌عنوان یک گیاه مدل در کشاورزی شناخته شده است که می‌تواند شرایط کم آبی را تحمل کند. گیاه مدل گیاهی است که از نظر ویژگی‌های خاصی بررسی شده و نسبت به گیاهان دیگر بهتر شناخته شده باشد (Patto *et al.*, 2006). از دیگر مزایای گیاه خلر تولید کود سبز است که جهت بهبود بافت خاک و افزایش حاصلخیزی خاک لازم است (Wang *et al.*, 2000). در مطالعه‌ای (Tokarz *et al.*, 2020) گیاهچه‌های خلر روی محیط‌های حاوی PEG بسیار کوچک‌تر از آن‌هایی بودند که در حضور NaCl رشد می‌کردند، اما میزان وزن خشک به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. نتایج (Tokarz *et al.*, 2020) نشان داد که تنش خشکی مکانیزم مقاومتی متشکل از محدودیت سرعت رشد به نفع تعدیل اسمزی را القا می‌کند، در حالی‌که تنش شوری عمدتاً مکانیسم‌های تقسیم کارآمد یون‌های مضر در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی را القا می‌کند. تنش شوری از تنش‌های غیرزنده مهم است که اثرات زیانباری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول دارد و برای رشد گیاه یک عامل محدود کننده است بدان سبب که باعث ایجاد محدودیت‌های تغذیه‌ای از طریق کاهش جذب فسفر، پتاسیم، نیترات و کلسیم، افزایش غلظت یونی درون سلولی و تنش اسمزی می‌گردد. برای بهبود صفت تحمل شوری در گیاهان زراعی می‌توان از تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای از طریق گزینش و اصلاح استفاده کرد (Ashraf and McNeilly, 2004). پارامترهای زراعی مورد استفاده برای ارزیابی تحمل به شوری شامل عملکرد، بقا، ارتفاع بوته، سطح برگ، میزان خسارت به برگ و میزان کاهش رشد نسبی می‌باشد (Ashraf and Haris, 2004). دامنه تحمل گیاهان نسبت به شوری متفاوت است و انتخاب گیاه برای کشت در زمین‌های شور باید ازدیدگاه‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد. اگرچه تنش شوری درتمام مراحل رشدی گیاه می‌تواند رخ دهد اما با توجه به اینکه استقرار اولیه گیاه در عملکرد نهایی تاثیر زیادی دارد تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای می‌تواند برای گیاه یکی از مراحل بسیار مضر باشد (Rauf *et al.*, 2007). حساسیت گیاه به تنش شوری، در مرحله جوانه‌زنی است. سرعت زیاد تجمع نمک درسلول‌های درحال نمو از دلایل حساسیت گیاه به شوری در این مرحله است (Farokhi and Galeshi, 2005). مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی در مراحل مختلف چرخه‌ی زندگی متفاوت است و معمولا در اغلب گیاهان، مرحله ابتدایی رشد به‌عنوان حساس‌ترین مرحله رشدی تلقی می‌شود. تحمل به شوری درطی این مرحله برای استقرار گیاهان مهم می‌باشد، زیراکه جوانه‌زنی ضعیف و کاهش رشد گیاهچه منجر به استقرار ضعیف و گاهی نابودی محصول می‌شود (Flowers, 2004). بر قسمت‌های مختلف گیاه از جمله ریشه، ساقه و برگ تأثیر داشته و نهایتا سبب کاهش عملکرد گیاه می‌شود (Farokhi and Galeshi, 2005). اثر شوری بر وزن خشک ریشه، کمتر از اندام‌های هوایی گیاه است، این واکنش گیاه گویای این واقعیت است که اندام‌های هوایی زودتر یا بیشتر از ریشه تحت تأثیر شوری قرار می‌گیرد (Chartzoulakis *et al.*, 2002).

تحمل شوری فرایند پیچیده‌ای است، زیرا تنش شوری موجب از دست دادن آب بافت‌ها، افزایش سمیت یونی، عدم تعادل غذایی و یا ترکیبی از آنها می‌گردد (Ashraf *et al.*, 2001). تلاش‌هایی برای بهبود تحمل به شوری گیاهان از طریق برنامه‌های اصلاحی سنتی انجام شده است اما به‌دلیل پیچیده بودن صفت تحمل به شوری با موفقیت‌های کمی روبه‌رو بوده است. تحمل به شوری از لحاظ ژنتیکی تحت کنترل ژن‌های متعدد و همچنین موجب تأثیرات منفی فیزیولوژیکی روی گیاهان می‌شود (Flowers, 2004).

بنابراین، هدف این آزمایش بررسی واکنش ژنوتیپ‌های زودرس خلر نسبت به سطوح مختلف شوری با ارزیابی برخی ویژگی‌های گیاهچه‌ای و زراعی و مشخص کردن ژنوتیپ‌های متحمل به شوری بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۶ ژنوتیپ خلر زراعی (جدول ۱) در یک آزمایش فاکتوریل دو فاکتوره (ژنوتیپ، سطح شوری) در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تکرار در گلدان در اول اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۶ در مزرعه تحقیقاتی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه مورد مطالعه قرار گرفت. ژنوتیپ‌های

مورد مطالعه از مرکز بین‌المللی تحقیقات کشاورزی در مناطق خشک (ICARDA) تهیه گردید و به‌همراه ژنوتیپ بومی به‌عنوان رقم شاهد در آزمایش مورد استفاده گرفتند. این ژنوتیپ‌ها زودرس و اصلاح شده و با منشاء از کشورهای مختلف دنیا بودند.

تیمارهای شوری در این آزمایش در چهار سطح ۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار نمک طعام (کلرید سدیم) اعمال شد. اعمال تنش شوری هر روز به‌صورت آب آبیاری بود که تا پایان برداشت محصول ادامه داشت. برای اعمال شوری، محلول نمک به‌صورت گرم در لیتر آماده گردید و به هر گلدان مطابق با سطح شوری مورد نظر، روزانه یک لیتر اضافه شد (El Sayed and Sayed, 2011).

جدول ۱- ژنوتیپ‌های خلر زودرس مورد استفاده در آزمایش

Table 1. The early maturing genotypes used in experiment

شماره ژنوتیپ Genotype number	منشاء Origin	شماره ژنوتیپ Genotype number	منشاء Origin	شماره ژنوتیپ Genotype number	منشاء Origin
1	BAGLADESH	10	BAGLADESH	19	CANADA
2	CANADA	11	GREECE	20	GREECE
3	MOROCOO	12	BAGLADESH	21	GREECE
4	ETHIOPIA	13	AFGHANISTAN	22	GREECE
5	BAGLADESH	14	GERMANY	23	GREECE
6	PAKISTAN	15	GREECE	24	GREECE
7	HUNGARY	16	GREECE	25	AFGHANISTAN
8	BAGLADESH	17	GREECE	26	MARAGHEH (Control)
9	BAGLADESH	18	GREECE		

آزمایش در درون گلدان‌های پلاستیکی در مزرعه اجرا گردید. اعمال تنش شوری بعد از سبز شدن شروع شد و این کار هر روز به‌صورت آب شور با تنش مربوطه تا پایان برداشت محصول ادامه داشت. تعداد بوته‌ها در هر گلدان به‌دلیل تنک کردن بوته‌ها از ده بوته به پنج بوته در هر گلدان رسید. نمونه‌های برداشت شده به‌صورت کامل با ریشه برداشت شدند و تمامی صفات در هر بوته در هر برداشت نظیر وزن تر شاخساره (عملکرد علوفه تر)، وزن خشک شاخساره (عملکرد علوفه خشک)، وزن تر میوه، وزن خشک میوه، تعداد نیام، تعداد دانه در نیام، ارتفاع گیاه، زاویه برگ نسبت به ساقه، طول برگ، عرض برگ، تعداد برگ، تعداد شاخه، محل شاخه اولی از سطح خاک، طول ریشه اندازه‌گیری شد. و همچنین در طول آزمایش تاریخ گلدهی، تاریخ غلاف‌دهی، تاریخ پر شدن غلاف و تاریخ رسیدن دانه برای هر گلدان نیز یادداشت شد. وزن تر شاخساره (عملکرد علوفه تر): (وزن تر کل شاخساره کانوپی گیاه منتهی به نیام‌ها بلافاصله پس از برداشت با ترازوی حساس)، وزن خشک شاخساره (عملکرد علوفه خشک) (توزین نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد)، وزن تر میوه (وزن تر تمامی نیام‌های یک بوته بلافاصله پس از برداشت)، وزن خشک میوه (نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند)، تعداد نیام (شمارش تعداد نیام‌ها در هر بوته)، تعداد دانه در نیام (میانگین تعداد دانه در هر نیام در بوته)، ارتفاع گیاه (در هر بوته بلندترین ساقه انتخاب شده و ارتفاع آن بر حسب سانتی‌متر از طوقه گیاه با خط‌کش اندازه‌گیری شد)، زاویه‌ی برگی (میانگین زاویه‌ی ۱۰ برگ نسبت به ساقه در هر بوته با نقاله)، طول برگ (میانگین طول ۱۰ برگ در هر بوته با خط‌کش بر حسب سانتی‌متر)، عرض برگ (میانگین عرض ۱۰ برگ در هر بوته)، تعداد برگ (شمارش تعداد برگ‌ها در یک بوته)، تعداد شاخه (شمارش تعداد شاخه‌های هر بوته)، محل شاخه‌ی اولی (ارتفاع اولین شاخه از سطح خاک با خط کش بر حسب سانتی‌متر)، طول ریشه (طول ریشه با استفاده از خط‌کش بر حسب سانتی‌متر)، تعداد ریزوم (تعداد ریزوم‌های ریشه هر بوته)، تعداد روز تا گلدهی (براساس تعداد روز تا ظهور گل در بوته)، تعداد روز تا غلاف‌دهی (براساس تعداد روز تا ظهور غلاف در بوته)، تعداد روز تا پر شدن غلاف (بر اساس تعداد روز تا پر شدن غلاف‌ها در بوته) و رسیدن دانه (براساس تعداد روز تا رسیدن دانه در بوته)، دوام (براساس تعداد روز تا ظهور مورد ارزیابی قرار گرفتند.

قبل از تجزیه داده‌ها مفروضات تجزیه واریانس داده‌ها با آزمون‌های نرمالیته و یکنواختی واریانس‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مقایسات میانگین به‌روش دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. به‌منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از تجزیه خوشه‌ای به‌روش وارد و معیار فاصله اقلیدسی با استفاده از متغییرهای استاندارد شده انجام شد. نقطه برش دندروگرام با استفاده از تجزیه تابع تشخیص تعین گردید. برش دندروگرام در نقاط مختلف و انجام تجزیه تابع تشخیص نشان داد که سطوح احتمال برای گروه‌بندی‌های مختلف، بسیار نزدیک به هم است. بنابراین تعداد گروه‌ها با استفاده از فرمول $\sqrt{n/2}$ تعین گردید که در آن n عبارت از تعداد ژنوتیپ‌ها می‌باشد. برای تعین خصوصیات هر گروه حاصل از تجزیه خوشه‌ای از نظر صفات مورد مطالعه، میانگین هر خوشه برای هر صفت و درصد انحراف آن از میانگین کل محاسبه شد. به‌منظور تعیین سهم هر صفت در تنوع کل، کاهش حجم داده‌ها و تفسیر بهتر روابط، از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. برای انجام تجزیه آماری از نرم‌افزارهای SPSS، GenStat و NTSYS استفاده شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های خلر

نتایج تجزیه واریانس برای صفات گیاهچه‌ای در جدول ۲ نشان داد که صفات طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، طول گیاهچه و نسبت طول ساقه‌چه به طول ریشه‌چه برای اثر ژنوتیپ، شوری و اثرمتقابل ژنوتیپ در شوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. صفات وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن

خشک گیاهچه دارای اثر شوری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بودند و صفت نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه برای هیچکدام از اثرات دارای اختلاف معنی‌داری نبود. در پژوهش انجام یافته روی خلر، شوری احتمالاً به دلیل اختلال در جذب آب تحت غلظت بالای نمک، کاهش قابل توجهی در ماده خشک گیاهچه ایجاد کرد (Khosravi *et al.*, 2020). نتایج پژوهش دیگر (Grozeva *et al.*, 2023) در خلر نشان داد که تیمارهای شوری تأثیر منفی بر رشد گیاه داشتند و توده‌های مورد مطالعه به تنش شوری حساس بودند. با این وجود، برخی از نمونه‌ها متحمل شناسایی شدند.

نتایج مقایسه میانگین برای صفات گیاهچه‌ای در جداول ۳ و ۴ آمده است. برای صفت طول ساقه‌چه بیشترین میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری، برای ژنوتیپ‌های ۱۰ و در سطح شوری صفر (۱۱/۷۷۵) و ژنوتیپ ۷ در سطح شوری صفر (۱۱/۷۶)، کمترین میانگین در ژنوتیپ‌های ۶ سطح شوری چهارم (۰/۳۸۵) و ژنوتیپ ۳ در سطح شوری (۰/۳۸۵) دیده شد. برای صفت طول ریشه‌چه بیشترین تأثیر میانگین ژنوتیپ × شوری برای ژنوتیپ ۱۰ و در سطح شوری صفر (۱۰/۲۱۵) و کمترین تأثیر برای ژنوتیپ ۶ و سطح شوری چهارم (۰/۷۵) بود. برای صفت طول گیاهچه نتایج مقایسه میانگین اختلاف زیادی با هم داشتند بدین‌گونه که ژنوتیپ ۱۰ و در سطح شوری صفر (۲۱/۹۹۰) بیشترین تأثیر و کمترین تأثیر برای ژنوتیپ ۶ و سطح شوری چهارم (۱/۱۳۵) را به‌خود اختصاص دادند. در صفت نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه بیشترین تأثیر برای ژنوتیپ ۹ در سطح شوری چهار (۲/۴۶) و کمترین تأثیر برای ژنوتیپ ۳ در سطح چهارم شوری (۰/۲۹۰) بود (جدول مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری درج نشده است). در یک بررسی (Ranganayakulu *et al.*, 2013) روی گیاه بادام زمینی نشان داده شد که کاهش رشد اجزای گیاهچه (ریشه‌چه و ساقه‌چه) با افزایش شوری معنی‌دار بود. در تحقیق سه ساله بر روی شبدر شیرین مشخص شد که با افزایش شوری، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت (Zabihi-e-Mahmoodabad *et al.*, 2011). کاهش طول گیاهچه در نخود فرنگی با تنش شوری گزارش شده است (Parida and Das, 2005) که همه‌ی این گزارشات با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه از اهمیت زیادی برخوردار است زیرا صفات مهمی در استقرار اولیه گیاهچه هستند. یکی از دلایل کاهش طول ساقه‌چه، ریشه‌چه و در نتیجه گیاهچه در شرایط تنش، کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین است. علاوه بر آن کاهش جذب آب از طریق بذر در شرایط تنش باعث کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد گیاهچه می‌شود (Saadeghi-Azar *et al.*, 2014). تاثیر شوری در مورد صفات وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک گیاهچه معنی‌دار بود. وزن خشک ساقه‌چه با افزایش میزان شوری کاهش می‌یابد البته این کاهش با افزایش سطح شوری همخوانی ندارد و بیشترین تأثیر شوری مربوط به سطح اول یعنی شوری صفر (۰/۰۱۰۳) و کمترین تأثیر برای سطح سوم (۰/۰۰۸۳) و چهارم (۰/۰۰۶۹) بود. صفت وزن خشک ریشه‌چه با افزایش میزان شوری، کاهش یافت به‌طوریکه سطح شاهد (۰/۰۸۹) و سطح‌های دیگر در یک گروه قرار گرفتند. وزن خشک گیاهچه با افزایش شوری کاهش یافت که باز با افزایش سطح شوری همخوانی ندارد و بیشترین تأثیر شوری برای سطح اول یعنی صفر (۰/۱۲۳) و کمترین مقدار برای سطح دوم بود (جدول ۴). نتایج آزمایش دیگر (El Sayed and El Sayed, 2011) نشان داد که افزایش شوری به‌طور معنی‌داری وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه باقلا را کاهش می‌دهد که مطابق با نتایج مطالعه حاضر است. در تأیید یافته‌های این بررسی، شوری باعث کاهش وزن خشک گیاهچه در گیاه چغندرقند شده است (Jafarzadeh and Aliasgharzad, 2007). نتایج مطالعات بر روی سایر گیاهان نظیر نخود (Oksu *et al.*, 2005) و گلرنگ (Demir and Arif, 2003) نیز نشان دادند که شوری باعث کاهش وزن خشک گیاهچه می‌شود. در اثر تنش شوری بر روی برخی ژنوتیپ‌های عدس گزارش شده است که نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه اثر شوری معنی‌دار بود (Saadeghi-Azar et al., 2014). که مطابق با نتایج این مطالعه است. کاهش وزن خشک گیاهچه (ساقه‌چه و ریشه‌چه) نتیجه کاهش طول گیاهچه (ساقه‌چه و ریشه‌چه) است. زمانی‌که طول گیاهچه به‌دلیل تأثیرات شوری کاهش می‌یابد تجمع ماده‌ی خشک کاهش می‌یابد که در نتیجه آن وزن خشک گیاهچه نیز کاهش می‌یابد.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های خلر

Table 2. Analysis of variance seedling traits of grass pea genotypes

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)						
		نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Dry Weight / Rootlet Dry	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Length/ Radicle Length	وزن خشک گیاهچه Dry Weight Seedling	وزن خشک ریشه‌چه Rootlet Dry Weight	وزن خشک ساقه‌چه Plumule Dry Weight	طول گیاهچه Seedling Length	طول ریشه‌چه Radicle Length	طول ساقه‌چه Plumule Length
ژنوتیپ Genotype	25	3.45	0.48**	01	0.0000642	0.0000542	43.96**	9.1**	15.41**
شوری Salinity	3	1.1	1.17**	0.001**	0.0003857**	0.0001891**	96.44**	25.3**	28.97**
ژنوتیپ×شوری Genotype×Salinity	75	3.7	0.39**	0.00015	0.000664	0.0000822	32.46**	6.72**	12.37**
خطا Error	104	3.34	0.21	0.00016	0.0000765	0.00007079	8.69	1.65	3.45

** معنی‌دار در سطح آماری یک درصد

** Probability level of significantly in 0.01.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ژنوتیپ با روش دانکن در سطح معنی‌داری یک درصد برای صفات گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های خلر

Table 3. Mean comparison of the genotype effect with Duncan's method at 1% significance level for seedling traits of grass pea genotypes

شماره ژنوتیپ Genotype number	طول ساقه‌چه (cm) Plumule Length	طول ریشه‌چه (cm) Radicle Length	طول گیاهچه (cm) Seedling Length	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Length/ Radicle Length
1	2.21i	2.86j	5.07h	0.68e
2	3.57i	2.93gj	6.5eh	1.06ce
3	2.61i	2.93hj	5.57gh	0.71de
4	3.07i	2.72hj	5.8eh	0.95ce
5	4.69dh	4.55ch	9.25bf	0.88be
6	4.98cg	4fj	8.98bg	1.08de
7	6.22ad	5.61ae	11.83ac	1.02ce
8	3.7ei	3.01ij	6.71eh	1.42ac
9	4.59dh	3.17hj	7.77dh	1.71a
10	4.45ad	5.71ae	12.17ca	1.09be
11	4.26di	4.88ag	9.14bf	0.89ce
12	6.02ad	4.94ab	10.96ad	1.3ac
13	7.39ab	6.1af	13.49a	1.21ae
14	6.94ac	6.31a	13.25ab	1.08de
15	5.9ae	5.23af	11.13ad	1.13de
16	5.17cg	4.42di	9.6ad	1.21ae
17	4.43dh	4.52bh	8.95ag	0.87ce
18	5.16cg	5.06ag	10.96ad	0.99ce
19	7.69a	4.72bg	12.41ab	1.63ab
20	4.73ch	4.6bh	9.34be	1.07be
21	5.79af	6.04ac	11.83ac	1.02ce
22	5.24bg	3.68gj	8.92bg	1.36ac
23	5.24bg	4.15ej	9.39be	1.26ad
24	6.04ad	4.92ag	10.97ad	1.25ad
25	6.3ad	5.1ag	11.4ac	1.35ac
26	4.23di	4.57bh	8.8cg	1.17ae

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف آماری ندارند.

In each column, the means with at least one common letter have not statistical difference.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر شوری روی صفات گیاهچه‌ای ژنوتیپ‌های خلر

Table 4. Maean comparison of the salinity effect on seedling traits of early-maturing grass pea genotypes

شوری (mM) Salinity	طول ساقه‌چه (cm)	طول ریشه‌چه (cm) Radicle Length	طول گیاهچه (cm) Seedling Length	وزن خشک ساقه‌چه (g) Plumule Dry Weight	وزن خشک ریشه‌چه (g) Rootlet Dry Weight	وزن خشک گیاهچه (g) Dry Seedling Weight	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Length/ Radicle Length
0	5.21a	5.15a	10.36a	0.0103a	0.085a	0.123a	0.91b
4	5.25a	4.69a	9.95a	0.0058a	0.054b	0.092c	1.2a
8	5.86a	4.62a	10.45a	0.0083ab	0.062b	0.109ab	1.24a
12	4.07b	3.5b	7.58b	0.0069ab	0.057b	0.098bc	1.16a

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف آماری ندارند.

In each column, the means with at least one common letter have not statistical difference.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات گیاهچه‌ای

نتیجه تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای میانگین ۸ صفت در مرحله‌ی گیاهچه‌ای بر روی ۲۶ ژنوتیپ زودرس خلر زراعی نشان داد که سه مؤلفه اصلی اول مجموعاً ۸۳/۷۲ درصد از تنوع صفات را توجیه کردند. مؤلفه اول ۳۸/۳۱۵ درصد و مؤلفه دوم ۲۵/۳۱۵ درصد و مؤلفه سوم ۱۹/۷۴۸ درصد از تنوع کل را توجیه کردند. برای مؤلفه اول صفات طول گیاهچه (۰/۹۸۴)، طول ساقه‌چه (۰/۹۷۷) و طول ریشه‌چه (۰/۸۹۱) دارای ضرایب مثبت و ارزش بالا بودند و صفات نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه (۰/۲۶۵-) و وزن خشک ریشه‌چه (۰/۲۳۹-) از ضرایب منفی قابل توجه برخوردار بودند. برای مؤلفه دوم صفات وزن خشک ساقه‌چه (۰/۸۹۱)، وزن خشک گیاهچه (۰/۸۸۸) و نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه (۰/۵۷۹) دارای ارزش مثبت بالا بودند (جدول ۵). درمجموع می‌توان مؤلفه اول را مؤلفه ارتفاع بوته و مؤلفه دوم را مؤلفه عملکرد علوفه خشک نام‌گذاری کرد. از این مؤلفه‌ها می‌توان در امر گزینش برای ژنوتیپ‌های زودرس خلر زراعی استفاده کرد.

جدول ۵- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی صفات گیاهچه‌ای

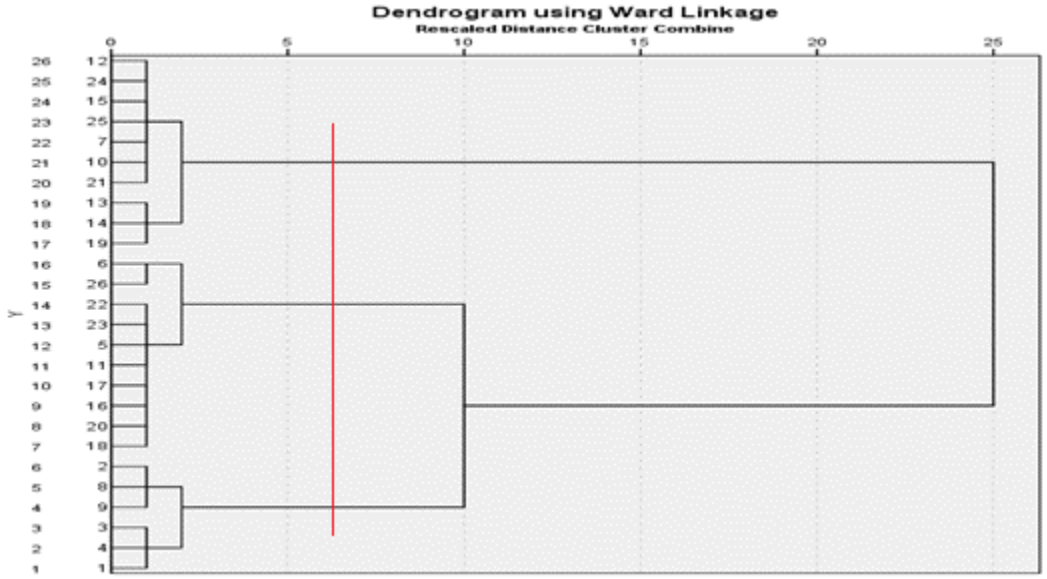
Table 5. Principal components analysis of seedling traits

صفت Trait	مؤلفه Principal component		
	1	2	3
طول ساقه‌چه Plumule Length	0.977	0.056	0.977
طول ریشه‌چه Radicle Length	0.891	0.117	0.891
طول گیاهچه Seedling Length	0.984	0.086	0.984
وزن خشک ساقه‌چه Plumule Dry Weight	0.094	0.891	0.094
وزن خشک ریشه‌چه Rootlet Dry Weight	-0.239	0.331	-0.239
وزن خشک گیاهچه Dry Weight Seedling	-0.119	0.888	-0.119
نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Length/ Radicle Length	0.446	0.023	0.446
وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Dry Weight/Rootlet Dry Weight	-0.265	0.579	-0.265

تجزیه خوشه‌ای صفات گیاهچه‌ای

تجزیه خوشه‌ای به‌روش Ward با استفاده از فاصله اقلیدسی بر اساس میانگین استاندارد شده ۸ صفت و برش دندوگرام حاصل، ژنوتیپ‌های زودرس خلر زراعی در مرحله‌ی گیاهچه‌ای را به سه کلاستر یا خوشه تقسیم‌بندی کرد (شکل ۱). خوشه اول شامل ژنوتیپ‌های ۱، ۴، ۳، ۹، ۸ و ۲ بود. ژنوتیپ‌های ۱۸، ۲۰، ۱۶، ۱۷، ۱۱، ۵، ۲۳، ۲۲، ۲۶ و ۶ در خوشه دوم و ژنوتیپ‌های ۱۹، ۱۴، ۱۳، ۲۱، ۱۰، ۷، ۲۵، ۱۵، ۲۴ و ۱۲ در خوشه سوم با ضریب کوفنتیک ۰/۷۴ قرار گرفتند. خصوصیات گروه‌های حاصل (میانگین و درصد انحراف از میانگین) در جدول ۶ آورده شده است. خوشه اول با شش ژنوتیپ از نظر تمامی صفات غیر از وزن خشک ریشه‌چه و نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه ارزش پایین‌تری نسبت به میانگین کل نشان دادند. در مقابل خوشه دوم از نظر صفات وزن خشک ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه، وزن خشک گیاهچه و نسبت وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه از ارزشی بالاتر از میانگین برخوردار بودند و مابقی صفات ارزشی پایین‌تر از میانگین داشتند. بنابراین ژنوتیپ‌های این خوشه را می‌توان برای اهداف به‌نژادی استفاده کرد. همچنین خوشه سوم نیز در صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه و نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه از ارزشی بالاتر از میانگین برخوردار بودند و بقیه‌ی

صفات ارزشی پایین‌تر از میانگین را نشان دادند. بنابراین، ژنوتیپ‌های این خوشه را می‌توان برای بهبود عملکرد علوفه مورد استفاده قرار داد و می‌توان از این گروه والدینی با عملکرد بالا را انتخاب و در دورگ‌گیری از آن‌ها استفاده کرد.



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های زودرس خلر بر اساس میانگین صفات گیاهچه‌ای با استفاده از روش وارد
Figure 1. Dendrogram of cluster analysis of early maturing grass pea genotypes based on the mean of the seedling traits using Ward's algorithm

جدول ۶- میانگین و انحراف از میانگین کل سه کلاستر حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات گیاهچه‌ای در ژنوتیپ‌های زودرس خلر
Table 6. Mean and deviation from the grand mean of three clusters obtained from cluster analysis for the seedling traits in early maturing grass pea genotypes

کلاستر Cluster		طول ساقه‌چه Plumule Length	طول ریشه‌چه Radicle Length	طول گیاهچه (cm) Seedling Length	وزن خشک ساقه‌چه Plumule Dry Weight	وزن خشک ریشه‌چه Rootlet Dry Weight	وزن خشک گیاهچه Seedling Dry Weight	نسبت طول ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Length/ Radicle Length	وزن خشک ساقه‌چه به ریشه‌چه Plumule Dry Weight /Rootlet Dry Weight
1	میانگین Mean	3.29	2.94	6.24	0.006	0.005	0.011	1.09	2.21
	درصد انحراف Deviation %	-35.42	-34.47	-34.97	-17.09	6.36	-7.93	-3.69	1.67
2	میانگین Mean	4.81	4.44	9.26	0.009	0.005	0.014	1.08	2.36
	درصد انحراف Deviation %	-5.63	-1.03	-3.48	13.95	8.73	11.91	-4.65	8.84
3	میانگین Mean	6.47	5.47	11.94	0.007	0.044	0.012	1.21	1.96
	درصد انحراف Deviation %	26.89	21.71	24.47	-3.69	-12.55	-7.16	6.87	-9.84

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی

نتیجه تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای میانگین ۲۲ صفت در ۲۶ ژنوتیپ خلر زودرس زراعی در جدول ۷ دیده می‌شود. چهار مؤلفه اصلی اول مجموعاً ۸۲/۰۸ درصد از تنوع صفات را توجیه کردند. مؤلفه اول ۵۶/۳۴ درصد از تنوع کل را توجیه کرد و سهم مؤلفه‌های دوم، سوم و چهارم به‌ترتیب ۱۴/۳۱، ۶/۲۸ و ۵/۱۴ درصد بود. برای مؤلفه اول صفات تعداد دانه در نیام (۰/۹۴۲)، تعداد نیام (۰/۹۳۶)، وزن خشک میوه (۰/۹۳۴)، وزن تر میوه (۰/۹۲۲)، وزن خشک شاخساره (عملکرد علوفه خشک) (۰/۸۲۲)، وزن تر شاخساره (عملکرد علوفه تر) (۰/۷۰۸)، ارتفاع گیاه (۰/۸۴۶)، طول برگ (۰/۹۲۳)، روز تا روز تا گلدهی (۰/۸۷۰) و روز تا غلاف‌دهی (۰/۸۷۰) دارای ضرایب بزرگ و صفات تعداد ریزوبیوم (۰/۴۷۶-)، محل شاخه اول (۰/۷۸۲-) و تعداد شاخه (۰/۳۷۲-) از ضرایب منفی قابل توجه برخوردار بودند. برای مؤلفه

دوم صفات وزن خشک شاخساره (عملکرد علوفه خشک) (۰/۶۵۹)، وزن تر شاخساره (عملکرد علوفه تر) (۰/۴۹۶)، تعداد شاخه (۰/۴۰۵)، تعداد برگ (۰/۸۸۷)، ارتفاع گیاه (۰/۳۲۰) دارای بیشترین ضرایب و صفات رسیدگی در غلاف (۰/۸۴۹-)، روز تا غلاف‌دهی (۰/۳۲۹-) و روز تا گلدهی (۰/۳۳۳-) دارای ضرایب منفی بزرگ بودند (جدول ۷). درمجموع می‌توان مؤلفه اول را مؤلفه عملکرد بیولوژیک (دانه و علوفه) و مؤلفه دوم را مؤلفه عملکرد علوفه نام‌گذاری کرد. از این مؤلفه‌ها می‌توان در امر گزینش برای ژنوتیپ‌های زودرس خلر زراعی استفاده کرد.

در ارزیابی ژنوتیپ‌های یونجه (Soltani and Khodarahmpour, 2016) از نظر تحمل به شوری، نتایج نشان داد که تجزیه به مؤلفه‌های اصلی؛ ۸ صفت مربوطه را به دو مؤلفه تقسیم کرد که ۷۲ درصد از کل تغییرات را توجیه کردند. مؤلفه اول ۴۶ درصد از کل تغییرات را توجیه کرد که صفات تعداد برگ در بوته، طول ساقه و طول گیاه دارای ضرایب مثبت و نسبت طول ریشه به طول ساقه ضریب منفی داشت و این مؤلفه را مؤلفه خصوصیات رویشی و تحمل به تنش نامگذاری کردند. مؤلفه دوم ۲۶ درصد از تغییرات را توجیه کرد و صفات طول ریشه و نسبت وزن خشک به وزن تر دارای ضریب عاملی منفی و وزن تر و خشک گیاه ضریب عاملی مثبت داشتند. پورفرهاد و همکاران (Pourfarhad *et al*., 2009) با بررسی ۴۹ اکوتیپ یونجه گزارش کردند که حدود ۷۴/۶۷ درصد از تغییرات کل توسط دو مؤلفه‌ی اصلی اول توجیه می‌شوند. مؤلفه‌ی اول حدود ۵۱/۴۲ درصد از تغییرات را تبیین نمود، دارای ضریب بالا برای عملکرد علوفه تر و خشک، ارتفاع بوته و فاصله‌ی میان گره بود و مؤلفه‌ی دوم ۲۳/۲۳ درصد از تغییرات را تبیین نمود. دارای ضریب بالایی برای تعداد گره و نسبت برگ به ساقه بود در نتیجه می‌توان گفت گزینش براساس مؤلفه‌ی اول منجر به گزینش اکوتیپ‌هایی با عملکرد بالا خواهد شد و گزینش براساس مؤلفه‌ی دوم منجر به گزینش اکوتیپ‌هایی با کیفیت علوفه‌ی بالا خواهد شد. در بررسی دیگر (Soltani and Khodarahmpour, 2016) که بر روی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های یونجه انجام شد تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در ۲۱ ژنوتیپ مورد ارزیابی نشان داد که ۶۳ درصد از تغیرات کل توسط دو مؤلفه‌ی اول توجیه می‌شوند، مؤلفه‌ی اول ۳۹ درصد از تغییرات را توجیه می‌کند و دارای ضریب بالا برای عملکرد علوفه تر و خشک بود. مولفه‌ی دوم ۲۴ درصد از تغییرات را توجیه می‌کند و دارای ضریب بالا مثبت برای نسبت وزن برگ به ساقه و ضریب عملکرد بالای منفی برای تعداد گره در ساقه اصلی بود. بنابراین می‌توان گفت مؤلفه‌ی اول عملکرد بالا و مؤلفه‌ی دوم کیفیت علوفه را بیان می‌کنند.

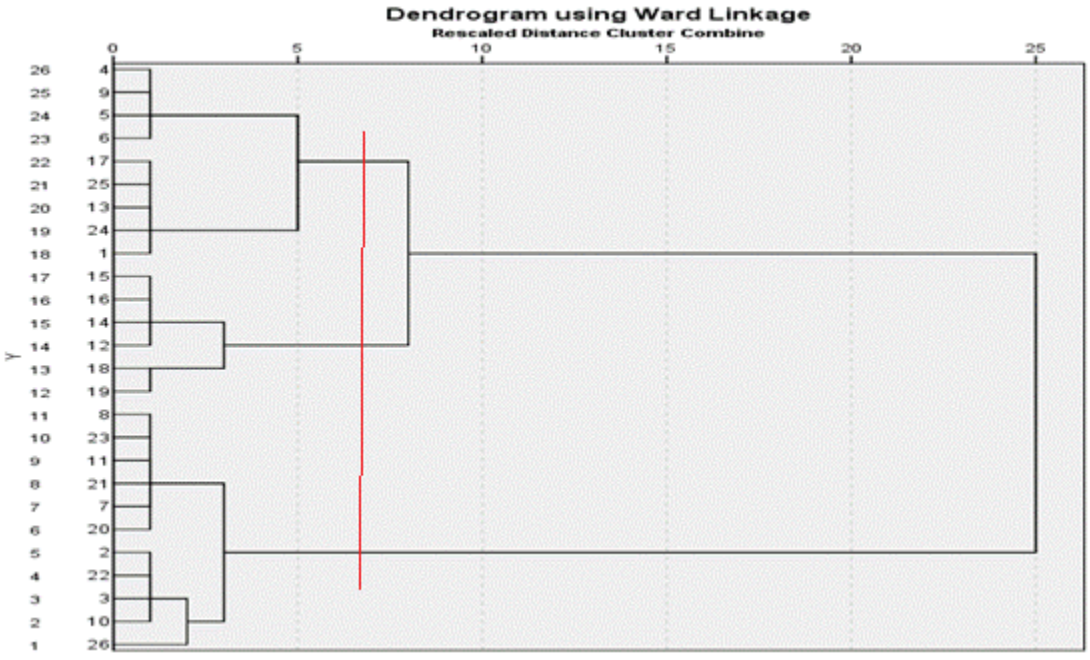
جدول ۷- تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس صفات زراعی

Table 7. The principal component analysis based on agronomic traits

صفت Trait	مؤلفه Principal component			
	1	2	3	4
وزن تر شاخساره Shoot fresh weight	0.708	0.659	0.023	-0.089
وزن خشک شاخساره Shoot dry weight	0.822	0.496	0.122	-0.138
وزن تر میوه Fruit fresh weight	0.922	0.207	-0.006	0.100
وزن خشک میوه Fruit dry weight	0.934	0.034	0.066	0.126
تعداد غلاف Pod Number	0.936	-0.122	0.041	0.161
تعداد دانه در غلاف Grain number per pod	0.942	-0.015	0.020	0.138
ارتفاع بوته Plant height	0.846	0.320	-0.096	-0.232
زاویه برگ Leaf angle	0.880	-0.227	-0.084	-0.111
طول برگ Leaf length	0.923	-0.004	0.016	-0.156
عرض برگ Leaf width	0.212	0.265	-0.710	0.318
تعداد برگ Leaf number	-0.038	0.887	0.220	0.021
تعداد ریزوم Rhizome number	-0.476	0.355	-0.367	0.069
طول ریشه Root length	0.613	-0.064	0.365	-0.255
تعداد شاخه Shoot number	-0.782	0.405	0.174	0.274
محل شاخه اول (cm)	-0.372	-0.120	0.622	0.550
تاریخ گلدهی Flowering date	0.867	-0.333	0.197	0.002
تاریخ غلاف دهی Podding date	0.865	0.329	0.042	0.035
تاریخ روز تا پرشدن غلاف	0.812	-0.273	-0.115	0.364
تاریخ رسیدگی Maturating date	0.061	-0.849	-0.171	-0.107
سرعت جوانه‌زنی Germination speed	0.731	0.010	-0.116	0.498
درصد جوانه‌زنی Germination percent	0.722	0.230	-0.061	-0.030
ماندگاری	0.880	0.147	0.073	0.004

تجزیه خوشه‌ای

تجزیه کلاستر به‌روش Ward با استفاده از فاصله اقلیدسی بر اساس میانگین استاندارد شده ۲۲ صفت و برش دندوگرام حاصل، ۲۶ ژنوتیپ زودرس خلر زراعی را به سه خوشه با ضریب کوفنتیک ۰/۸ تقسیم بندی کرد (شکل ۲). کلاستر اول شامل ژنوتیپ‌های ۸، ۲۳، ۱۱، ۲۱، ۷، ۲۰، ۲، ۲۲، ۳، ۱۰و ۲۶ بود. کلاستر دوم در برگیرنده‌ی ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۶، ۱۴، ۱۲، ۱۸و ۱۹ بود و در آخر کلاستر سوم ژنوتیپ‌های ۴، ۹، ۵، ۶، ۱۷، ۲۵، ۱۳، ۲۴ و ۱را در برداشت. خصوصیات گروه‌های حاصل (میانگین و درصد انحراف از میانگین) در جدول ۸ آورده شده است. گروه اول که شامل یازده ژنوتیپ بود از نظر وزن تر شاخساره (عملکرد علوفه تر)، وزن تر میوه، تعداد نیام، تعداد دانه در نیام، ارتفاع گیاه، زاویه برگی، طول برگ، تعداد برگ، طول ریشه، روز تا گلدهی، روز تا غلاف‌دهی، پر شدن غلاف، سرعت جوانه‌زنی، درصد جوانه‌زنی و ماندگاری یعنی تقریباً تمامی صفات ارزش بالاتر از میانگین برخوردار بود. بنابراین، ژنوتیپ‌های این گروه را می‌توان برای بهبود عملکرد علوفه و عملکرد دانه مورد استفاده قرار داد و می‌توان از این گروه والدینی با عملکرد بالا را انتخاب و در دورگ‌گیری از آنها استفاده کرد. گروه دوم با شش ژنوتیپ نیز فقط صفات: تعداد برگ، تعداد ریزوبیوم، تعداد شاخه و محل شاخه اول ارزش بالاتر از میانگین داشت و بقیه‌ی صفات ارزش پایین‌تر از میانگین نشان دادند بنابراین، از ژنوتیپ‌های این گروه می‌توان برای بهبود صفات مربوط به فتوسنتز استفاده کرد. گروه سوم که شامل نه ژنوتیپ بود از نظر تمامی صفات به‌جز زاویه برگی، تعداد ریزوبیوم و رسیدگی در غلاف ارزش پایین‌تر از میانگین داشت. با توجه به اینکه ژنوتیپ‌های مورد بررسی زودرس بودند می‌توان با در نظر گرفتن صفت روز تا گلدهی که صفتی منفی است بیان کرد که ژنوتیپ‌های گروه دوم زودرس‌تر و ژنوتیپ‌های گروه اول دیررس‌تر بودند. بنابراین ژنوتیپ‌های ۱۵، ۱۶، ۱۴، ۱۲، ۱۸و ۱۹ را می‌توان ژنوتیپ‌های زودرس‌تر هستند. در راستای پژوهش حاضر، محققین (Soltani and Khodarahmpour, 2016) در ارزیابی خود بر روی ژنوتیپ‌های یونجه، گزارش کردند که تجزیه کلاستر به‌روش وارد ژنوتیپ‌های مورد بررسی را به سه کلاستر تقسیم‌بندی کرد؛ و ژنوتیپ‌های کلاستر اول دارای پتانسیل مطلوب و حساسیت پایین به شوری بودند، کلاستر سوم دارای پتانسیل نامطلوب و حساسیت بالا به شوری بودند و کلاستر دوم وضعیتی ما بین دو کلاستر دیگر دارد. در بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون ۱۹ رقم و لاین یونجه بر اساس تجزیه خوشه‌ای این ژنوتیپ‌ها به گروه‌های مختلفی تقسیم‌بندی شد و نشان داده شد که تنوع ژنتیکی بین ارقام و لاین‌های مختلف یونجه بیشتر از تنوع درون ارقام بود (Musial *et al.*, 2002).



شکل ۲- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های زودرس خلر بر اساس میانگین صفات با استفاده از روش وارد

Figure 2. Dendrogram of cluster analysis of early maturing grass pea genotypes based on the mean of the traits using Ward's algorithm

جدول ۸- میانگین و انحراف از میانگین کل سه کلاستر حاصل از تجزیه خوشه‌ای برای صفات زراعی در ژنوتیپ‌های زودرس خلر
Table 8. Mean and deviation from the grand mean of three clusters obtained from cluster analysis for the agronomic traits in early maturing grass pea genotypes

کلاستر Cluster		صفت	وزن تر شاخساره Shoot fresh weight	وزن خشک شاخساره Shoot dry weight	وزن تر میوه Fruit fresh weight	وزن خشک میوه Fruit dry weight	تعداد غلاف Pod Noumber	تعداد دانه در غلاف Grain number per pod	ارتفاع بوته Plant height	زاویه برگ Leaf angle	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	تعداد برگ Leaf number
		میانگین Mean	3.28	1.03	0.79	0.36	1.72	3.54	42.06	48.31	4.63	0.41	34.23
1		انحراف Deviation	19.16	-62.40	61.59	-86.86	44.70	45.02	21.27	4.95	19.79	-84.81	2.92
		میانگین Mean	2.36	0.64	0.14	0.06	0.43	0.95	26.15	41.36	2.74	0.40	36.52
2		انحراف Deviation	-14.08	-23.97	-71.02	-72.17	-63.79	-60.75	.24.59	-10.13	-28.98	-16.65	9.79
		میانگین Mean	2.37	0.72	0.35	0.16	1.04	2.08	31.35	46.35	3.68	0.39	29.90
3		انحراف Deviation	-14.03	-14.15	-27.93	-28.03	-12.11	-14.52	-9.60	0.69	-4.86	-18.71	-10.10

ادامه جدول ۸ Table 8 (continued)

کلاستر Cluster		صفت	تعداد ریزوم Rhizome number	طول ریشه Root length	تعداد شاخه Shoot number	محل شاخه اول (cm)	تاریخ گلدهی Flowering date	تاریخ غلاف‌دهی Podding date	روز تا پرشدن غلاف	تاریخ رسیدگی Maturating date	سرعت جوانه‌زنی Germination speed	درصد جوانه‌زنی Germination percent	ماندگاری
		میانگین Mean	0.65	12.32	2.52	0.39	13.90	10.68	2.82	0.15	0.07	80.11	20.98
1		انحراف Deviation	-14.16	5.11	-18.82	-9.92	31.38	41.06	50.90	-53.39	5.33	17.43	12.08
		میانگین Mean	0.93	10.71	4.46	0.51	5.06	2.41	0.50	0.27	0.06	50.62	16.39
2		انحراف Deviation	22.32	-8.64	43.64	19.33	-52.17	-68.08	-73.33	-20.65	-5.58	-25.79	-12.44
		میانگین Mean	0.87	11.66	2.91	0.42	10.20	7.20	1.62	0.61	0.06	65.41	17.51
3		انحراف Deviation	2.43	-0.48	-6.08	-0.75	-3.57	-4.80	-13.32	79.02	-2.80	-4.11	-6.47

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش در آزمایشگاه (در مرحله گیاهچه) نشان داد که ژنوتیپ‌های ۲، ۶، ۱۰، ۱۳ و ۲۶ (بومی) دارای عملکردی بالا و ژنوتیپ‌های ۱، ۳ و ۵ کمترین عملکرد علوفه را داشتند. نتایج مزرعه‌ای نشان داد که در تمامی برداشت‌ها با توجه به مقایسات میانگین شوری، با افزایش سطوح شوری به مراتب کاهش عملکرد مشاهده شد. در نهایت ژنوتیپ ۶ و ۱۹ به‌ترتیب بیشترین و کمترین سرعت جوانه‌زنی و ژنوتیپ ۲۰ و ۱۹ به ترتیب بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی را در مزرعه (گلدان) داشتند. ژنوتیپ‌های ۱۰ و ۲۶ (بومی) دارای بیشترین عملکرد و ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۱۹ کمترین عملکرد را داشتند. و اما به‌طور کلی، ژنوتیپ‌های ۶، ۱۰، ۲۰، ۲۲ و ۲۳ متحمل‌ترین ژنوتیپ‌ها بودند و ژنوتیپ‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۲۱، ۲۴ و ۲۶ به‌عنوان ژنوتیپ‌های نیمه‌حساس و ژنوتیپ‌های ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹و ۲۵ حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها به شوری معرفی شدند. می‌توان ژنوتیپ ۱۰ را برترین ژنوتیپ و ۱۹ را ضعیف‌ترین ژنوتیپ معرفی کرد. و از بین ژنوتیپ‌های زودرس خلر، ژنوتیپ‌های۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۸ و ۲۵ زودرس‌تر از بقیه بودند.

References

Ashilenje, D. S., Amombo, E., Hirich, A., Devkota, K. P., Kouisni, L. & Nilahyane A. (2023). Irrigated barley–grass pea crop mixtures can revive soil microbial activities and alleviate salinity in desertic conditions of southern Morocco. *Scientific Reports*, 1313174-13188. DOI:10.1038/s41598-023-40337-9

Ashraf, M.& Haris P.J.S. (2004). Pontential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166, 3-16. DOI:10.1016/j.plantsci.2003.10.024

Ashraf, M., Nazir, N. & McNeilly, T. (2001). Comparative salt tolerance of amphidiploid and diploid *Brassica* species. *Plant Science*, 160(4), 683-689. DOI: 10.1016/s0168-9452(00)00449-0

Chartzoulakis, K., Loupassaki M., Bertaki M., & Androulakis, I. (2002). Effects of NaCl salinity on growth, ion content and CO_2 assimilation rate of six olive cultivars. *Scientia Horticulturae*, 96, 235-247. DOI: 10.1016/S0304-4238(02)00067-5

Demir, M. & Arif, I. (2003). Effects of different soil salinity levels on germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27(4), 221-227.

El Sayed, H. & El Sayed, A. (2011). Influence of salinity (NaCl and Na_2SO_4) treatments on growth development of broad bean (*Vicia faba* L.). *American-Eurasian Journal Agriculture and Environmental Science*, 10(4), 600-610.

FAO, (2021). FAOSTAT data. http://www.faostat.fao.org/faostat.

Farokhi, A. & Galeshi, S. 2005. Evaluation of effect of salinity and seed size on germination, conversation of seed reserves and seedling growth soybean (*Glycin max*. L). *Iranian Journal of Agricultural Science*, 36(5), 1233- 1241 (In Persian).

Flowers, T. J. (2004). Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental botany*, 55(396), 307-319.

Grozeva, S., Kalapchieva, S., & Tringovska, I. (2023). In vitro screening for salinity tolerance in garden pea (*Pisum sativum* L.). *Horticulturae*, 9, 338-348.

Gonçalves, L., Rubiales, D., Bronze, M. R. & Vaz Patto, M. C. (2022). Grass. Pea (*Lathyrus sativus* L.)- A sustainable and resilient answer to climate challenges. *Agronomy*, 12, 1324.

Hanbury, C. D. and Hughes, B. (2003). New grain legume for layers, Evaluations of *Lathyrus ciceraas* a feed ingredient for layers. A report for the Australian Egg Corporation Limited.AECL publication NO 03/01.

Jafarzadeh, A.A. & Aliasgharzad N. (2007). Salinity and salt composition effects on seed germination and root length of four sugarbeet cultivars, Proceeding of "Bioclimatology and Natural Hazards" International Scientific Conference, Polana nad Detvou, Slovakia, 17-20.

Karadag, Y., Iptas S. & Yavuz M. (2004). Agronomic potential of grasspea (*Lathyrus sativus* L.) under rainfed condition in semi-arid regions of Turkey. *Asian Journal of Plant Science*, 3, 151-155.

Khawaja, H. I. T., Sybenga J., & Ellis J. R. 1998. Meiosis in aneuploid of tetraploid *Lathyrus odoratus* and *L. pratensis*. *Hereditas*, 129, 53-57.

Khosravi, Z., Pourmohammad, A., Aliloo, A. A., Shahabivand, S., Hassanpouraghdam, M. B., Topçu, H. (2022). In vitro salinity stress mediates grass pea genotypes (*Lathyrus sativus* L.) responses. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 46, 340-351.

Musial, J. M., Basford K. E., & Irwin, J. A. G. (2002). Analysis of genetic diversity within Australian lucerne cultivars and implications for future genetic improvement. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53(6), 629-636.

Oksu, G., Kaya, M. D., & Atak, M. (2005). Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 29(4), 237-242.

Parida, A.K. & Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324-349.

Patto, M. V., Skiba, B., Pang E. C. K., Ochatt S. J., Lambein, F., & Rubiales, D. (2006). *Lathyrus* improvement for resistance against biotic and abiotic stresses: from classical breeding to marker assisted selection. *Euphytica*, 147, 133-147.

Pourfarhad, A., Nourmand Moayed, F., Aharizad, S. & Ashraf Jafari, A. (2009). Grouping of alfalfa ecotypes through multivariate analysis. *Journal of Agriculture Science*, 3, 1-13, (In Persian).

Ranganayakulu, G.S, Veeranagamallaiah, G., & Sudhakar, Ch. (2013). Effect of salt stress on osmolyte accumulation in two groundnut cultivars (*Arachis hypogaea L.*) with contrasting salt tolerance. *African Journal of Plant Science*, 12, 586-592.

Rauf, M., Munir, M., UI-Hassan, M., Ahmed, M. & Afzai, M. (2007). Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. *African Journal Biotechnology*, 8, 971-975.

Saadeghi-Azar, L., Madah Hoseini, Sh., Rahimi, A. & Mohammadi Mirik, A. A. (2014). Effect of salinity stress on some germination and vegetative growth indices of lentil genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 15, 107-117 (In Persisan). DOI: 10.22059/jci.2013.51370

Soltani, A. & Khodarahmpour, Z. (2016). Evaluation of alfalfa genotypes from tolerance to salinity stress via multivariate statistical methods. *Journal of Plant Production Science*, 1, 57-67 (In Persisan).

Tokarz, B., Wójtowicz, T., Makowski, W., Jędrzejczyk, R.J. & Tokarz, K.M. (2020). What is the difference between the response of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) to salinity and drought stress?—A physiological study. *Agronomy*, 10, 833.-843.

Tokarz, K.M., Wesołowski, W., Tokarz, B., Makowski, W., Wysocka, A., Jedrzejczyk, R.J., Chrabaszcz, K., Malek, K. & Kostecka-Gugała, A. (2021). Stem photosynthesis—a key element of grass pea (*Lathyrus sativus* L.) acclimatization to salinity. *Int. J. Mol. Sci*., 22, 685-699.

Vaezi, B., Mohtashami, R, Jozeyan, A, & Mirzaei, A. (2023). Evaluation of Genotype × Environment Interaction and Stability Analysis of Grain and Forage Yield of Grass Pea (*Lathyrus* sativa L.) Genotypes. *Journal of Crop Breeding*, 15(45), 183-193 (In Persian). DOI:10.52547/jcb.15.45.183

Wang, F., Chen, X., Chen, Q., Qin, X., & Li, Z. (2000). Determination of neurotoxin 3Noxaly1- 2-3-diaminopropionic acid and non-protein amino acids in *Lathyrus sativus* by precolumn derivatization with 1-fluoro-2, 4-dinitrobenzene. *Journal Chromatography*, 883, 113-118.

Zabihi-e-Mahmoodabad, R., Jamaati-e-Somarin, S. Khayatnezhad, M.& Gholamin, R. (2011). The study of effect salinity stress on germination and seedling growth in five different genotypes of wheat. *Advances in Environmental Biology*, 5(1), 177-179.