نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و سوم، شماره اول، ۱۳۹۵
http://jopp.gau.ac.ir

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های زالزالک براساس خصوصیات ریخت‌شناختی برگ و میوه

محسن مظفری[۱]، *جواد عرفانی‌مقدم[۲] و آرش فاضلی[۳]

[۱]دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه ایلام، [۲]استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه ایلام، [۳]استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه ایلام

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۱/۱۹

چکیده

سابقه و هدف: زالزالک یکی از میوه‌های جنگلی مناطق معتدله در سراسر جهان می‌باشد و از مهمترین گیاهان دارویی دوران باستان شناخته شده است که به‌عنوان یک داروی گیاهی برای درمان نارسایی قلبی و بیماری‌های قلبی عروقی در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف از این تحقیق، ارزیابی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی برخی از ژنوتیپ‌های زالزالک غرب و شمال کشور براساس صفات کمی و کیفی برگ و میوه به‌منظور تعیین فاصله ژنتیکی بین آن‌ها بود. همچنین شناسایی ژنوتیپ‌های مطلوب براساس ارزیابی صفات مختلف از نظر گیاه‌شناسی و باغبانی می‌تواند در حفظ ژرم‌پلاسم و اصلاح این محصول مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی بین ۳۰ ژنوتیپ زالزالک متعلق به چهار گونه مختلف، با مطالعه ۱۷ صفت ریخت شناختی مربوط به برگ و میوه صورت گرفت. نمونه‌های مورد بررسی از چند منطقه در غرب و شمال کشور ایران جمع‌آوری شدند. نمونه‌های برگ و میوه در زمان رسیدگی میوه از بخش‌های مختلف درخت به‌طور تصادفی جمع‌آوری گردیدند. برای ارزیابی صفات مرتبط با برگ از هر ژنوتیپ، ۳۰ برگ به‌طور تصادفی در سه تکرار انتخاب و صفات مربوط برای آن‌ها ثبت شد. برای ارزیابی صفات مرتبط با میوه از هر ژنوتیپ ۱۰ میوه به‌طور تصادفی در سه تکرار انتخاب و صفات مربوط برای آنها ثبت گردید.

*مکاتبه کننده: J.erfani@ilam.ac.ir

یافته‌ها: نتایج ارزیابی صفات ریخت شناختی نشان داد در برخی از صفات مانند وزن میوه، طول و سطح برگ، عمق شیار برگ، طول بذر و طول دمبرگ تنوع بالایی بین نمونه‌ها وجود دارد. نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای، ژنوتیپ‌ها را به دو گروه اصلی شامل گونه‌های *pontica* و *microphylla* و دو گونه دیگر یعنی گونه‌های *monogyna* و *pentagyna* تفکیک کرد. تجزیه همبستگی ساده بین صفات نشان داد همبستگی مثبتی بین برخی از صفات وجود دارد. نتایج مربوط به تجزیه عامل‌ها صفات را در پنج عامل اصلی قرار داد و در مجموع نزدیک به ۸۵ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. عامل اول و دوم که بیشتر مربوط به صفات میوه، بذر و برگ بود، نزدیک به ۵۵ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند. در تجزیه به عامل‌ها سطح برگ، طول دمبرگ و تعداد برگ در هر گره به‌همراه صفات مربوط به بذر و میوه مانند وزن بذر، طول بذر، درصد رطوبت و ماده خشک میوه جزء صفات مهم و تأثیرگذاری بودند که در عامل اول قرار گرفتند و برای ارزیابی ژنوتیپ‌های زالزالک مناسب هستند.

نتیجه‌گیری: نتایج کلی این تحقیق نشان داد تنوع زیادی در بین ژنوتیپ‌های زالزالک به لحاظ صفات کمی و کیفی میوه وجود دارد. همچنین وزن میوه به‌طور معنی‌داری در بین نمونه‌های زالزالک متنوع بود و برخی از ژنوتیپ‌های متعلق به گونه *pontica* دارای وزن میوه بالا بودند که می‌توان آن‌ها را به‌صورت تجاری کشت و یا در برنامه اصلاح این محصول برای دستیابی به نتاج مطلوب‌تر استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: زالزالک، گونه، تجزیه کلاستر، وزن میوه

مقدمه

میوه زالزالک به‌عنوان یک میوه جنگلی و دارویی، یکی از ذخایر ژنتیکی گیاهی در کشور ایران بوده که گسترش زیادی در سراسر ایران دارد. جنس زالزالک (*Crataegus* spp.) متعلق به تیره گل سرخ (Rosaceae) به‌صورت درختچه یا درختان کوچک با شاخه‌های خاردار رشد می‌کند. زالزالک گیاهی خزان‌دار، دارای گل‌های سفید و میوه‌های قرمز، نارنجی، زرد تا سیاه می‌باشد و تاکنون نزدیک به ۱۵۰ تا ۱۲۰۰ گونه در جهان شناسایی شده است و پراکنش آن‌ها عموماً در مناطق معتدل نیمکره شمالی است (٦). از این جنس در فلور ایران ۲۷ گونه (۲۲ گونه و ۵ هیبرید) گزارش شده است که از این تعداد ٤ گونه اندمیک، ۵ گونه نادر و ٤ گونه در حال انقراض می‌باشند (۱۰).

بسیاری از گونه‌ها و هیبریدهای زالزالک برای اهداف باغبانی از جمله فضای سبز به‌صورت درختان حاشیه خیابان مورد استفاده قرار می‌گیرند. گل‌ها، برگ‌ها و میوه خشک شده زالزالک به‌عنوان داروی خام معروف و مرسوم هستند (۲، ۸، ١٤ و ۱۵). یکی از مشکلات اساسی طبقه‌بندی در جنس زالزالک، ظهور تعداد زیادی از گونه‌های جدید در طول یک قرن گذشته است که توسط محققین علوم گیاه‌شناسی گزارش شده است. گونه‌های جدید در اثر دورگ‌گیری بین گونه‌ها (۱۸ و ۱۹)، ورود ژن (الحاق)، پلی‌پلوئیدی و یا آپومیکسی ایجاد شده‌اند که شناسایی دقیق بین گونه‌ها را دشوارتر می‌کند (٦ و ۱۳). با این حال در داخل این جنس، در برخی مواقع وجود صفات خاص ممکن است در داخل یک گونه وجود داشته باشد که شناسایی آن‌گونه را تسهیل می‌کند. به‌عنوان مثال می‌توان به گونه *C. monogyna* اشاره نمود که دارای برگ‌هایی با سطح بزرگ می‌باشد که از لحاظ طبقه‌بندی بین گونه‌ها بسیار قابل توجه است (٦).

بیگ‌محمدی و رحمانی (۲۰۱۱) تنوع ژنتیکی زالزالک در جنگل‌های شمال غرب ایران را با استفاده از نشانگر RAPD مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد. دامنه ضریب تشابه فاصله بالای ژنتیکی در میان گونه‌های این جنس وجود دارد (٤). با این حال، تنوع کم و شباهت ژنتیکی بالایی در حدود ۰/۵۷۵–۰/۷۲۸ برای زالزالک در جنگل‌های شمال غرب ایران نیز آشکار است. زالزالک در مناطق غربی و شمالی ایران دارای گونه‌های متعددی می‌باشد و در واقع این درخت یکی از پوشش‌های گیاهی مهم در شمال و غرب ایران به‌خصوص مناطق زاگرس می‌باشد که شناسایی ژنوتیپ‌های مطلوب و ارزیابی خویشاوندی بین آن‌ها می‌تواند در جهت اصلاح این میوه جنگلی برای دستیابی به نتاج یا ژنوتیپ‌هایی با وزن میوه بیشتر مؤثر باشد. هدف از این تحقیق، مطالعه خصوصیات ریخت‌شناختی برگ و میوه برخی از ژنوتیپ‌های زالزالک به‌منظور شناسایی ژنوتیپ‌های مطلوب برای کشت و کار آن‌ها به‌صورت باغ‌های تجاری و یا استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاح این درخت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گروه علوم باغبانی دانشگاه ایلام انجام شد که در آن تنوع ژنتیکی بین ۳۰ نمونه زالزالک از گونه *C. pontica*، *C. pentagyna*، *C. microphylla* و *C. monogyna* با صفات ریخت شناختی مربوط به برگ و میوه بررسی شد (جدول ۱). نمونه‌های مورد بررسی از چند منطقه در غرب کشور شامل شهرستان ایلام، کرمانشاه، سنندج و یک منطقه در شمال کشور جمع‌آوری شد. صفات مورد ارزیابی مربوط به برگ، میوه و بذر در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱- ژنوتیپ‌های مورد بررسی زالزالک و منطقه جمع‌آوری آن‌ها.

Table 1. Studied genotypes with their collection area.

گونه Species	منطقه جمع‌آوری Collection area	ژنوتیپ Genotype	گونه Species	منطقه جمع‌آوری Collection area	ژنوتیپ Genotype
C. monogyna	میش خاص ایلام Mishkhas-Ilam	16	*C. pontica*	دره ارغوان ایلام Arghvan Valley-Ilam	1
C. pontica	میش خاص ایلام Mishkhas-Ilam	17	*C. pontica*	دره ارغوان ایلام Arghvan Valley-Ilam	2
C. pontica	میش خاص ایلام Mishkhas-Ilam	18	*C. pontica*	دره ارغوان ایلام Arghvan Valley-Ilam	3
C. pontica	میش خاص ایلام Mishkhas-Ilam	19	*C. pontica*	دره ارغوان ایلام Arghvan Valley-Ilam	4
C. pontica	سنندج Sanandaj	20	*C. pontica*	دره ارغوان ایلام Arghvan Valley-Ilam	5
C. pontica	سنندج Sanandaj	21	*C. pontica*	شهرستان ملکشاهی Malekshahi city	6
C. pontica	سنندج Sanandaj	22	*C. pontica*	شهرستان ملکشاهی Malekshahi city	7
C. pontica	سنندج Sanandaj	23	*C. pontica*	شهرستان ملکشاهی Malekshahi city	8
C. pontica	کرمانشاه Kermanshah	24	*C. pontica*	شهرستان ملکشاهی Malekshahi city	9
C. pontica	کرمانشاه Kermanshah	25	*C. microphylla*	صالح‌آباد ایلام Salehabad-Ilam	10
C. pontica	کرمانشاه Kermanshah	26	*C. pontica*	صالح‌آباد ایلام Salehabad-Ilam	11
C. pontica	کرمانشاه Kermanshah	27	*C. pontica*	صالح‌آباد ایلام Salehabad-Ilam	12
C. pentagyna	شهرستان بابل Babol city	28	*C. pontica*	صالح‌آباد ایلام Salehabad-Ilam	13
C. pentagyna	شهرستان بابل Babol city	29	*C. pontica*	صالح‌آباد ایلام Salehabad-Ilam	14
C. pontica	هانیوان- ایلام Hanivan-Ilam	30	*C. pontica*	میش خاص ایلام Mishkhas-Ilam	15

برای ارزیابی صفات مرتبط با برگ از هر ژنوتیپ ۳۰ برگ به‌طور تصادفی در سه تکرار انتخاب و صفات مربوط برای آن‌ها ثبت شد. برای ارزیابی صفات مرتبط با میوه از هر ژنوتیپ ۱۰ میوه به‌طور تصادفی در سه تکرار انتخاب و صفات مربوط برای آن‌ها ثبت شد. برای اندازه‌گیری درصد مواد جامد محلول ابتدا توسط دستگاه آب میوه‌گیری، از چند نمونه میوه عصاره تهیه شد و درصد مواد جامد محلول عصاره با استفاده از دستگاه رفرکتومتر ثبت گردید. با توجه به مقدار عصاره پایین میوه زالزالک و نبود عصاره کافی مقدار اسید برآورد نشده است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel و SPSS صورت گرفت. شاخص تنوع، نسبتی از انحراف معیار هر صفت بر میانگین همان صفت در کل جمعیت می‌باشد که مقدار آن برآورد شد (۲۱). برای ثبت همبستگی و تجزیه عامل‌ها با نرم‌افزار SPSS از روش چرخش عامل‌ها استفاده شد. در هر عامل اصلی و مستقل ضرایب عاملی ۰/۵ به بالا معنی‌دار در نظر گرفته شدند. همچنین تجزیه کلاستر با روش وارد (۱۹۶۳) و محاسبه فواصل بعد از استاندارد کردن داده‌ها انجام گرفت (۲۵).

جدول ۲- صفات کمی و کیفی مربوط به برگ و میوه در بررسی تنوع ژنوتیپ‌های زالزالک.

Table 2. Quantitative and qualitative characteristics of the leaves and fruit for genetic diversity of hawthorn genotypes.

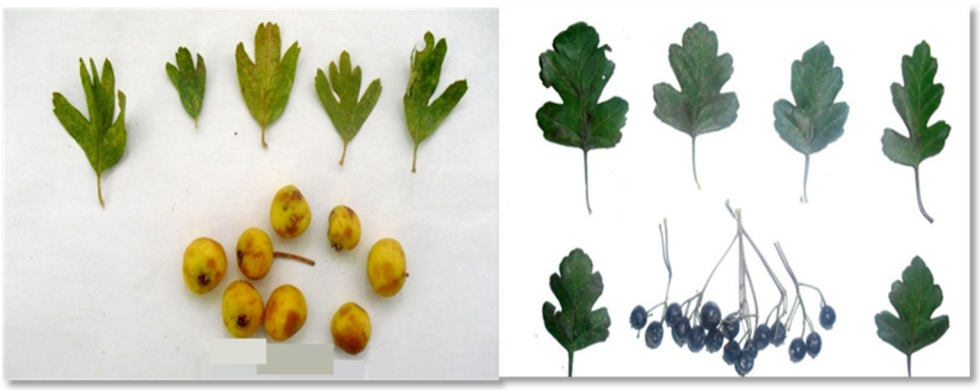
واحد Unit	صفات Traits	واحد Unit	صفات Traits
سانتی‌متر Centimeter	۱۰- قطر میوه Fruit diameter	سانتی‌متر Centimeter	۱- طول برگ Leaf length
سانتی‌متر Centimeter	۱۱- طول دم میوه Length of fruit peduncle	سانتی‌متر Centimeter	۲- عرض برگ Leaf width
درجه بریکس °Brix	۱۲- مواد جامد محلول Total soluble solids	سانتی‌متر Centimeter	۳- سطح برگ Leaf area
– -	۱۳- تعداد بذر در میوه Seed number of fruit	سانتی‌متر Centimeter	٤- طول دمبرگ Petiole length
گرم Gram	١٤- وزن بذر Seed weight	سانتی‌متر Centimeter	٥- عمق شیار برگ Depth of leaf sinus
سانتی‌متر Centimeter	١٥- طول بذر Seed length	– -	٦- تعداد لوب در برگ Number of Lobe in the leaf
درصد Percent	١٦- مقدار رطوبت میوه Fruit moisture content	– -	٧- تعداد برگ در هر گره Number of leaf in the node
درصد Percent	١٧- مقدار ماده خشک میوه Fruit dry matter	گرم Gram	٨- وزن میوه Fruit weight
		سانتی‌متر Centimeter	٩- طول میوه Fruit length

نتایج و بحث

مقادیر حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و شاخص تنوع فنوتیپی کل ژنوتیپ‌ها برای هر یک از صفات در جدول ۳ آمده است. در بین صفات مورد بررسی، بیشترین ضریب تنوع مربوط به صفات مرتبط به میوه و برگ از جمله وزن میوه، طول برگ و سطح برگ بود در حالی‌که کمترین ضریب تنوع در صفاتی مانند درصد مواد جامد محلول، تعداد لوب در برگ و طول میوه مشاهده شد. همچنین صفت عمق شیار برگ از تنوع بالایی برخوردار بود. گزارش شده است صفت برگ و وجود گوشوارک در برگ، ۲ ویژگی مهم در زالزالک است که دارای تنوع بسیار بوده و در تفکیک ژنوتیپ‌ها و گونه‌های زالزالک مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷). اندازه میوه در بین گونه‌های زالزالک متنوع بود و در بین کل ژنوتیپ‌ها، کمترین و بیشترین وزن میوه به‌ترتیب مربوط به نمونه ۲ شمال از گونه ***pentagyna*** (۰/۳۳ گرم) و ژنوتیپ شماره ۱۵ از گونه ***pontica*** (۳/۵۷ گرم) بود که از باغ‌های میش ایلام خاص جمع‌آوری شده بود (شکل ۱).

وزن میوه یک صفت کمی است که تحت تأثیر ویژگی‌های ژنتیکی گیاه قرار دارد. وجود تعداد بذر کم و همچنین اندازه کوچک‌تر بذور در نمونه‌های شمال ایران می‌تواند یکی از علل اصلی کوچکتر بودن میوه در گونه ***pentagyna*** نسبت به گونه ***pontica*** باشد. در بسیاری از درختان میوه وجود بذر در میوه و اندازه آن به‌دلیل تولید برخی از ترکیبات هورمونی مانند جیبرلین‌ها به‌طور مستقیم در وزن میوه مؤثر بوده و باعث افزایش وزن آن می‌شود. طول و عرض میوه در گونه ***monogyna*** و ***pentagyna*** نسبت به دو گونه دیگر کمتر بوده است. در گزارشی که توسط اوبسو و هرا در سال ۱۹۹٤ منتشر شده است قطر میوه را در گونه ***monogyna*** در محدوده ۷–۱۰ میلی‌متر گزارش کردند که نسبت به گونه ***pontica*** کمتر بوده است (۱۷). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق با نتایج اسپارک و مارتین (۱۹۹۹) که وزن میوه را در گونه ***monogyna*** در محدوده ۰/۲۱ تا ۰/۳٤ گرم گزارش کردند مطابقت داشت (۲۳). وزن میوه در گونه ***monogyna*** در این تحقیق ۰/۳۵ گرم برآورد شده است که به‌همراه ۲ نمونه شمال دارای کمترین وزن میوه در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بود. تورکوگلو و همکاران (۲۰۰۵) متوسط وزن میوه را در بین ژنوتیپ‌های چند گونه زالزالک از ۰/۲۹ گرم تا ٤/۲۱ گرم گزارش کردند (۲٤). بالتا و همکاران (۲۰۰٦) با مطالعه برخی از گونه‌های زالزالک نشان دادند متوسط وزن میوه در گونه ***tanacetifolia*** بسیار بالا (٤/۹۹ گرم)، و بعد از آن به‌ترتیب گونه‌های ***orientalis*** (۳/٤۸ گرم)، ***pontica*** (۳/۳۱ گرم)، ***aronia*** (۲/٦۳ گرم) و ***meyeri*** (۱/۳٦ گرم) قرار گرفتند (۳).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق می‌تواند از لحاظ باغبانی دارای اهمیت باشد. با توجه به این‌که گونه‌های مختلفی از زالزالک در مناطق مختلف ایران به‌طور خودرو وجود دارد، شناسایی ژنوتیپ‌هایی که به لحاظ صفات مرتبط با میوه از جمله وزن میوه، تعداد کمتر بذر در میوه و یا سایر صفات کیفی شرایط بهتری داشته باشند دارای اهمیت بوده و می‌توان آن‌ها را اهلی و کشت و کار آن‌ها را گسترش و یا در برنامه اصلاحی این گیاه از آن‌ها استفاده نمود. با توجه به این‌که نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مربوط به نمونه‌های طبیعت می‌باشد، اگر نمونه‌های برتر را براساس صفات میوه انتخاب و به‌صورت رویشی تکثیر و به‌صورت کنترل شده در باغ کشت و مدیریت گردد نتایج بهتری از لحاظ تولید میوه‌هایی با اندازه و وزن بیشتر به دنبال خواهد داشت. ارسیسلی (۲۰۰٤) گزارش کرد بالا بودن وزن میوه زالزالک یکی از متغییرهای مهم در برنامه اصلاحی زالزالک می‌باشد (۸). در مطالعه‌ای که در کشور ترکیه روی تعدادی از ژنوتیپ‌های زالزالک صورت گرفت، درصد قند میوه‌ها از ۱۱/٦ تا ۲٤ درصد متغیر بود (۳). نتایج این تحقیق نشان داد درصد قند در محدوده ۲۱/۲ تا ۲۷/۵ درصد در بین ژنوتیپ‌ها متنوع است. بیگنامی و همکاران (۲۰۰۳) وزن میوه را در ۵ نمونه از گونه *azarolus* در حدود ۲/۹ تا ۷/۹ گرم گزارش کردند در حالی‌که درصد مواد جامد محلول در محدوده ۱۳/٦ تا ۱۸/۹ درصد بود (۵). تفاوت در نتایج می‌تواند به‌خاطر خصوصیات ژنتیکی گیاه و یا شرایط محیطی باشد که روی رشد گیاه و خصوصیات میوه تأثیر به‌سزایی دارد.



شکل ۱- نمای شماتیک ۲ گونه زالزالک، راست (*C. pentagyna*) و چپ (*C. pontica*)

Figure 1. Schematic view of two hawthorn species, right (*C. pentagyna*) and left (*C. pontica*).

جدول ۳- بیشینه، کمینه، میانگین، انحراف معیار و شاخص تنوع فنوتیپی صفات ارزیابی شده در زالزالک.

Table 3. The max., min., mean, standard deviation and phenotypic diversity index of evaluated traits in hawthorn.

شاخص تنوع فنوتیپی درصد Phenotypic variation Index (%)	انحراف معیار S.d.	میانگین Mean	بیشترین Max.	کمترین Min.	صفت Trait
53.98	1.89	3.51	13.03	2.24	طول برگ (سانتی‌متر) Leaf length (Centimeter)
24.72	0.71	2.87	4.57	1.33	عرض برگ (سانتی‌متر) Leaf width (Centimeter)
64.69	2.88	4.45	14.2	1	سطح برگ (سانتی‌متر) Leaf area (Centimeter)
33.78	0.34	1.01	2	0.62	طول دمبرگ (سانتی‌متر) Petiole length (Centimeter)
47.51	0.66	1.4	4.69	0.65	عمق شیار برگ (سانتی‌متر) Depth of leaf sinus (Centimeter)
16.33	0.60	3.68	5.27	3	تعداد لوب در برگ Number of Lobe in the leaf
39.64	1.09	2.75	4.7	1	تعداد برگ در هر گره Number of leaf in the node
17.14	0.22	1.31	1.68	0.84	قطر میوه (سانتی‌متر) Fruit diameter (Centimeter)
13.87	0.16	1.15	1.49	0.86	طول میوه (سانتی‌متر) Fruit length (Centimeter)
24.41	0.18	0.76	1.14	0.39	طول دم میوه (سانتی‌متر) Length of fruit peduncle (Centimeter)
87.03	1.01	1.14	3.57	0.33	وزن میوه (گرم) Fruit weight (Gram)
7.43	1.74	23.5	27.5	21.2	مواد جامد محلول (درجه بریکس) Total soluble solids (ºBrix)
18.49	0.42	2.27	2.9	1.1	تعداد بذر در میوه Seed number of fruit
30.02	0.04	0.13	0.21	0.07	وزن بذر (گرم) Seed weight (Gram)
38.77	0.29	0.76	1.56	0.56	طول بذر (سانتی‌متر) Seed length (Centimeter)
20.62	11.73	56.88	71.1	31.84	مقدار رطوبت میوه (درصد) Fruit moisture content (Percent)
27.20	11.73	43.11	68.16	28.9	مقدار ماده خشک میوه (درصد) Fruit dry matter (Percent)

همبستگی ساده بین صفات: نتایج همبستگی بین صفات مورد بررسی در جدول ٤ آمده است. همبستگی بالای بین صفات این امکان را ایجاد می‌کند تا از طریق اندازه‌گیری هر یک از این صفات به وضعیت صفت دوم پی برد. صفات مرتبط با برگ از جمله طول پهنک و عرض پهنک دارای همبستگی منفی با صفات مرتبط با میوه مانند وزن میوه و قطر میوه بود (جدول ٤). وزن میوه همبستگی مثبتی با مقدار قند داشت. بیشتر ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده در این تحقیق از مناطق غرب کشور بوده است که این ژنوتیپ‌ها دارای وزن میوه بیشتری نسبت به دو ژنوتیپ شمال بودند. اگر همبستگی مثبتی بین دو صفت وجود داشته باشد برنامه اصلاحی برای یک گیاه تقریباً آسان‌تر است. همچنین همبستگی مثبتی بین درصد ماده خشک میوه با صفات مرتبط با برگ مانند طول، عرض و سطح برگ وجود داشت در صورتی‌که بین درصد ماده خشک میوه با صفات مربوط به میوه مانند وزن، طول و قطر میوه رابطه منفی وجود داشت. درصد مواد جامد محلول همبستگی مثبتی با درصد ماده خشک میوه داشت در صورتی‌که با درصد رطوبت میوه این همبستگی منفی بود. به‌نظر می‌رسد هر چه رطوبت میوه بیشتر باشد درصد ترکیبات قندی کمتری در میوه سنتز می‌شود و یا وجود رطوبت بیشتر در بافت میوه باعث رقیق شدن ترکیبات قندی در میوه می‌شود و این در مورد ژنوتیپ‌های شمال صادق است.

جونز و اوانس (١٩٩٤) با مطالعه برخی از ژنوتیپ‌های متعلق به گونه *monogyna* همبستگی بالایی را بین برخی از صفات مانند عرض برگ با طول برگ و طول دمبرگ گزارش کردند. همچنین نتایج آن‌ها نشان داد برخی از خصوصیات رویشی دارای همبستگی بالا و معنی‌داری با هم هستند (١١). در این تحقیق همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عرض برگ با طول دمبرگ مشاهده شد. نتایج نشان داد ژنوتیپ‌های متعلق یه گونه *pontica* و *microphylla* دارای سطح برگ کوچک و کمتری در مقایسه با دو گونه *monogyna* و *pentagyna* بودند. همچنین در دو گونه *monogyna* و *pentagyna* طول دمبرگ بسیار طویل‌تر از دو گونه *pontica* و *microphylla* بود که بیانگر همبستگی بالا بین سطح برگ با طول دمبرگ و عرض برگ می‌باشد (جدول ٤).

جدول ٤- همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های زالزالک.

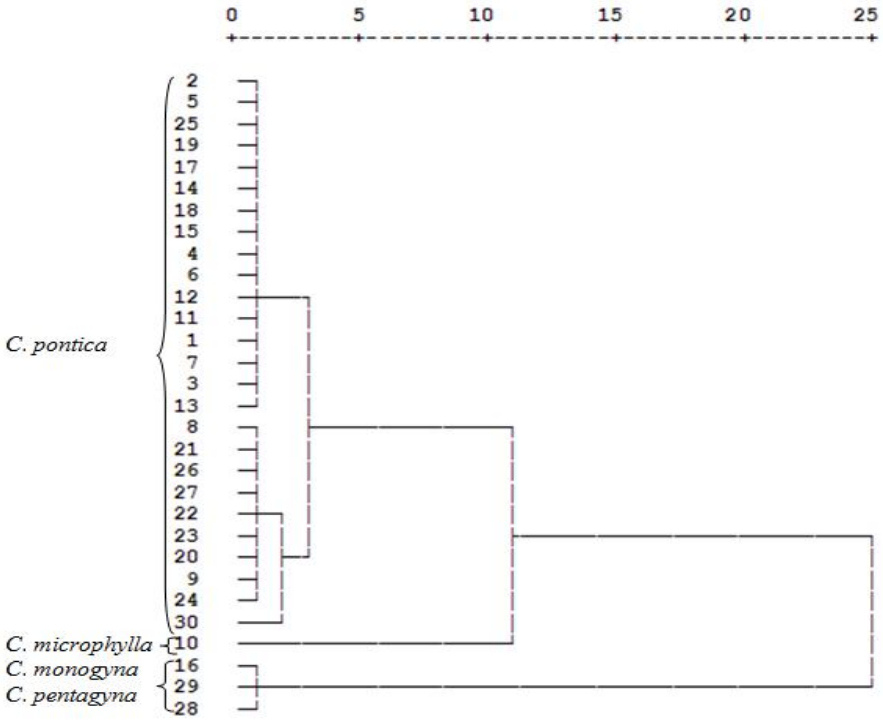
Table 4. Simple correlation among studied characters of hawthorn genotypes.

صفات Traits	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	سطح برگ Leaf area	طول دمبرگ Petiole length	عمق شیار برگ Depth of leaf sinus	تعداد لوب در برگ Number of Lobe in the leaf	تعداد برگ در هر گره Number of leaf in the node	قطر میوه Fruit diameter	طول میوه Fruit length	طول دم میوه Length of fruit peduncle	وزن میوه Fruit weight	مواد جامد محلول Total soluble solids	تعداد بذر در میوه Seed number of fruit	وزن بذر Seed weight	طول بذر Seed length	مقدار رطوبت میوه Fruit moisture content	مقدار ماده خشک میوه Fruit dry matter
طول برگ Leaf length	1																
عرض برگ Leaf width	0.18	1															
سطح برگ Leaf area	0.19	0.88**	1														
طول دمبرگ Petiole length	0.14	0.73**	0.84**	1													
عمق شیار برگ Depth of leaf sinus	-0.01	0.21	0.10	0.25	1												
تعداد لوب در برگ Number of Lobe in the leaf	-0.13	0.45*	0.28	0.14	0.09	1											
تعداد برگ در هر گره Number of leaf in the node	-0.16	-0.53*	-0.58**	-0.47*	-0.01	-0.09	1										
قطر میوه Fruit diameter	-0.12	-0.47*	-0.58*	0.64**	0.09	-0.21	0.41	1									
طول میوه Fruit length	-0.27	-0.35	-0.49*	-0.52*	0.12	-0.17	0.35	0.93**	1								
طول دم میوه Length of fruit peduncle	-0.21	0.15	0.22	0.36	0.28	-0.01	-0.29	-0.22	0.05	1							
وزن میوه Fruit weight	-0.07	-0.11	-0.10	-0.12	0.16	-0.14	0.48	0.87**	0.93**	-0.12	1						
مواد جامد محلول Total soluble solids	-0.24	0.29	0.20	0.36	0.23	0.47	0.12	0.09	0.18	0.26	0.0	1					
تعداد بذر در میوه Seed number of fruit	-0.78**	0.27	0.26	0.37	0.20	0.19	0.13	-0.01	0.14	0.26	0.22	0.51*	1				
وزن بذر Seed weight	0.13	-0.52*	0.58*	-0.42	0.13	-0.09	0.60**	0.30	٠0.33	0.24	-0.32	0.13	-0.25	1			
طول بذر Seed length	0.16	0.77**	٠0.91**	0.91**	0.01	0.19	-0.61**	-0.77**	-0.67**	-0.57*	0.28	0.14	0.16	0.50*	1		
مقدار رطوبت میوه Fruit moisture content	0.0	-0.72**	-0.76**	-0.78**	-0.72**	-0.27	0.65**	0.47*	0.26	0.18	-0.41	-0.35	-0.21	0.39	-0.77**	1	
مقدار ماده خشک میوه Fruit dry matter	0.0	0.72**	0.76**	0.78**	0.72**	0.27	-0.65**	-0.47*	-0.26	-0.18	0.41	0.35	0.21	-0.39	0.77**	-1	1

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد، * معنی‌دار در سطح ۵ درصد

** Significant at 1% probability level, * Significant at 5% probability level

تجزیه خوشه‌ای: نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (۱۹۶۳) (۲۵)، با استفاده از نرم‌افزار SPSS ژنوتیپ‌ها را در فاصله ۲۵ اقلیدسی به دو گروه اصلی شامل گونه‌های ***pontica*** و ***microphylla*** و دو گونه دیگر یعنی گونه‌های ***monogyna*** و ***pentagyna*** تفکیک کرد (شکل ۲). نتایج نشان داد دو ژنوتیپ ۲۸ و ۲۹ که از گونه ***pentagyna*** و از شمال کشور جمع‌آوری شده است، بیشترین مقدار تشابه را با گونه ***monogyna*** دارند و این سه ژنوتیپ که به‌طور مجزا مشخص شدند، دارای ویژگی‌های بارزی در برگ و میوه بودند. نمونه‌های شمال به لحاظ صفات برگ به‌همراه گونه ***monogyna*** دارای برگ‌های بزرگتری نسبت به گونه ***pontica*** بودند. ژنوتیپ‌های متعلق به گونه ***pontica*** در یک گروه بزرگ قرار گرفتند که این گروه هم به چند شاخه تفکیک شده است. در یک گروه کوچک ژنوتیپ شماره ۱۰ متعلق به گونه ***microphylla*** که از منطقه سرطاف جمع‌آوری شده بود از گونه ***pontica*** تفکیک شده است. این گونه دارای ویژگی‌های بارزی مانند فرم درختچه‌ای، تعداد زیاد خار و برگ ریز نسبت به گونه‌های دیگر مورد بررسی می‌باشد.



شکل ۲- گروه‌بندی ۳۰ ژنوتیپ زالزالک بر اساس روش Ward (۱۹۶۳) با استفاده از صفات مورفولوژیکی.

Figure 2. Cluster analysis of 30 hawthorn genotypes based on ward method with morphological characters.

ارجمندی و همکاران (۲۰۰۹) با مطالعه روی برخی از گونه‌های زالزالک گزارش کردند گونه *microphylla* از لحاظ رویشی دارای فرم درختچه‌ای، خار فراوان و طول و عرض کوچکتر نسبت به سایر گونه‌های مورد بررسی بوده است (۱). این محقیقن گونه *microphylla* را در دو رقم گیاه‌شناسی شامل *C. microphylla* var. *microphylla* و *C. microphylla* var. *dolichocarpa* قرار دادند اما کریستنسن (۱۹۹۲) وجود دو رقم گیاه‌شناسی در این‌گونه را رد کرده و همه را در گونه *microphylla* قرار داد (٦). با این حال قسمت عمده ژنوتیپ‌ها متعلق به گونه *pontica* بودند که با توجه به پراکنش جغرافیایی و منطقه‌ای در دو شاخه جداگانه قرار گرفتند. نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه سنندج و کرمانشاه به‌طور بارزی از بقیه ژنوتیپ‌ها که از استان ایلام جمع‌آوری شده بودند تفکیک شدند. زالزالک گیاهی دگرگشن و هتروزیگوت بوده که تنوع زیادی در آن وجود دارد.

کاتایاما و اومتسو (۲۰۰٦) بیان کردند هتروزیگوتی بالا میان ژنوتیپ‌ها، تنوع شرایط اقلیمی و وجود هیبرید میان ارقام از جمله مواردی است که باعث تنوع میان ژنوتیپ‌های مختلف می‌گردد (۱۲). نتایج نشان می‌دهد که دندروگرام حاصله به‌طور واضحی با منشأ جغرافیایی و اجداد ژنوتیپ‌ها همخوانی دارد. به‌طوری که مشاهده می‌شود در اکثر موارد نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق خاص به‌طور مشخصی در یک دسته جدا از سایر نمونه‌ها قرار گرفته‌اند. البته برخی نمونه‌ها مربوط به یک منطقه در کنار سایر نمونه‌های مناطق دیگر قرار گرفتند که به‌نظر می‌رسد اجداد مشترکی با آن‌ها دارند. در بسیاری از مواقع تنوع بالا در جمعیت‌های زالزالک ممکن است به‌دلیل دورگ‌گیری طبیعی، تنوع دانه گرده و یا عواملی باشد که باعث ایزوله شدن جمعیت‌ها می‌گردد (۲۰). در این تحقیق تنوع خوبی میان نمونه‌های جمع‌آوری شده یک منطقه با مناطق دیگر وجود داشت. نتایج تحقیقات برخی از محققین، نشان داد عواملی که باعث تفکیک مناطق و به‌دنبال آن باعث جداسازی جمعیت‌ها از یکدیگر می‌گردد، جریانات ژنی را بین جمعیت‌های مناطق کاهش داده که در نتیجه آن باعث ایجاد تنوع بالا در بین جمعیت‌ها می‌شود که این حالت در کشور ایتالیا بین جمعیت‌های گونه *C. monogyna* دیده شده است (۹). گزارش‌هایی وجود دارد که دو عامل هیبریداسیون و آپومیکسی در بین ژنوتیپ‌های زالزالک از عوامل مؤثر در وجود تنوع بالا بین جمعیت‌های زالزالک می‌باشد (۱۸ و ۱۹). در مجموع گروه‌بندی ارقام با استفاده از صفات ریخت شناسی تا حدی برای استفاده در کارهای اصلاحی راه گشا می‌باشد و با استفاده از روش‌های ملکولی در کنار روش‌های ریخت شناختی و کلاسیک، بررسی‌های انجام شده از اعتبار بیشتری برخوردار خواهد شد، به طوری‌که می‌توان علاوه‌بر صفات مطلوب ریخت شناسی، از

لحاظ ساختار ژنوم والدین و نتاج هم اطلاعات جامع‌تری جمع کرد تا برنامه‌ها بهتر و هدفمندتر طراحی شوند.

تجزیه به عامل‌ها: تجزیه به عامل‌ها روشی برای کاهش داده‌ها است. بدین صورت که صفات در چندین گروه با توجه به سهم‌شان در توجیه واریانس کل طبقه‌بندی می‌شوند. در این مطالعه، صفات در پنج عامل اصلی قرار گرفتند و در مجموع نزدیک به ۸۵ درصد از واریانس کل را توجیه کردند (جدول ۵). سه عامل اول که بیشتر مربوط به صفات میوه و برگ بود، نزدیک به ٦٧ درصد از واریانس کل را توجیه نمودند. عامل اول که دارای هشت صفت بود، نزدیک به ۳۵ درصد از واریانس را توجیه کرد و شامل درصد ماده خشک و رطوبت میوه، صفات مربوط به بذر و صفات مربوط به برگ مانند تعداد برگ خارج شده از هر گره، طول، عرض و سطح برگ بود.عامل دوم نیز ۱۹/۳۹ درصد از واریانس کل را توجیه نمود که شامل چهار صفت بود و به‌ترتیب مربوط به صفات مهم میوه مانند طول، وزن و قطر میوه و قطر بذر بود. عامل سوم نیز در برگیرنده دو صفت بود و تنها ۱۲/٦۵ درصد از واریانس کل را توجیه کرد و شامل صفات تعداد لوب در برگ و درصد مواد جامد محلول در میوه بود. نتایج به‌دست آمده از این بخش نشان می‌دهد صفات کمی برگ و میوه نقش بیشتری در توجیه واریانس زالزالک در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه داشتند.

سرکه و همکاران (۲۰۱۱) با مطالعه ۱۵ ژنوتیپ زالزالک از گونه‌های *aronia* و *monogyna* بر اساس ۱۵ صفت ریخت‌شناسی نشان دادند سه عامل اول به‌ترتیب ٤٦، ۲۱ و ١٤ درصد از کل واریانس (۸۱ درصد) را توجیه کردند (۲۲). نتایج آن‌ها نشان داد طول و عرض میوه از صفات مهم در عامل اول بودند در حالی‌که صفات مربوط به برگ مانند سطح برگ و همچنین مواد جامد محلول در عامل دوم و سوم قرار گرفتند. ارزیابی تنوع ژنتیکی بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی یکی از راه‌های مؤثر برای بررسی تنوع ژنتیکی و شناسایی گونه‌ها در بین ژنوتیپ‌های زالزالک می‌باشد. در گزارشی که توسط نونز- کولین و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی ژنوتیپ‌های زالزالک انجام شد، صفات مرتبط با برگ را یکی از عوامل مؤثر برای مقایسه بین ژنوتیپ‌ها ذکر کردند (١٦). نتایج این مطالعه نشان داد، خصوصیات ریخت‌شناسی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌ها و گونه‌های زالزالک بسیار مفید بوده و به‌همراه ارزیابی ژنتیکی با استفاده از مارکرهای مولکولی نتایج دقیق‌تر به‌دست آید.

جدول ۵- مقادیر ویژه، واریانس نسبی، واریانس تجمعی و ضرایب عاملی صفات برای ۵ عامل اصلی در زالزالک.

Table 5. Eigen values, variance, cumulative variance and factors coefficients for 5 major components in hawthorn.

عامل ۵ PC5	عامل ٤ PC4	عامل ۳ PC3	عامل ۲ PC2	عامل ۱ PC1	صفات Traits
0.06	-0.81*	-0.13	-0.10	0.18	طول برگ Leaf length
0.06	-0.11	0.39	-0.23	0.77*	عرض برگ Leaf width
0.01	-0.07	0.27	-0.36	0.82*	سطح برگ Leaf area
0.30	0.02	0.29	-0.33	0.78*	طول دمبرگ Petiole length
0.91*	0.0	0.12	0.05	0.01	عمق شیار برگ Depth of leaf sinus
-0.04	0.11	0.80*	-0.16	0.17	تعداد لوب در برگ Number of Lobe in the leaf
0.05	0.06	0.34	0.21	-0.80*	تعداد برگ در هر گره Number of leaf in the node
-0.0	-0.06	-0.09	0.84*	-0.46	قطر میوه Fruit diameter
0.07	0.09	-0.0	0.94*	-0.27	طول میوه Fruit length
0.45	0.53*	-0.17	-0.0	0.46	طول دم میوه Length of fruit peduncle
0.02	0.19	0.16	0.93*	-0.16	وزن میوه Fruit weight
0.22	0.12	0.77*	0.29	0.23	مواد جامد محلول Total soluble solids
0.16	0.63*	0.46	0.25	0.30	تعداد بذر در میوه Seed number of fruit
0.19	-0.38	0.04	0.15	-0.71*	وزن بذر Seed weight
0.05	-0.01	0.17	-0.51*	0.80*	طول بذر Seed length
-0.10	-0.06	-0.23	0.08	-0.91*	مقدار رطوبت میوه Fruit moisture content
0.10	0.06	0.23	-0.08	0.91*	مقدار ماده خشک میوه Fruit dry matter
1.29	1.61	2.15	3.29	6.09	مقادیر ویژه Eigen value
7.64	9.51	12.65	19.39	35.85	واریانس (درصد) Variance (%)
85.05	77.41	67.90	55.24	35.85	واریانس تجمعی (درصد) Cumulative variance (%)

* مقدار عامل بالای ۰/۵ معنی‌دار

Factors coefficients are significant > 0.5

نتیجه‌گیری کلی

نتایج کلی این پژوهش نشان داد تنوع زیادی در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی براساس خصوصیات برگ و میوه وجود دارد. از آنجایی که میوه زالزالک در ایران به‌صورت تجاری کشت نمی‌شود نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند معرفی کننده مواد خام و اولیه در جهت اصلاح این محصول برای دستیابی به جمعیت‌هایی که دارای وزن میوه بالاتر باشند مورد استفاده قرار گیرد. این نتایج همچنین برای شناسایی ژنوتیپ‌هایی که به لحاظ صفات مرتبط با میوه از جمله وزن میوه، تعداد کمتر بذر در میوه و یا سایر صفات کیفی شرایط بهتری داشته باشند دارای اهمیت بوده و می‌توان آن‌ها را اهلی و کشت و کار آن‌ها را گسترش داد.

سپاسگزاری

هزینه‌های این پژوهش از اعتبارات پژوهشی دانشگاه ایلام تأمین شده است که نگارندگان بدین وسیله مراتب قدرانی خود را اعلام می‌دارند.

منابع

1. Arjmandi, A.A., Nazeri, V., Ejtehadi, H., and Jouharchi, M.R. 2009. Revision of the genus *Crataegus* in the East and Northeast of Iran. Rostaniha. 10: 1-36.
2. Bahorun, T., Aumjaud, E., Ramphul, H., Rycha, M., Luximon-Ramma, A., Trotin, F., and Aruoma, O.I. 2003. Phenolic constituents and antioxidant capacities of *Crataegus monogyna* (Hawthorn) callus extracts. Nahrung Food. 47: 191–198.
3. Balta, M.F., Celik, F., Turkoglu, N., Ozrenk, K., and Ozgokce, F. 2006. Some fruit traits of hawthorn (*Crataegus* spp.) genetic resources from Malatya, Turkey. Res. J. Agric. Biol. Sci. 2: 531-536.
4. Beigmohamadi, M., and Rahmani, F. 2011. Genetic variation in hawthorn (*Crataegus* spp.) using RAPD markers. Afr. J. Biotechnol. 10: 7131-7135.
5. Bignami, C., Paolocci, M., Scossa, A., and Bertazza, G. 2003. Preliminary evaluation of nutritional of medicinal components of *Crataegus azarolus* fruits. Acta Hort. 597: 95-100.
6. Christensen, K.I. 1992. Revision of *Crataegus*sect.*Crataegus* and *Nothosect*. Crataeguineae (Rosaceae-Maloideae) in the Old World. Systematic Botany Monographs 35. Michigan: The American Society of Plant Taxonomists. Pp: 1-199.
7. Donmez, A.A. 2004. The Genus *Crataegus* L. (Rosaceae) with Special Reference to Hybridisation and Biodiversity in Turkey. Turk J Bot. 28: 29-37.

8. Ercisli, S. 2004. A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. Genet. Resour. Crop Evol. 51: 419-435.
9. Ferrazzini, D., Monteleone, I., and Belletti P. 2008. Small-scale genetic diversity in one seed hawthorn (*Crataegus monogyna* Jaq.). Eur. J. For. Res. 127: 407–414.
10. Jalili, A., and Jamzad, Z. 1999. Red data book of Iran. Research institute of forests and Rangelands, Tehran, Iran.
11. Jones, A.T., and Evans, P.R. 1994. A comparison of the growth and morphology of native and commercially obtained continental European *Crataegus monogyna* Jacq. (Hawthorn) at an upland site. Watsonia 20: 97-103.
12. Katayama, H., and Uematsu, C. 2006. Pear (*Pyrus* species) genetic resources in Iwate, Japan. Genet. Resour. Crop Evol. 53: 483-498.
13. Lippert, W. 1995. *Crataegus*. Illustrierte Flora von Mitteleuropa. 4: 426-445.
14. Mari, A., Vera, V., Juan, A., Montoya, S., Graciano, C., Emma, G. and Ramos, R. 2007. Extraction thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit. LWT. 40: 278-284.
15. Mirali, N., Al-Odat, M., Haider, N., and Nabulsi, I. 2011. The Genus *Crataegus* L.: An Ecological and Molecular Study. Russ. J. Genet. 47: 26–34.
16. Nunez-Colin, C.A., Nieto-Angel, R., Barrientos-Priego, A.F., Sahagun-Castellanos, J., Segura, S., and Gonzalez-Andres, F. 2008. Variability of three regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from central and southern Mexico. Genet. Resour. Crop Evol. 55: 1159–1165.
17. Obeso, J.R., and Herrera, C.M. 1994. INTER- and intraspecific variation in fruit traits in co-occurring vertebrate-dispersed plants. Int. J. Plant Sci. 155: 382-387.
18. Phipps, J.B. 1998. *Crataegus* (Maloideae, Rosaceae) of the Southeastern United States: 1. Introduction and Series Aestivales, J. Arnold Arboretum. 69: 401–431.
19. Phipps, J.B. 2005. A review of hybridization in north American hawthorns – Another look at 'the Crataegus problem'. Annals Miss. Bot. Gard. 92: 113–126.
20. Rajeb, C.H., Messaoud, C.H., Chograni, H., Bejaoui, A., Boulila, A., Rejeb, M.N., and Boussaid, M. 2010. Genetic diversity in Tunisian *Crataegus azarolus* L. var. aronia L. populations assessed using RAPD markers. Ann. For. Sci. 67: 1-8.
21. Reed, G.F., Lynn, F., and Meade, B.D. 2002. Use of coefficient of variation in assessing variability of quantitative assays. Clin Diagn Lab Immunol. 9: 1235-1239.
22. Serçe, S., Şimşek, O., Toplu, C., Kamiloğlu, O., Çalişkan, O., and Gündüz, K. 2011. Relationships among *Crataegus* accessions sampled from Hatay, Turkey, as assessed by fruit characteristics and RAPD. Genet. Resour. Crop Evol. 58: 933-42.

23. Sparks, T.H., and Martin, T. 1999. Yields of hawthorn *Crataegus monogyna* berries under different hedgerow management. Agric. Ecosyst. Environ. 72: 107-110.
24. Turkoglu, N., Kazankaya, A., and Sensoy, R.I. 2005. Pomological characteristics of hawthorn species found in Van region. J. Agric. Sci. 15: 17-21.
25. Ward, J.H. 1963. Hierarchical grouping to optimise an objective function. J. Amer. Statist. Assoc. 58: 236-244.