

بررسی تنوع ریخت‌شناختی برخی تمشک‌های سیاه بی‌خار مازندران

ناهید عبدی^۱، حسین مرادی^۲ و مهدی حدادی نژاد^{۳*}

۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۹/۷)

چکیده

هدف از انجام این تحقیق بررسی تنوع ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) ۴۰ نژادگان (ژنوتیپ) تمشک سیاه بی‌خار و پی بردن به ارتباط آن‌ها با منابع بی‌خاری است. نمونه‌ها در کلکسیون تمشک سیاه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بر پایه صفات توصیفگر تمشک سیاه بررسی شدند. نتایج نشان داد، تنوع در صفات شمار بذر پوک، طعم، وزن و اسیدیت میوه به ترتیب با ۱۰۰، ۵۹، ۴۳ و ۴۲ درصد بالا بود. شمار بذر پوک با شمار شاخه (۰/۳۲۵) و مقطع عرضی شاخه (۰/۳۶۵) همبستگی مثبت و با قند میوه (۰/۳۹۳-) همبستگی منفی و معنی‌داری را نشان داد. خوشه‌بندی ریخت‌شناختی دو دسته جداگانه از نمونه‌های بی‌خار را از یکدیگر تفکیک کرد. در دسته اول که بر پایه صفات طول گل، نسبت قند به اسید و شمار و وزن بذر از دسته دوم جدا شده بود، دو رقم Thornless Evergreen و Everthornless که به ترتیب از نسل اول (شیمیر یا بافت ناهمسان فرابوش) و دوم (به‌دست‌آمده از کشت بافت لایه شیمیر) بی‌خاری تمشک سیاه بودند در یک زیرگروه قرار گرفتند. این دسته بیشترین شمار نژادگان بی‌خار را شامل می‌شد که بنابراین رایج‌ترین رقم‌های بی‌خار مازندران از نوع ژنتیکی و مغلوب (به‌دست‌آمده از کشت بافت لایه شیمیر) هستند. نمونه‌های دیگر نام آن‌ها نیز شناسایی شد. در دسته دوم رقم‌های پررشد و بی‌خار که به احتمال چندگان و متعلق به منبع بی‌خاری مرتون^۳ 'Merton Thornless' بودند، از دیگران تفکیک شدند. بنابراین افزون بر منبع بی‌خاری مرتون، دو منشأ قدیمی‌تر بی‌خاری نیز در میان نمونه‌های موجود در ایران شناسایی شد. به نظر می‌رسد تفکیک دیگر نمونه‌های بی‌خار، ناشی از تداوم تکامل بی‌خاری در اقلیم متنوع شمال کشور بوده و ارزش بررسی‌های بیشتر را دارند.

واژه‌های کلیدی: بی‌خاری، پدیدشناختی، خوشه‌بندی، ریخت‌شناختی، همبستگی.

Evaluation of morphological diversity in thornless blackberry in Mazandaran

Nahid Abdi¹, Hossein Moradi² and Mehdi Haddadinejad^{2*}

1, 2. Former M. Sc. Student and Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU) Sari, Iran
(Received: Mar. 30, 2017 - Accepted: Nov. 28, 2017)

ABSTRACT

This research was performed to evaluate morphological diversity of 40 thornless blackberry genotypes to find their relation with thornless resources. The samples evaluated based on blackberry descriptor in SANRU blackberry collection. Results showed high diversity in empty seed, taste, weight and titrable acidity of fruit with 100, 59, 43 and 42%, respectively. Empty seeds showed positive correlation with number of shoot (0.325) and cross section of stem (0.365) and negative correlation with fruit TSS (-0.393) significantly. Morphological cluster separated two different class of thornless genotypes. The first class included Thornless Evergreen and Everthornless as first (chimera cultivar) and second (tissue cultured cultivar) resources of thornlessness in blackberry and separated based on flower lengths, TSS/TA, seed number and weight traits. The first class included most of evaluated thornless genotypes and it indicated genetic and recessive type of thornlessness (tissue cultured cultivar) which is the most popular cultivar in Mazandaran, Iran. Homonym genotypes identified, too. In second class, the vigorous thornless cultivars which could be related to poly ploid cultivars belonged to Merton source of thornlessness, separated from others. Therefore, two early sources of thornlessness identified between Iranian genotypes inside of 'Merton thornless'. It seems that other distinct thornless genotypes related to evolution of thornlessness in diverse climate of north of Iran and will be valuable for future studies.

Keywords: Correlation, dendrogram, morphology, phenology, thornlessness.

* Corresponding author E-mail: m.haddadinejad@sanru.ac.ir

مقدمه

تمشک سیاه بی‌خار (*Rubus L. subgenus Rubus*,) Watson از خانوادهٔ وردسانان (Rosaceae) بوده و به دلایل نداشتن خار، درشت بودن میوه، تربیت‌پذیری بوته و تولید محصول در اوج ورود گردشگران، مورد استقبال مردم در استان مازندران واقع شده است. سطح کشت این ریز میوه رو به گسترش است به طوری که در سال ۱۳۹۳ برای نخستین بار در آمارنامهٔ وزارت جهاد کشاورزی میزان تولید تمشک و سطح زیر کشت آن آورده شده است (Ahmadi et al., 2015). سطح کل باغ‌های بارور تمشک در کشور ۴۶ هکتار بیان شده که از این میزان حدود ۱۶ هکتار را باغ‌های آبی تشکیل می‌دهند که استان مازندران رتبهٔ نخست تولید و عملکرد را در کشور دارد. عمدهٔ سطح زیر کشت تمشک در استان بدون در نظر گرفتن محصول برداشت‌شده از حیات‌وحش، مربوط به تمشک سیاه بی‌خار (blackberry) و تمشک فرنگی قرمز (red raspberry) است که با توجه به اینکه اصلاح‌شده هستند، نیاز به مراقبت‌های باغبانی برای تولید اقتصادی دارند. میزان تولید تمشک سیاه از باغ‌های آبی کشور ۱۳ تن و با میانگین ۸۱۲ کیلوگرم در هکتار بیان شده است (Ahmadi et al., 2015). هرچند این آمار با مشاهده‌های میدانی تفاوت‌هایی دارد و نیازمند به‌روز رسانی است، اما میانگین تولید بیان شده از میانگین تولید تمشک سیاه رقم بی‌خار که برابر ۸-۱۲ تن در هکتار برای رقم‌های رونده، ۲۰-۳۰ تن در هکتار برای رقم‌های نیمه ایستاده و ۱۰-۸ تن در هکتار در رقم‌های ایستاده (Strik & Finn, 2012) است، بسیار فاصله دارد. منشأ نژادگان (ژنوتیپ)های وارداتی تمشک سیاه بی‌خار به کشور و نام رقم‌ها و شمار آن‌ها در جایی بیان نشده است و نبود دسترسی به این اطلاعات امکان فراهم کردن مطالب کاربردی برای مدیریت بهتر باغ‌ها و باغچه‌های تمشک سیاه بی‌خار را دور از دسترس ساخته است.

آغاز اهلی‌سازی تمشک با انتخاب نمونه‌های وحشی و انتخاب‌های شانس و تصادفی بوده است و نژادگان‌های انتخابی مبنای بهبود ژنتیکی در برنامه‌های بهنژادی اوایل سدهٔ بیستم شدند. والد نخستین رقم بی‌خار - که خاردار

بود - "evergreen" نام داشت و از ذخائر توارثی (ژرم‌پلاسما) وحشی (*R. laciniatus* Willd.) به دست آمد. در این رقم خاردار یک جهش رخ داده و با نام 'Thornless Evergreen' منشأ توسعهٔ رقم‌های بی‌خار شد. اما به دلیل شیمرفراپوش بودن، صفت بی‌خاری آن‌ها تحت تأثیر شرایط محیطی (سرمازدگی تا طوفان) و یا وارد شدن ضربهٔ فیزیکی و یا افزونش از طریق قلمهٔ ریشه، بذر و ریشه‌جوش به خارداری تبدیل می‌شد. این مشکل از طریق کشت بافت لایهٔ یاخته‌ای شیمیر (L1) حاوی صفت بی‌خاری، توسط مک پیترز و اسکریوین (۱۹۸۳ تا ۲۰۰۰) در قالب معرفی رقم everthornless برطرف شد. صفت بی‌خاری و رقم‌های بی‌خار با پیشرفت ابزارهای بهنژادی بهبود بیشتری یافتند و در نسل بعدی رقم‌های چهارگان (تتراپلوئید) با ژن مغلوب بی‌خاری همچون رقم مرتون بی‌خار نیز معرفی شد (Swanson et al., 2012) که از این نژادگان و انتخاب‌های مرتبط با آن در برنامه‌های بهنژادی استفاده شد و رقم‌های: Navaho، Arapaho، Apache، Ouacita و Natchez به دست آمدند که همگی از «مرتون بی‌خار» به‌عنوان منبع بی‌خاری بهره می‌بردند (Clark & Finn, 2011). اغلب رقم‌های تمشک سیاه تجاری در آمریکا چهارگان (تتراپلوئید) بوده و بی‌خاری آن‌ها از نوع مغلوب و به‌صورت چهارلنگه‌ای (تتراسومی) است (Castro et al., 2013). بی‌خاری همچنان توسعه یافت و در نسل‌های بعدی رقم‌های با ژن غالب و هشتگان (اکتاپلوئید) مانند Austin thornless معرفی شد و این روند همچنان ادامه دارد (Coyner, 2004). تا جایی که Clark & salgado (2016) توانستند رقم بی‌خاری را معرفی کنند که برخلاف دیگر رقم‌ها، روی شاخهٔ سال اول باردهی داشته باشد و دورهٔ تولید محصول را یک سال کاهش دهد.

از نشانگرهای مولکولی برای شناسایی رقم‌های بی‌خار و ارتباط آن‌ها استفاده شده است که چهار منبع بی‌خاری را تفکیک و اشتراک‌های آن‌ها را معرفی کردند (Coyner et al., 2008). در پژوهشی Sedighi & Rahimmalek (2015) از نشانگرهای مولکولی برای بررسی تنوع تمشک سیاه خزری در نوار جنوبی دریای

تمشک‌های سیاه بی‌خار در ایران، آن‌ها با شرایط مناطقی متنوع همچون مازندران سازگار شده‌اند اما تاکنون از نشانگرها برای بررسی تنوع ژنتیکی آن‌ها استفاده نشده است و به نظر می‌رسد درحالی‌که بر پایه منابع اولیه، تمشک‌های سیاه بی‌خار موجود در کشور از نوع شیمر فراپوش بوده اما موفقیت کشت بافت این رقم و تولید گیاهچه بی‌خار (Jafari & Hamidoghli, 2009) گویای وجود تنوع رقم‌ها در این گیاهان است. هدف از این پژوهش بررسی تنوع و منابع مختلف بی‌خاری تمشک سیاه در ایران با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناختی است.

مواد و روش‌ها

۴۰ نژادگان تمشک سیاه بی‌خار موجود در استان مازندران با مراجعه به باغ‌ها، کشتزارها و خانه‌سرایهای روستایی محل نگهداری آن‌ها گردآوری و به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم از افراد دریافت، به محل کلکسیون دانشگاه منتقل شدند. در بهار سال ۱۳۹۳، بوته‌ها به‌صورت تصادفی در گلدان‌هایی به ارتفاع و عرض ۳۰ سانتی‌متر حاوی سه قسمت خاک‌برگ و یک قسمت خاک لوم بدون علف هرز کشت شدند (جدول ۱).

خزر استفاده و بر مبنای بیشترین تنوع، مازندران را به‌عنوان مرکز این تنوع معرفی کردند. در همین راستا Hadadinejad *et al.* (2015) با بررسی تنوع ریخت‌شناختی (مورفولوژیکی) تمشک‌های سیاه همجوار مناطق مهم و تجاری شرق مازندران، وجود تنوع بالا را گزارش کردند. در ادامه با احداث کلکسیون تمشک سیاه مازندران در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری ضمن گردآوری نمونه‌های تمشک سیاه خاردار وحشی و اهلی (وارداتی) به بررسی رابطه بین آن‌ها نیز پرداختند و ضمن گزارش تنوع بالا در آن‌ها به همبستگی‌های بین صفات و روابط و صفات مشترک بین رقم‌های وارداتی و ذخائر توارثی وحشی پرداختند (Hadadinejad & Moradi, 2016). افزون بر این در دانشگاه شیراز نیز کلکسیون نژادگان‌های وحشی تمشک سیاه کشور گردآوری و با نشانگرهای مولکولی و ریخت‌شناختی ارزیابی شده (Gharaghani, *et al.*, 2011) و آخرین نتایج آنان نشان داده است، نژادگان‌های گردآوری‌شده از ساری در کنار نمونه‌های کازرون و سمنج تحمل بیشتری به گرمای تابستان دارند (Shams *et al.*, 2015). بنابر بررسی‌های انجام‌شده با وجود پیشینه درازمدت و نامعلوم

جدول ۱. فهرست تمشک‌های سیاه بی‌خار گردآوری‌شده در کلکسیون دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
Table 1. List of thornless blackberry genotypes collected in Sari Agricultural sciences and Natural Resources University (SANRU)

| Raw | Abbreviation* | Location | Raw | Abbreviation | Location |
|-----|----------------------|-----------------------|-----|----------------------------------|-----------------------|
| 37 | cvTLSDrMoradi2 | Mazandaran, Sari | 21 | cvTLShedayati52 | Mazandaran, Sari |
| 2 | cvTLSDrSadeghi6 | Mazandaran, Sari | 22 | cvTLNurnazari53 | Mazandaran, Nur |
| 3 | cvTLSTaherpour9 | Mazandaran, Sari | 23 | cvTLRahmadi54 | Mazandaran, Ramsar |
| 4 | cvTLSShirazi13 | Mazandaran, Sari | 24 | cvTLAQanbari60 | Mazandaran, Amol |
| 5 | cvTLBMolaei14 | Mazandaran, Babol | 25 | cvTLAajafarzadeh63 | Mazandaran, Amol |
| 6 | cvTLBforotan16 | Mazandaran, Babol | 26 | cvTLMashaal66 | Unknown |
| 7 | cvTLBrazinejad17 | Mazandaran, Babol | 27 | cvTLSnurmohammadi68 | Mazandaran, Sari |
| 8 | cvTLAdavudi18 | Mazandaran, Amol | 28 | cvTLSmofei69 | Mazandaran, Sari |
| 9 | cvTLAarezaei19 | Mazandaran, Amol | 29 | cvTLAbakhtiar72 | Mazandaran, Amol |
| 10 | cvTLBaghajanazadeh22 | Mazandaran, Babol | 30 | cvTLShahbar73 | Mazandaran, Sari |
| 35 | cvTLBizadkhasht23 | Mazandaran, Babol | 38 | cvTLQrastkhiz175 | Mazandaran, Qaemshahr |
| 36 | cvTLAbakhtiar224 | Mazandaran, Amol | 32 | cvTLQrastkhiz77 | Mazandaran, Qaemshahr |
| 13 | cvTLMohammadi25 | unknown | 33 | cvTL.unknown78 | Unknown |
| 14 | cvTLSasadi26 | Mazandaran, Sari | 34 | cvTLAhoseinirad80 | Mazandaran, Amol |
| 15 | cvTLSkhosravi27 | Mazandaran, Sari | 35 | cvTLSafzalian81 | Mazandaran, Sari |
| 16 | cvTLSDrsadeghi34 | Mazandaran, Sari | 36 | cvTLGILtaghipour82 | GIL |
| 17 | cvTLAajafarzadeh35 | Mazandaran, Amol | 37 | cvTLBmiladi85 | Mazandaran, Babol |
| 18 | cvTLStaherpour38 | Mazandaran, Sari | 39 | cvTLBkalantari92 ^{ISSR} | Mazandaran, Babol |
| 19 | cvTLBghakanzadeh49 | Mazandaran, Babol | 39 | cvTLSamuii98 | Mazandaran, Sari |
| 20 | cvTLMshojaei51 | Mazandaran, Miandorud | 40 | cvTLAnasiri100 | Mazandaran, Amol |

* نام اختصاری از چهار بخش تشکیل شده که به ترتیب عبارت‌اند از: "cvTL" نماد رقم بی‌خار، حرف اول بزرگ محل گردآوری شامل: A: Amol, B: Babol, GIL: Gilan, N: Nur, Q: قائمشهر, S: ساری و R: رامسر، نام فرد گردآوری یا اهداکننده و شماره اختصاصی نژادگان در کلکسیون است.

* Four parts of each abbreviation are: "cvTL" as Thornless Cultivar, the first capital of location such as A: Amol, B: Babol, GIL: Gilan, N: Nur, Q: Qaemshahr, S: Sari and R: Ramsar, with and the name of collector

دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد که در آن نژادگان‌ها به‌عنوان تیمار برای هر صفت در نظر گرفته شدند.

نتایج و بحث

نتایج بررسی‌ها نشان داد، در بین صفات کمی مورد بررسی بذر پوک بیشترین (۱۰۰ درصد) و قطر گل کمترین (۱۰/۸ درصد) میزان تغییرپذیری پدیدگانی (فنوتیپی) را داشت (جدول ۳). همچنین صفات نسبت قند به اسید، وزن و اسیدیته میوه (به ترتیب با مقادیر ۵۹، ۴۳ و ۴۲ درصد) تنوع به نسبت بالایی داشتند. فراوانی شمار بذره‌های پوک (شناور روی آب) ملاک مطلوبی از نظر مصرف‌کننده به شمار می‌آید. بذره‌های تمشک ترکیب‌های فنولیکی بیشتری نسبت به بخش گوشت میوه دارند هرچند این ترکیب‌ها در برگ به میزان بالاتری وجود دارد (Funt, 2013).

نسبت قند به اسید شاخص مناسبی برای تعیین کیفیت میوه است. شاخص طعم با میانگین ۱۱/۳۹ تنوع بالایی (۵۹ درصد) را نشان داد. میزان این شاخص در این بررسی با ارزیابی که روی نژادگان‌های تمشک‌های بدون‌خار در رقم‌های مختلف در هاتی ترکیه انجام شد میزان تنوع بیشتری داشتند (Ozdemir *et al.*, 2008). احتمال دارد تنوع اقلیمی مازندران منجر به افزایش تنوع یادشده شده باشد.

بالاترین میزان قند میوه متعلق به نژادگان شماره ۴۹ از بابل با میزان ۱۳/۱ درجه بریکس بود و به‌طور جالبی کمترین میزان اسید نیز متعلق به نژادگانی دیگر (شماره ۱۶) از همین شهرستان با ۰/۲۵ درصد بود که گویای تنوع رقم‌ها در یک منطقه است (جدول ۵).

صفات ارزیابی شده و نحوه اندازه‌گیری آن‌ها

اغلب صفات ریخت‌شناختی موردنظر بر پایه توصیفگر تمشک سیاه (UPOV, 2006) انتخاب و از زمستان ۱۳۹۴ تا اواخر تابستان ۱۳۹۵ به‌صورت میانگین برای تکرارهای موجود اندازه‌گیری شدند. جدول ۲ فهرست صفات مورد بررسی و واحد اندازه‌گیری آن‌ها را نشان می‌دهد.

داده‌های کددار مربوط به رنگ برگ، میوه، شاخه و ... بر پایه کدهای موجود در توصیفگر بین‌المللی تمشک سیاه ثبت شدند (UPOV, 2006). در مورد داده‌های بدون مبدأ مانند زمان شکوفایی برگ، زمان گلدهی و رسیدن سعی شد با انتخاب مبدأ مناسب، کمترین دامنه مشترک بین داده‌های ثبت‌شده برای یک صفت وجود داشته باشد. صفات پیوسته نیز با خط کش و کولیس اندازه‌گیری شدند. از شکست‌سنج (رفرکتومتر) دیجیتالی (ATAGO PR-32) برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول کل استفاده شد. اندازه‌گیری اسید کل بر پایه اسیدسیتریک (اکی والان برابر ۰/۰۶۴) و به روش عیارسنجی (تیتراسیون) توصیف‌شده توسط Parvaneh (2006) اندازه‌گیری شد. آنتوسیانین بر پایه روش اختلاف pH اندازه‌گیری شد (Wrolstad, 1976). داده‌های مربوطه در جدول‌های مشخص ثبت و پس از آن با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ دسته‌بندی و مرتب شدند. در ادامه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 19 نسبت به تجزیه داده‌ها برای محاسبه آمار توصیفی، همبستگی صفات، تجزیه به عامل‌ها و تجزیه خوشه‌ای اقدام شد و از نرم‌افزار SAS 9.1 برای تجزیه واریانس در قالب طرح کامل تصادفی و مقایسه میانگین بر پایه آزمون چند دامنه‌ای

جدول ۲. صفات ریخت‌شناختی ارزیابی شده و واحد اندازه‌گیری آن‌ها در بررسی نژادگان‌های تمشک‌های سیاه بی‌خار

Table 2. Morphological characteristics and their units for evaluation of thornless blackberry genotypes

| Raw | Traits | Unit | Raw | Traits | Unit |
|-----|------------------|------|-----|-----------------|-----------------------------|
| 1 | Growth habit* | Code | 13 | Leaf anthesis | day num from 1th Bahman |
| 2 | Cross section | Code | 14 | Flower anthesis | day num from 1thordibehesht |
| 3 | Shoot diameter | mm | 15 | ripening | day num from Khordad |
| 4 | shoot number | num | 16 | Fruit diameter | cm |
| 5 | terminal leaflet | cm | 17 | Fruit length | cm |
| 6 | LeafletWidth | mm | 18 | Fruit size | Rate |
| 7 | Leafside | Code | 19 | TA | % |
| 8 | leafLobe | 1&0 | 20 | TSS/TA | Rate |
| 9 | Leafletnum | num | 21 | Seed | num |
| 10 | Flowerlength | mm | 22 | Seed Dry wei | g |
| 11 | Flowerdia | mm | 23 | Empty seed | num |
| 12 | Flowersize | Rate | 24 | Anthocyanin | mg/100ml |

*Codes are from UPOV, 2006

* کدبندی صفات بر پایه توصیفگر بین‌المللی تمشک سیاه (UPOV, 2006) است.

میلی لیتر عصاره بود که تنوع کم (حدود ۲۴ درصد) داشت. آنتوسیانین از اجزاء اصلی رنگدانه رنگ قرمز در ریز میوه‌ها است و برای مصرف‌کنندگان نیز معیاری برای سنجش کیفیت میوه به شمار می‌آید. ساخت بوم‌شناختی (اکولوژیکی) و فیزیولوژیکی، و همچنین رقم‌ها و گونه‌ها بستگی دارد.

در پژوهشی Ghasemi *et al.* (2016) ویژگی‌های پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی)، میزان فنل کل، فلاونوئید کل و آنتوسیانین میوه در تمشک سیاه وحشی تابستانه، وحشی پاییزه و بی‌خار را مقایسه کردند. آنان دریافتند، رقم بی‌خار کمترین فعالیت پاداکسندگی را نشان داد و میزان فنل کل در رقم بی‌خار به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو گونه دیگر بود. میزان آنتوسیانین نیز در رقم بی‌خار بیشینه و به‌طور معنی‌داری بیشتر از گونه‌های وحشی تابستانه و وحشی پاییزه بود. نتایج همچنین نشان داد، همبستگی بین آنتوسیانین و میزان فنل مثبت و معنی‌دار بود.

بیشترین قطر گل ۳/۷۵ سانتی‌متر بوده اما میانگین به‌دست‌آمده و تنوع آن در تمشک‌های بدون‌خار مورد بررسی پایین بود. بیشترین طول برگچه مشاهده‌شده در این بررسی ۶/۲ سانتی‌متر به دست آمد. برگ تمشک تانن دارد، تأثیر درمانی برگ نیز مربوط به وجود تانن است (Zargari, 1989).

زمان رسیدن میوه نژادگان‌های مورد بررسی از نیمه خرداد تا نیمه شهریور متغیر بود با این‌حال تنوع پایینی (۱۸/۲۱ درصد) داشتند. با توجه به زمان رسیدن میوه تمشک سیاه بی‌خار در هر سه ماه تابستان، که همزمان با اوج حضور گردشگران در استان مازندران است این تنوع کم در زمان مناسب رخ داده و همچنان یک برتری به شمار می‌آید. اندازه میوه با میانگین (۱۱/۵۸ درصد) تنوع کمی دارد. میانگین اندازه بزرگ‌ترین میوه بر پایه نسبت طول به عرض، ۱/۳۰ مربوط به نژادگان ۲۳ از بابل و کوچک‌ترین آن ۰/۷۲ مربوط به نژادگان شماره ۲۴ از آمل بود (جدول ۳).

میانگین آنتوسیانین ۲۴۷/۹ میلی‌گرم در ۱۰۰

جدول ۳. آمار توصیفی صفات کمی نژادگان‌های تمشک سیاه بی‌خار مورد بررسی

Table 3. Descriptive statistics of quantitative traits of evaluated thornless blackberry genotypes

| | | Unit | Minimum | Maximum | Mean | Std. Deviation | Variation |
|----|--------------------|-----------------|---------|---------|--------|----------------|-----------|
| 1 | Shoot Diameter | mm | 2.64 | 8.59 | 5.46 | 1.14 | 20.88 |
| 2 | Shoot | num | 1.00 | 4.00 | 2.69 | 0.85 | 31.74 |
| 3 | terminal leaflet | cm | 3.03 | 6.26 | 4.78 | 0.81 | 16.97 |
| 4 | Leaflet Width | mm | 3.00 | 4.75 | 3.60 | 0.41 | 11.44 |
| 5 | Leaflet | num | 3.00 | 5.00 | 4.39 | 0.91 | 20.72 |
| 6 | Flower length | mm | 5.84 | 12.34 | 9.01 | 1.73 | 19.23 |
| 7 | Flower diameter | nm | 22.05 | 37.56 | 29.67 | 3.20 | 10.80 |
| 8 | Flower size | rate | 0.19 | 0.46 | 0.31 | 0.07 | 23.70 |
| 9 | Leaf anthesis | 1th Bahman | 2.00 | 59.00 | 36.21 | 13.67 | 37.76 |
| 10 | Flower anthesis | 1th Ordibehesht | 21.00 | 95.00 | 33.09 | 11.33 | 34.23 |
| 11 | Ripening | 15th Khordad | 25.00 | 77.00 | 60.69 | 11.05 | 18.21 |
| 12 | Fruit diameter | cm | 0.62 | 2.10 | 1.51 | 0.25 | 16.23 |
| 13 | Fruit length | cm | 0.50 | 2.40 | 1.56 | 0.33 | 21.36 |
| 14 | Fruit size | rate | 0.73 | 1.31 | 1.02 | 0.12 | 11.85 |
| 15 | Fruit fresh weight | g | 0.07 | 4.37 | 1.90 | 0.83 | 43.60 |
| 16 | TSS | brix | 6.10 | 13.10 | 9.64 | 1.66 | 17.22 |
| 17 | TA | % | 0.25 | 2.36 | 1.07 | 0.46 | 42.69 |
| 18 | TSS/TA | rate | 3.87 | 46.00 | 11.39 | 6.72 | 59.00 |
| 19 | Seed | num | 6.00 | 47.00 | 26.15 | 8.66 | 33.11 |
| 20 | Seed Dry weight | g | 0.01 | 0.29 | 0.15 | 0.06 | 38.89 |
| 21 | Empty seed | num | 0.00 | 10.00 | 1.98 | 2.42 | 100 |
| 22 | Anthocyanin | mg/100ml | 136.37 | 414.61 | 247.94 | 59.98 | 24.19 |

* درصد تنوع (ضریب تغییرپذیری پدیدگانی) بر پایه نسبت انحراف معیار به میانگین محاسبه شده است.

* Variation percentage (phenotypic variation coefficient) calculated based on the rate of Standard Deviation on mean.

همبستگی صفات

همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در جدول 4 آورده شده است. ضریب همبستگی ساده بین صفات نشان داد، همبستگی معناداری در بین برخی از صفات وجود داشت. بنا بر نتایج همبستگی، رسیدن میوه با زمان شکوفایی گل (0/507)، زمان شکوفایی برگ (0/420)، شمار برگچه (0/429) و شمار شاخه (0/360) همبستگی مثبت و معناداری نشان داد. میوه‌های تمشک سیاه بی‌خار به‌طور عمده دیررس‌تر از تمشک خاردار هستند و کسب اطلاع از همبستگی دیگر صفات با این صفت مهم می‌تواند به بهنژادگران برای ایجاد رقم‌های بی‌خار و زودرس کمک کند. نکته قابل توجه اینکه این صفت با رنگ میوه همبستگی منفی و معنادار (0/398-) را نشان داد. رنگ میوه در بیشتر رقم‌ها از سبز به قرمز و سیاه تغییر می‌یابد و میوه پس از آن رسیده و قابل برداشت می‌شود، درحالی‌که در برخی از نژادگان‌های این پژوهش که به‌طور عمده از غرب استان گردآوری شده بودند مشاهده شد، میوه نارس به‌جای رنگ قرمز روشن، رنگ قرمز تیره و مایل به بنفش دارد که پررشدتر و دیررس‌تر از دیگر رقم‌ها نیز بودند و می‌تواند توجیهی برای منفی شدن همبستگی رنگ میوه با زمان رسیدن باشد. شاخص طعم میوه همبستگی مثبت و معناداری با آنتوسیانین (0/385)، میزان قند (0/371) و

همبستگی منفی و معناداری با میزان اسیدیته (0/642-) را نشان داد. از آنجایی‌که شاخص طعم از نسبت قند به اسید به دست می‌آید بنابراین هرچه میزان قند بالاتر باشد و اسید میوه پایین‌تر باشد شاخص طعم افزایش پیدا می‌کند. اندازه میوه با قطر (0/343) و طول میوه (0/746)، رنگ میوه (0/409)، میزان قند (0/363)، وزن میوه (0/526)، شمار بذر (0/658)، آنتوسیانین (0/325) همبستگی مثبت و معنادار و با شکل مقطع عرضی شاخه (0/379-) همبستگی منفی و معناداری را نشان داد. همبستگی رنگ میوه با وزن و اندازه میوه (به ترتیب 0/307 و 0/409) مثبت و معنادار بود. بذر پوک با شمار شاخه (0/325) و مقطع عرضی شاخه (0/365) همبستگی مثبت و معنادار و با قند میوه (0/393-) همبستگی منفی و معناداری را نشان داد. هرچند مصرف‌کنندگان تمشک سیاه، درشتی بذر تمشک بی‌خار را از جمله صفات نامطلوب آن در حین مصرف مطرح می‌کنند و به دنبال میوه‌های با بذر ریزتر، کمتر یا پوک هستند اما لیپیدهای موجود در بذر تمشک به‌عنوان مواد خام در صنعت تولید روغن می‌تواند کاربرد داشته باشد (Dimic et al., 2012) و افزون بر ویژگی‌های بهداشتی و سلامتی بذر، از ویژگی‌های آن نیز برای شناسایی رقم‌های تمشک سیاه استفاده می‌شود (Wada & Reed, 2010).

جدول 4. همبستگی صفات ریخت‌شناختی تمشک سیاه بی‌خار

Table 4. correlation between morphological characteristics of thornless blackberry

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | |
|----|--------------|-----------------|-----------|-----------|------------------|---------------|-------------|---------------|------------|-------------|----------------|-----------------|-------------|----------|----------------|--------------|------------|----------------|---------|----------|--------|----------|-----|
| | Growth habit | Shoot cross sec | Shoot Dia | Shoot num | terminal leaflet | Leaflet Width | leaflet num | Flower length | Flower dia | Flower size | Leaf fanthesis | Flower anthesis | Fruit color | Ripening | Fruit diameter | Fruit length | Fruit size | Fruit freshwei | TSS | TA | TSS/TA | Seed num | |
| 5 | -0.373* | 0.2 | -0.1 | 0 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 0.1 | 0.2 | 0 | 0.1 | 0.2 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | 0.2 | -0.1 | -0.1 | 0.3 | 0.3 | 0.1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | 0.2 | 0.2 | 0 | 0.1 | -0.358* | 0.2 | -0.2 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | -0.1 | -0.2 | -0.1 | -0.2 | 0.2 | 0.332* | 0.2 | -0.1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | 0.2 | 0.2 | 0 | 0.2 | -0.397* | 0 | -0.2 | 0.883** | -0.493** | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | 0 | -0.3 | 0 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | -0.1 | 0.1 | 0.2 | 1 | | | | | | | | | | | | |
| 12 | 0.3 | -0.2 | -0.534** | 0.3 | 0.1 | -0.1 | 0.3 | -0.2 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 1 | | | | | | | | | | | |
| 13 | 0 | -0.2 | 0.3 | -0.2 | 0.2 | 0.1 | -0.508** | 0.2 | -0.1 | 0.2 | 0.1 | -0.439** | 1 | | | | | | | | | | |
| 14 | 0.1 | -0.517** | -0.324* | 0.360* | 0.1 | 0 | 0.492** | -0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.420** | 0.507** | -0.398* | 1 | | | | | | | | | |
| 15 | 0.3 | -0.335* | -0.2 | -0.1 | 0.3 | 0.3 | -0.2 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 0.3 | 0.1 | 0.321* | 0.1 | 1 | | | | | | | | |
| 16 | 0.2 | -0.408* | 0 | -0.2 | 0.2 | 0.3 | -0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.1 | 0.3 | 0.1 | 0.494** | 0.1 | 0.872** | 1 | | | | | | | |
| 17 | -0.2 | -0.379* | 0.2 | -0.2 | 0 | 0.2 | -0.2 | 0.1 | 0.2 | 0 | 0.1 | 0 | 0.409* | 0.1 | 0.343* | 0.746** | 1 | | | | | | |
| 18 | 0.3 | -0.2 | -0.1 | -0.346* | 0.2 | 0.3 | -0.424** | 0.3 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0 | 0.371* | 0.2 | 0.867** | 0.893** | 0.526** | 1 | | | | | |
| 19 | 0 | -0.415** | 0.1 | -0.3 | 0 | 0.1 | -0.3 | -0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.386* | 0.483** | 0.363* | 0.416** | 1 | | | | |
| 20 | -0.2 | -0.2 | -0.1 | 0.1 | 0.3 | 0 | 0.3 | -0.3 | 0 | 0.2 | 0.404* | 0 | 0 | 0.2 | -0.1 | -0.1 | 0.1 | -0.1 | -0.1 | 1 | | | |
| 21 | 0.2 | 0 | 0.1 | -0.2 | -0.388* | 0 | -0.417** | 0.2 | -0.1 | 0.2 | -0.3 | -0.1 | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | 0.371* | -0.642** | 1 | | |
| 22 | 0.3 | -0.2 | 0.1 | -0.3 | 0.2 | 0.3 | -0.3 | 0.362* | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 0 | 0.513** | 0.1 | 0.653** | 0.811** | 0.658** | 0.760** | 0.373* | -0.2 | 0.3 | 1 | |
| 23 | 0.2 | -0.364* | 0.2 | -0.3 | 0.2 | 0.1 | -0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.2 | 0 | 0.518** | 0.1 | 0.473** | 0.700** | 0.723** | 0.621** | 0.3 | -0.1 | 0.1 | 0.775** | 1 |
| 24 | 0 | -0.365* | 0.1 | -0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | -0.1 | 0.1 | 0.2 | -0.2 | 0.1 | 0.1 | 0 | 0 | 0.1 | 0 | -0.393* | 0.2 | -0.1 | 0.1 | 0.1 |
| 25 | -0.1 | -0.2 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.1 | -0.2 | 0.353* | 0.1 | 0.3 | 0 | 0.1 | 0.3 | 0 | 0.1 | 0.3 | 0.325* | 0.2 | 0.3 | -0.1 | 0.385* | 0.2 | 0.2 |

*: Correlation is significant at the 0.05 and 0.01 level (2-tailed). 24 is empty seed and 25 is Anthocyanin.

تجزیه به عامل‌ها

در این تجزیه هشت عامل اصلی و مستقل که مقادیر ویژه آن‌ها بیشتر از یک بودند توانستند در مجموع ۸۰/۰۶ درصد از واریانس کل را توجیه کنند (جدول ۵). عامل اول صفات بذر و میوه: صفات وزن خشک و شمار بذر، اندازه و طول میوه، وزن و رنگ میوه در عامل اول قرار گرفتند که ۲۵/۰۴ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. عامل دوم صفات مربوط به اندازه و طول گل است که در کنار آن صفت میزان قند میوه نیز قرار گرفت. عامل سوم صفات کیفیت میوه (اسیدیته و شاخص طعم) و زمان شکوفایی برگ را شامل شد. عامل چهارم عادت رشد بوته، قطر میوه و برگچه انتهایی را در بر داشت. عامل ششم قطر شاخه و زمان شکوفایی گل، عامل هفتم صفت پهنای برگچه و صفت بذر پوک و در نهایت، آنتوسیانین و شمار شاخه در عامل هشتم قرار گرفتند.

تجزیه عاملی توانست ۲۵ صفت مورد بررسی را به صورت هشت عامل اصلی بیان کند که عامل اول (صفات بذر و میوه) و عامل دوم (صفات گل و قند میوه) بیشترین سهم (۳۹/۸۴) را در توجیه واریانس داشتند. در ادامه به منظور شناسایی نمونه‌های برتر متفاوت بدون خار از تجزیه دویعدی بر پایه‌ی عامل‌های اول (صفات بذر و میوه) و دوم (صفات گل) استفاده شد. بنابر نتایج به دست آمده نژادگان‌های تمشک بدون خار مورد بررسی در چهار گروه قرار گرفتند. نتایج این تجزیه که بر مبنای عامل‌های مربوط به صفات بذر و میوه و گل انجام شده بود به خوبی توانست نمونه‌های برتر از لحاظ اندازه میوه را با قرار دادن در نیمه بالایی از دیگران تفکیک کند ولی چهار گروه به دست آمده قابل تطبیق با چهار منبع بی‌خاری معرفی شده در تمشک سیاه بی‌خار (Coyner, 2008) نبود.

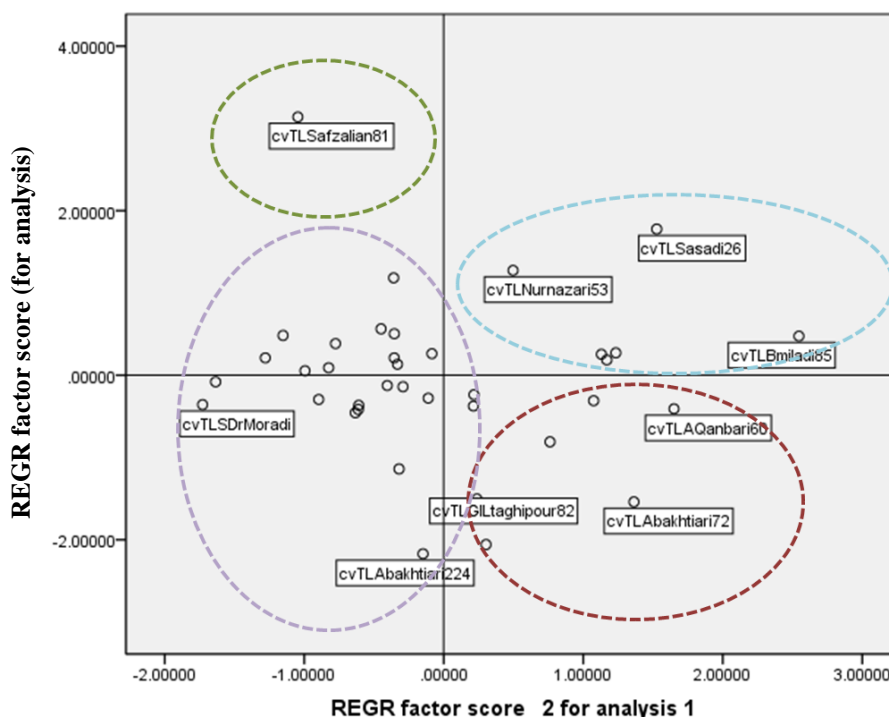
جدول ۵. نتایج تجزیه به عامل‌های اصلی

Table 5. Results of principle component analysis

| Component | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|----------------------|---------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|---------------|---------------|
| Eigenvalues | 25.046 | 14.797 | 9.495 | 8.636 | 7.027 | 6.127 | 4.832 | 4.109 |
| % of variance ** | 6.261 | 3.699 | 2.374 | 2.159 | 1.757 | 1.532 | 1.208 | 1.027 |
| Cumulative % | 25.046 | 39.843 | 49.338 | 57.974 | 65.001 | 71.127 | 75.959 | 80.068 |
| | Component | | | | | | | |
| 1 Fruit color | 0.678* | 0.214 | 0.129 | -0.044 | -0.292 | -0.282 | -0.175 | 0.03 |
| 1 Fruit length | 0.843* | -0.083 | -0.012 | 0.363 | -0.063 | 0.122 | 0.199 | 0.188 |
| 1 Fruit size | 0.846* | -0.103 | 0.015 | -0.175 | 0.135 | -0.059 | 0.047 | 0.232 |
| 1 Fruit fresh weight | 0.743* | -0.058 | -0.122 | 0.435 | -0.307 | 0.15 | 0.249 | -0.052 |
| 1 Seed number | 0.853* | 0.131 | -0.082 | 0.249 | -0.061 | 0 | 0.137 | 0.05 |
| 1 Seed Dry weight | 0.886* | 0.104 | 0.044 | 0.119 | 0.15 | -0.131 | -0.066 | -0.079 |
| 2 Flower length | 0.272 | 0.791* | -0.282 | 0.151 | 0.002 | -0.004 | 0.122 | 0.176 |
| 2 Flower size | 0.155 | 0.837* | -0.159 | 0.085 | -0.274 | -0.008 | -0.092 | 0.178 |
| 2 TSS | 0.412 | -0.629* | -0.2 | 0.147 | -0.114 | 0.017 | -0.052 | 0.323 |
| 3 Leaf anthesis | 0.145 | -0.126 | 0.704* | 0.406 | 0.122 | -0.027 | 0.028 | 0.139 |
| 3 TA | -0.009 | -0.168 | 0.795* | -0.162 | 0.038 | 0.062 | 0.013 | -0.081 |
| 3 TSS/TA | 0.089 | -0.053 | -0.67* | 0.215 | -0.276 | -0.11 | 0.01 | 0.46 |
| 4 Growth habit | 0.188 | 0.064 | -0.025 | 0.828* | 0.317 | 0.056 | -0.021 | -0.195 |
| 4 terminal leaflet | -0.075 | -0.308 | 0.195 | -0.578* | 0.155 | 0.149 | 0.428 | -0.275 |
| 4 Fruit diameter | 0.564 | -0.039 | 0.003 | 0.686* | -0.117 | 0.221 | 0.24 | 0.06 |
| 5 Shoot cross sec | -0.378 | 0.351 | -0.148 | -0.314 | -0.449* | 0.003 | 0.447 | -0.222 |
| 5 Leaf let number | -0.364 | 0.029 | 0.242 | 0.028 | 0.733* | 0.113 | 0.164 | -0.107 |
| 5 Flower diameter | 0.243 | -0.353 | -0.228 | 0.047 | 0.55* | 0.045 | 0.378 | -0.125 |
| 5 ripening | 0.012 | -0.141 | 0.348 | 0.139 | 0.65* | 0.4 | -0.142 | 0.19 |
| 6 Shoot diameter | 0.107 | -0.061 | 0.007 | -0.111 | 0.035 | -0.89* | -0.051 | 0.095 |
| 6 Flower anthesis | 0.035 | -0.092 | 0.077 | -0.043 | 0.296 | 0.779* | -0.145 | 0.111 |
| 7 Leaflet Width | 0.206 | -0.029 | -0.024 | 0.061 | 0.109 | -0.038 | 0.793* | 0.03 |
| 7 Empty seed | -0.025 | 0.381 | 0.444 | -0.047 | -0.061 | -0.188 | 0.561* | 0.106 |
| 8 Shoot number | -0.325 | 0.337 | 0.35 | -0.121 | 0.133 | 0.325 | 0.057 | 0.536* |
| 8 Anthocyanin | 0.253 | 0.108 | -0.127 | -0.036 | -0.01 | -0.026 | 0 | 0.808* |

* selected as Significant, **Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization.

* بار عاملی انتخاب شده به عنوان معنی‌دار، ** روش چرخش: وریماکس



شکل ۱. تجزیهٔ دوبعدی نمونه‌های تمشک سیاه بی‌خار. عامل اول (صفات بذر و میوه) و عامل دوم (صفات گل و قند میوه) را نشان می‌دهد.

Figure 1. Analysis of di plot of thorn less blackberry sample indicated first factor (seed and fruit traits) second factor (flower and TSS).

و pH خاک از جملهٔ این عامل‌های بوده که نوع و میزان آن در مناطق غرب و شرق مازندران بسیار متفاوت است. به‌طوری‌که در غرب مازندران بافت خاک، مواد آلی و pH خاک به ترتیب سبک‌تر، بالاتر و اسیدی‌تر از منطقهٔ شرق مازندران است (Asadi & Akhlaghi, 2015) و به نظر می‌رسد این شرایط اقلیمی تأثیر فراوانی بر تنوع گیاهان آن مناطق داشته است.

نژادگان‌های cvTLAqanbari60 و cvTLGILtaghipour82، cvTLAbakhtiari72 که گل‌های با اندازهٔ بزرگ را شامل می‌شدند ولی از لحاظ اندازهٔ میوه کوچک بودند در ربع پایینی و در یک گروه قرار گرفتند. بیشتر نژادگان‌های این پژوهش همچون نژادگان‌های cvTLAbakhtiari224 و cvTLSDrMoradi که کوچک‌ترین گل و میوه را شامل می‌شدند در یک گروه قرار گرفتند. نتایج Effati & hadadinejad (2016) در زمینهٔ افزونش این دو رقم نشان داد cvTLAbakhtiari224 در صورت افزونش با قلمه ریشه به حالت خارداری بازگشت

نژادگان cvTLSafzalian81 که بزرگ‌ترین اندازهٔ میوه و اندازه و طول گل و میزان قند میوه کمتری را داشت به‌صورت مجزا در ربع بالایی قرار گرفت. نژادگان‌های cvTLSasadi26، cvTLNurnazari53 و cvTLBmiladi85 که اندازهٔ بزرگ‌تر گل و میوه را دارند در یک گروه در بخش مرکزی ربع قرار گرفتند عمدهٔ این رقم‌ها به همراه رقم cvTLSafzalian81 که در نیمهٔ بالایی نمودار دوبعدی قرار گرفته‌اند از لحاظ رنگ میوه پیش از رسیدن نیز از دیگر گروه‌های این تجزیه متمایز بودند، به‌طوری‌که میوهٔ آن‌ها برخلاف دیگر رقم‌ها پیش از رسیدن به‌جای داشتن رنگ قرمز روشن رنگ قرمز تیره داشتند (شکل ۲) و به نظر می‌رسد همچون رقم cvTLRahmadi54 که از رامسر به کلکسیون اضافه شده است به‌طور عمده در غرب استان مازندران که اقلیم متفاوت‌تری نسبت به شرق دارد متمرکز شده‌اند. شرایط اقلیمی منطقه تأثیر فراوانی بر تنوع گیاهان آن مناطق دارد. بافت خاک، ساختمان خاک، مواد آلی، ظرفیت نگهداری آب خاک

دسته اول

گروه اول از دسته اول با میزان تفاوت حدود ۱۰ درصد خود به دو زیرگروه دیگر تقسیم شد که زیرگروه اول شامل ۱۴ نژادگان از ساری، بابل و آمل و یک نژادگان از گیلان بود که از لحاظ صفات مربوط به طعم اشتراک داشتند و دو رقم بی خار (cvTLAbakhtiar224= Thornless Evergreen) و (cvTLSDrMoradi= Everthornless) را که به ترتیب متعلق نسل‌های اول (بافت ناهمسان فراپوش) و دوم (کشت بافت لایه شیمیر) بی‌خاری در تمشک سیاه بودند را در بر می‌گرفت. این زیرگروه بیشترین شمار نژادگان‌های تمشک بی‌خار را شامل می‌شد که گویای فراوانی بالاتر نسل‌های اولیه تمشک سیاه بی‌خار در مازندران است.

در مقاله‌ای مروری Coyner (2004) ضمن بر شمردن تاریخچه بی‌خاری تمشک اعلام کرد که نخستین نمونه تمشک بی‌خار از نوع شیمیر بوده و پس از آن لایه بی-خاری این نمونه با کشت بافت تبدیل به رقم به‌کلی بی-خار ژنتیکی شده است که بی‌خاری آن از نوع مغلوب بوده است. ایشان همچنین در ادامه تولید رقم‌های چهارگان به بالا و بی‌خار را گام بعدی این تکامل و در نهایت معرفی رقم‌های بی‌خار با ژن بی‌خاری غالب را به‌عنوان چهارمین منبع بی‌خاری در تمشک سیاه برشمردند و آن‌ها را با نشانگر مولکولی تصادفی نیز بررسی و تأیید کردند (Coyner et al., 2008).

می‌کند و متعلق به نخستین نسل تمشک سیاه بی‌خار است که بی‌خاری آن از نوع شیمیر فراپوش است. اما در موقع افزودن با قلمه ریشه نیز تولید نهال بی‌خار می‌کند. با توجه به همانندی بالای این دو رقم و قرار گرفتن آن‌ها در یک ناحیه از تجزیه دوبعدی به نظر می‌رسد دو نسل اولیه بی‌خاری تمشک شامل بافت ناهمسان (شیمیر) فراپوش ناشی از جهش (cvTLAbakhtiar224=Thornless Evergreen) و رقم ناشی از کشت بافت لایه شیمیر آنکه به‌صورت ژنتیکی بی‌خار (نوع مغلوب) بود (cvTLSDrMoradi= Everthornless) در اینجا قابل مشاهده هستند.

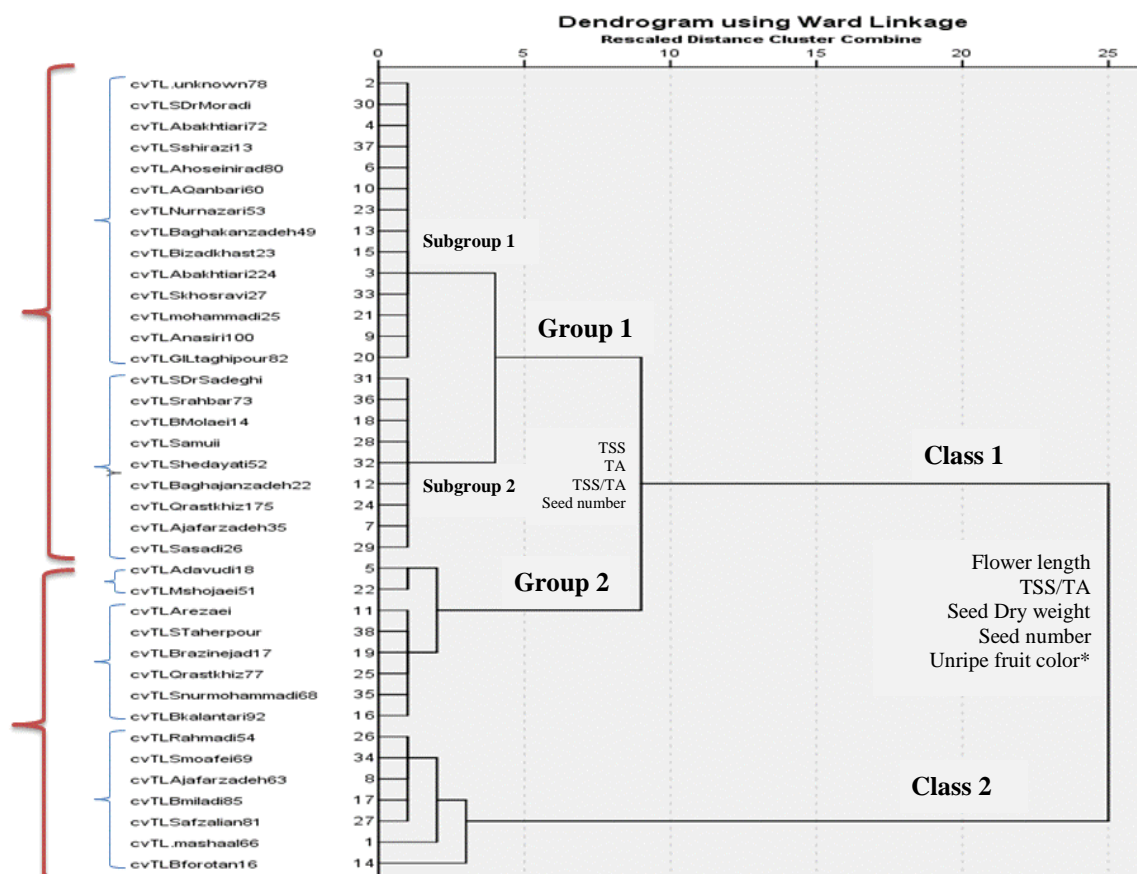
تجزیه خوشه‌ای با نشانگر ریخت‌شناختی

در این بررسی برای ارزیابی فاصله همانندی‌ها و تفاوت‌های نژادگان‌های تمشک بی‌خار و همچنین گروه‌بندی آن‌ها از تجزیه خوشه‌ای (شکل ۳) استفاده شد. بنابر نتایج نمونه‌ها بر مبنای تفاوت معنی‌دار طول گل، نسبت میزان قند به اسید و شمار و وزن بذر نمونه‌های درون آن‌ها در دو دسته مجزا با ۱۰۰ درصد تفاوت قرار گرفتند، که دسته اول با میزان تفاوت حدود ۳۸ درصد به دو گروه و آن‌ها هم در فاصله کمتر از ۲۰ درصد به زیرگروه تقسیم شدند. دسته دوم شامل ۷ نژادگان بود که با میزان حدود ۱۰ درصد تفاوت به دو گروه و زیرگروه کوچک‌تر تقسیم شد.



شکل ۲. تفاوت رنگ میوه پیش از رسیدن در دو نمونه تمشک سیاه بی‌خار شامل نمونه رامسر cvTLRahmadi5 (سمت راست) و نمونه ساری ۱۰ (سمت چپ)

Figure 2. The difference between pre-ripening color in two thornsless blackberry from Ramsar (right) and Sari (left)



شکل ۳. تجزیه خوشه‌ای برای صفات رویشی نمونه‌های بی‌خار برای تعیین وضعیت آن‌ها (صفات نوشته‌شده در بین هر شاخه در سطح ۵ درصد به‌طور معنی‌داری بین افراد گروه متفاوت بوده‌اند به‌جز صفت رنگ میوه نارس که معنی‌دار در سطح ۱۰ درصد است)

Figure 3. Cluster analysis for vegetative traits of thornless genotypes (the divisions were significant in 0.05 level based on the typed traits except for unripe fruit color 0.10 level)

سمت دریا) و cvTLBkalantari92 از منطقه بندپی غربی روستای سنگرودپی بابل (واقع در نزدیکی مناطق مرتفع دامنه‌های البرز) که به ترتیب در گروه‌های اول و دوم تجزیه خوشه‌ای با نشانگر ریخت‌شناختی جای داشتند، بر پایه نتایج نشانگر مولکولی با بیش از ۶۰ درصد تفاوت از یکدیگر تفکیک شدند که گویای بروز تنوع ژنتیکی در یک محدوده جغرافیای بود.

همچنین در زیرگروه دوم از دسته اول دو نمونه بی‌خار از آمل و میاندرد ساری در یک زیر دسته قرار گرفته و با فاصله کمتر از ۱۰ درصد از شش نمونه دیگر این زیرگروه که از آمل، بابل، ساری، قائم‌شهر بودند تفکیک شدند. آنچه مسلم بود برخلاف نتایج نشانگر ریخت‌شناختی در مورد نمونه‌های وحشی و خاردار تمشک سیاه (Hadadinejad & Moradi 2016) سازگاری جغرافیایی برای نمونه‌های بی‌خار

شمار نه نژادگان قرار گرفته در زیرگروه دوم این گروه از لحاظ میزان قند و همچنین وزن بذره‌های یک میوه با یکدیگر همانندی داشتند و افزون بر نمونه‌های دریافتی از ساری، آمل و بابل یک نژادگان از قائم‌شهر هم در آن قرار داشت. در پژوهشی Abdi *et al.* (2018) با استفاده از ۱۰ نشانگر ISSR دریافتند این نژادگان بی‌خار مربوط به قائم‌شهر بیش از ۷۰ درصد همانندی ژنتیکی با رقم Everthornless دارد و به نظر می‌رسد این دو نمونه یکی بوده‌اند و پس از جابه‌جایی بین این دو شهر هم‌جوار دوباره گردآوری شده و به کلکسیون انتقال یافته‌اند (cvTLSDrMoradi=). افزون بر این (cvTLQrastkhiz175=Everthornless). در نتایج پژوهش Abdi *et al.* (2018) دو نمونه مشترک دیگر با این پژوهش به نام cvTLBizadkhast23 از منطقه امیرکلا بابل (واقع در شمال بابل و در مناطق کم ارتفاع

می‌رسد نژادگان‌های به‌طور عمده پر رشد این دسته مربوط به نسل سوم تمشک‌های سیاه بی‌خار شامل نمونه‌های رقم مرتون (Merton Thornless) هستند که بیشتر چندان و پر رشدند.

نتیجه‌گیری نهایی

صفت بی‌خاری تمشک سیاه از یک جهش و به‌صورت بافت ناهمسان آغاز و پس از آن به‌صورت یک صفت مغلوب ژنتیکی بررسی و سپس با معرفی منابع جدید بی‌خاری ژنتیکی، نژادگان غالب آن نیز تکامل‌یافته و معرفی شده است. تکامل این صفت همچنان ادامه دارد که شامل ترکیه (Coyner, 2004) در همسایگی ایران نیز می‌شود. خزانه ژنی تمشک سیاه بی‌خار ایران تنها محدود به نوع اولیه و بافت ناهمسان آن نیست. بلکه نمونه‌هایی از دو گام تکامل بعدی آن شامل نمونه ژنتیکی مغلوب به‌دست‌آمده از کشت بافت لایه شیمر (cvTLQrastkhiz175 از ساری و cvTLSDrMoradi2) از قائمشهر) و نمونه ژنتیکی نوع مرتون بی‌خار (چندان و پر رشد از رامسر) را در بر داشته و حتی ممکن است شامل برخی نمونه‌های جدید و تکامل‌یافته‌تر آن‌ها نیز باشد. هرچند بی‌خاری نوع غالب (شاخه بارده با نیمه پایینی خاردار و نیمه بالایی بدون خار) و یا همراه با باردهی روی شاخه یک‌ساله (Clark & Salgado, 2016) در این پژوهش مشاهده نشد. اما وجود همبستگی‌های مثبت و منفی بین صفات بذر و میوه، نویدبخش امکان بهبود ژنتیکی این صفات چالش‌برانگیز با اعمال روش‌های به‌نژادی آن‌ها خواهد بود.

سپاسگزاری

این طرح با حمایت پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان انجام شده، بدینوسیله از مدیریت و کارکنان محترم آن مرکز، تشکر و قدردانی می‌گردد.

به‌طور قابل توجهی وجود ندارد. دلیل این امر می‌تواند به توسعه بیشتر این رقم‌ها و تمایل بالای تمشک‌کاران به تبادل مواد گیاهی آن‌ها باشد که باعث شده است در سراسر استان مازندران و حتی استان گیلان نیز پراکندگی آن‌ها مشاهده شود.

بنابراین بر پایه به‌کارگیری نشانگرهای ریخت‌شناختی دست‌کم دو منبع بی‌خاری تمشک شامل بافت ناهمسان و ژنتیکی مغلوب در نمونه‌های یک زیرگروه این دسته مشاهده شد اما با وجود تأیید تنوع در تمشک سیاه بی‌خار ایران، تفکیک آن‌ها بر پایه داده‌های ریخت‌شناختی امکان‌پذیر نبود.

دسته دوم

دسته دوم شامل شش نمونه بود که چهار نمونه آن در یک گروه قرار داشته و مابقی با فاصله بسیار کمی از آن‌ها تفکیک شدند. صفت مشترک این رقم‌ها، تفاوت در رنگ میوه پیش از رسیدن بود. به‌طوری‌که میوه آن‌ها برخلاف دیگر رقم‌ها پیش از رسیدن به‌جای داشتن رنگ قرمز روشن، رنگ قرمز تیره (شکل ۲) داشت. این رقم‌ها شامل نمونه‌ای پر رشد و پر محصول از رامسر واقع در غرب استان مازندران بود و به نظر می‌رسد با توجه به نتایج تجزیه دوبعدی، بیشتر از آن منطقه که از لحاظ اقلیمی متفاوت‌تر و مساعدتر از منطقه شرق مازندران است منشأ یافته و آنگاه به دیگر نقاط استان انتقال یافته است. شرق و غرب مازندران اقلیم متفاوت دارد و این تفاوت روی تنوع نژادگان‌های بی‌خار بی‌تأثیر نخواهد بود. به‌عنوان مثال مناطق شرقی خاک آهکی و مناطق غربی خاک اسیدی داشته و قابلیت استفاده عنصرهای غذایی از خاک تحت تأثیر pH آن است (Asadi & Akhlaghi, 2015).

با توجه به تفاوت صفات ریخت‌شناختی مشاهده‌شده در دسته دوم تجزیه خوشه‌ای به نظر

REFERENCES

1. Abdi, N., Moradi, H. & Hadadinejad, M. (2017). Evaluation Genetic Diversity between blackberry cultivars. *the first international and second national agriculture, environment and food safety conferences*, Jiroft. 336-368. (in Farsi)
2. Ahmadi, K., Gholizadeh, H., Ebadzadeh, H. R., Hosseinpour, R., Hatami, F., Abdshah, H., Rezaei, M. M., Kazemifard, R. & Fazli Estabragh M. (2015). *Agricultural Statistics in 2013*. Center for Information and Communication Technology, Department of Planning and Economic, Ministry of Agriculture, 147. (in Farsi)

3. Asadi Kangar Shahi, A. & Akhlaghi Amiri, N. (2015). *Advanced and Applied citrus nutrition*. Volume 1. Agriculture Education & Promotion Publication (EATK pub). 3112p. (in Farsi)
4. Castro, P., Stafne, E. T., Clark, J. R. & Lewers, K. S. (2103). Genetic map of the primo cane fruiting and thornless traits of tetraploid blackberry. *Theoretical Applied Genetics*. DOI 10.1007/s00122-013-2152-3.
5. Clark, J. R. & Finn, C. E. (2011). Blackberry breeding and genetics. Fruit, vegetable and cereal science and biotechnology. *Global Science Books*, 5(1), 27-43.
6. Coyner, M. R., Skirvin, R. M., Norton, M. A. & Otterbacher, A. G. (2004). Thornlessness in blackberries: a review. *Small Fruits Review*, 4, 83-106.
7. Coyner, M. R., Skirvin, R. M., Norton, M. A. & Uchanski, M. E. (2008) Assessment of genetic variation among thornless blackberries (*Rubus* spp.) using random amplified polymorphic DNA. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 83(5), 543-548.
8. Clarck, J. R. & Salgado, A. (2016). Prime-Ark Traveler' Primo cane fruiting thornless blackberry for the commercial shipping market. *HORTSCIENCE*, 51(10), 1287-1293.
9. Dimić E. B., Vujanović V. B., Radočaj O. F. & Pastor O. P. (2012). Characteristics of blackberry and raspberry seeds and oils. *Original scientific paper*. APTEFF, 43, 1-342.
10. Effati, A. R. & Hadadinejad, M. (2016). Propagation of blackberry via root cuttings, In proceeding of *1th national symposium on small fruits*, 11-15, Sep., hamadan, Iran. (in Farsi)
11. Gharaghani, A., Eshghi, S., Momeni, S. H. A. & Keshavarz, Z. (2011). Establishment of first collection of Iranian rubus germplasm a preliminary study of genetic diversity pomological potential and nutritional value of the accession. In: Proceedings of *13th Eucaroia symposium on fruit breeding and genetics*, 11-15, Sep., Warsaw, Poland. p.137.
12. Ghasemi, K., Haddadinejad, M. & Mohammadi, A. A. (2016). The comparison of antioxidant activity among three blackberry types in Mazandran. In: Proceedings of *1st national symposium on small fruits*, Hamedan 15-16 September. (in Farsi)
13. Hadadinejad, M. & Moradi, H. (2016). Evaluation of genetic diversity of some Iranian black berries based on morphological traits. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 47(2), 371-382. (in Farsi)
14. Hadadinejad, M., Qasemi, S. & Azimi, F. (2015). Morphological diversity of black berries in some regions in Mazandaran province. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 46(2), 333-343. (in Farsi)
15. Jafari Najaf-Abadi, A. & Hamidoghli, Y. (2009). Micropropagation of thornless trailing blackberry (*Rubus* sp.) by axillary bud explants. *Australian Journal of Crop Science*, 3(4), 191-194.
16. Murray, H. G. & Thompson, W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acids Resources*, 8, 4321-4325.
17. Özdemir, E., Ayanoglu, H., Gündüz, K. & Bayazit, S. (2008). Determination of vegetative and fruit characteristics of thornless blackberry genotypes in Hatay (Turkey). *International Journal of Fruit Science*, 5(2), 77-83.
18. Perasovic, I. (2013). *Red raspberry (Rubus idaeus L.) cultivars in a Nordic climate - morphological traits and berry quality*. Department of Plant and Environmental Sciences.
19. Funt, R. C. (2013). Growth and development. In: RC Funt and Harvey KH (Eds), *Raspberries*. (Pp 21-31) CABI.
20. Sedighi, E. & Rahim malek, M. (2015). Evaluation of genetic diversity of *Rubus hyrcanus* using Inter simple sequence repeat (ISSR) and morphological markers. *Biologia*, 70(3), 339-348.
21. Shams, Z., Tafazoli, E. & Eshghi, S. (2015). Response of 10 Iranian native blackberries in high temperature stress. in proceeding of *9th Iranian Horticultural Science Congress*, Ahvaz 5-8 February. (in Farsi)
22. Swanson, J. D., Carlson, J. E., FernándezFernández, F., Finn, C. E., Graham, J., Weber, C. & Sargent, D. J. (2012). Blackberries and Raspberries In: M.L. Badenes and D.H. Byrne (eds.), *Fruit Breeding, Handbook of Plant Breeding*. Springer.
23. UPOV for black berry. (2006). International union for the protection of new varieties of plants, TG/73/7.
24. Wada, S. & Reed, M. B. (2010). Seed coat morphology differentiates blackberry cultivars. *Journal of the American Pomological Society*, 64(3), 151-160.
25. Wrolstad, R. E. (1976). *Color and pigment analysis in fruit products*. Station Bull. 621. Agr. Exp. Sta. Oregon State Univ., Corvallis, OR, USA.
26. Zargari, A. (1989). *Medicinal Plants*. Tehran University Publication. (in Farsi)