Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 52, No 4, Winter 2022 (913-926)
DOI: 10.22059/ijhs.2020.310279.1855

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۴۰۰ (ص ۹۲۶-۹۱۳)

نشریه پژوهشی:

ارزیابی جمعیت‌های اسفناج ایران از دیدگاه مطالعه همزمان صفات مورفولوژیک، شاخص‌های فتوسنتزی و انباشت اکسالات

سید فاضل میراحمدی[۱]، محمد رضا حسندخت[۲*]، محمدرضا فتاحی مقدم[۲]، محمدرضا نقوی[۲] و کرامت اله رضایی[۲]
۱ و ۲. دانشجوی دکتری و استاد، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۳۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۲۹)

چکیده

اسفناج به سبب داشتن ارزش غذایی و اقتصادی بالا، همواره مورد توجه اصلاحگران بوده است. در این پژوهش تعداد ۴۰ جمعیت متعلق به ۳ گونه *Spinacia oleracea*، *S. turkestanica* و *S. tetrandra* از سراسر ایران، به علاوه یک جمعیت از کشور افغانستان و نیز دو رقم اصلاح شده Viroflay و Baby spinach ، ژرم‌پلاسم مورد مطالعه را تشکیل دادند. در راستای انجام این آزمایش، تعداد ۳۳ صفت در سه گروه مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد ساختار ژنتیکی ژرم‌پلاسم حاضر دارای تنوع مناسبی برای صفات مورد بررسی بود. میانگین ضریب تغییرات صفات مورد مطالعه ۲۹/۸ درصد بدست آمد. تجمع اکسالات در بین جمعیت‌های مورد مطالعه دارای تفاوت معنی‌داری بود. کمترین میانگین انباشت اکسالات ۶۸۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر در جمعیت کرج از گونه اهلی *S.oleracea* و بیشترین مقدار ۲۹۰۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر در جمعیت بزنگان از گونه وحشی *S. turkestanica* مشاهده شد. نتایج آنالیز خوشه‌ای، جمعیت‌های دو گونه وحشی را در یک گروه مشترک و جدا از بقیه قرار داد. ضرایب همبستگی صفات مورد بررسی از ۰/۸۳- تا ۰/۹۹ متغیر بود. در مجموع ۴۳/۱ درصد از تمام روابط متقابل بین ۳۳ صفت موجود دارای همبستگی معنی‌دار در سطح ۱ یا ۵ درصد بود. نتایج همبستگی نشان داد که گیاه با شاخص کارایی بیشتر، از ماندگاری پس از برداشت بیشتری نیز برخوردار بود. همچنین از میان تمام صفات تنها صفت تاول دار بودن سطح برگ دارای همبستگی منفی و معنی‌دار با صفت انباشت اکسالات بود.

واژه‌های کلیدی: آنالیز کلاستر، ژرم‌پلاسم ، شاخص کارایی، کلروفیل فلورسانس، همبستگی صفات.

Evaluation of Iranian spinach populations by the synchronic study of morphological traits, photosynthetic indices and oxalate accumulation

Seyed Fazel Mirahmadi[1], Mohammad Reza Hassandokht[2*], Mohammad Reza Fattahi Moghadam[2], Mohammad Reza Naghavi[2] and Karamatollah Rezaee[2]
1, 2. Ph.D. Candidate and Professor, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Sept. 21, 2020- Accepted: Dec. 19, 2020)

ABSTRACT

Spinach, due to high nutrition and economic value, highly regarded by the breeders. In this research, 40 populations belonging to three species of *Spinacia oleracea*, *S. turkestanica*, and *S. tetrandra* from most parts of Iran, along with a wild population from Afghanistan and two commercial cultivars Viroflay and Baby spinach, formed the studied germplasm. Thirty-three traits were classified under three groups of morphological, physiological, and biochemical. The results showed that the germplasm had a rich genetic structural diversity for the studied traits. The average coefficient variance of the studied traits was 29.8%. Oxalate accumulation showed a significant difference in the studied populations. The minimum oxalate accumulation was observed in the Karaj population of *S. oleracea* with 682 mg per 100 g FW. The maximum accumulation was found in the Bazangan population, the wild species of *S. turkestanica*, with 2902 mg per 100 g FW. The cluster analysis results put the two wild species populations in the same group and separated from the other ones. The coefficients of correlation were ranged from -0.83 to 0.99. In total, 43.1% out of all trait's interactions had a significant correlation (α = 0.01 or 0.05). The correlation results showed that the plant with a higher performance index had more freshness after harvesting. Also, the blistering was the only trait of among of all that had a significant negative correlation with oxalate accumulation.

Keywords: Chlorophyll fluorescence, cluster analysis, germplasm, performance index, trait correlation.

* Corresponding author E-mail: mrhassan@ut.ac.ir

مقدمه

گیاه اسفناج متعلق به تیره Chenopodiacea، دارای یک گونه اهلی *Spinacia oleracea* L. و دو گونه وحشی شناخته‌شده به نام‌های *S. turkestanica* و *S. tetrandra* در دنیا می باشد. این دو گونه وحشی عموماً در نواحی غرب آسیا پراکنش دارند (Astley & Ford-Lloyd, 1981). مطالعات مختلف خاستگاه اصلی اسفناج اهلی امروزی را آسیای مرکزی و ایران معرفی نموده اند، به طوری که وقتی این گیاه برای اولین بار ۶۰۰ سال بعد از میلاد از ایران به چین انتقال یافت آنرا گیاه سرزمین فارس نامیدند (Morelock & Correll, 2008; Ryder, 1979; Swiader *et al.,*1992).

اسفناج سبزی برگی فصل خنک می باشد که ساختار رویشی روزت آن مورد استفاده خوراکی دارد. این گیاه به عنوان یکی از پرطرفدارترین و اقتصادی‌ترین محصولات سبزی برگی به طور گسترده‌ای در دنیا کشت و کار می‌شود (Van Treuren *et al.,* 2012). این محصول همچنین به این خاطر که سرشار از ترکیبات مغذی مانند بتاکاروتن، لوتئین، فولات، ویتامین ث، کلسیم، آهن، فسفر و پتاسیم است، از سالم‌ترین سبزی‌ها در رژیم غذایی انسان محسوب می‌شود (Correll *et al.*, 2011; Lester *et al.,* 2013). با این وجود اسفناج دارای محتوای نسبی بالایی از ترکیبات اکسالاتی در مقایسه با بیشتر محصولات باغبانی است که علاوه بر تاثیر روی مزه گیاه بر سلامت انسان نیز اثر منفی دارد (Kaminishi & Kita, 2006; Kawazu *et al*., 2003; Shi *et al*., 2016). علیرغم اینکه عمده اسید اکسالیک موجود در بدن انسان محصول متابولیسم طبیعی سلول‌های آن است، اما مطالعات ثابت نموده است که رژیم غذایی محتوی سطوح بالای اسید اکسالیک می‌تواند باعث بروز هایپراُکسالوریا و نهایتاً تشکیل سنگ‌های کلیوی و بیماری های مرتبط با آن گردد (Freidig & Goldman, 2011; Mou, 2008). از سوی دیگر مطالعات پیشین نیز نشان داده است که تنوع بالایی از لحاظ انباشت اکسالات در ژرم پلاسم اسفناج وجود دارد که آنرا مستعد اصلاح به منظور تولید ارقام کم اکسالات می‌نماید (Kitchen *et al.,* 1964; Mou, 2008).

بررسی صفات مورفولوژیک از روش های معتبری است که در برآورد شاخص‌های تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها و رقم های مختلف یک گونه گیاهی و نیز غربالگری آنها مورد استفاده قرار می‌گیرد (Obando *et al*., 2007; Obando-Ulloa *et al*., 2009). پژوهش-های گذشته به خوبی نشان داده است که تنوع زیادی در جمعیت‌های اسفناج ایران وجود دارد و این جمعیت‌ها انطباق بالایی از لحاظ ژنتیکی با محیط ویژه خود یافته اند. این تنوع مشاهده شده در صفات مختلف گیاه اسفناج، می تواند منبع مناسبی جهت برنامه های آتی اصلاحی در این گیاه باشند (Asadi & Hasandokht, 2007; Eftekhari *et al.,* 2010; Sabaghnia *et al.,* 2015).

در رویکردی نسبتاً جدید و مهیج به منظور ارزیابی و تشخیص ظرفیت عملکردی دستگاه فتوسنتزی یک گیاه، از پارامترهای فلورسانس و محتوای کلروفیل آن که می‌توانند اطلاعات مفیدی را در اختیار پژوهشگران حوزه مطالعات کشاورزی قرار دهند، استفاده شده است (Živčák *et al.,* 2008; Souri & Hatamian, 2019). این شاخص‌های فیزیولوژیکی برآمده از ظرفیت ژنتیکی گیاه در تقابل با محیط اطراف می-باشند. بنابراین انتخاب مناسب این صفات می تواند با کارایی بالایی در تخمین عملکرد نهایی گیاه مورد استفاده قرار گیرد (Araus *et al.,* 1998; Svobodová & Misa, 2004). در همین راستا مطالعات موجود، کلروفیل فلورسانس را به عنوان کاوشگری مناسب و دقیق از عملکرد گیاه در دامنه وسیعی از شرایط محیطی معرفی نموده است . بنابراین استفاده از این صفات به عنوان رهیافتی نوین در انتخاب گیاهان به منظور برنامه های اصلاحی می‌تواند کاربرد موفقیت آمیزی داشته باشد (Genty *et al.,* 1987; Ghashghaie *et al.,* 1992). به طور خلاصه می‌توان گفت گرچه این پارامترها پیشتر و بیشتر در بررسی گیاهان تحت تنش استفاده شده‌اند، اما به نظر می‌رسد می توانند در پروژه‌های غربالگری و به منظور انتخاب گیاهان با صفات مورد نظر در برنامه های اصلاحی نیز سودمند واقع شوند.

استفاده از روش‌های آماری چند متغیره به

منظور ارزیابی و طبقه‌بندی ژرم‌پلاسم گیاهان باغبانی، بخصوص زمانی که با تعداد زیادی از جمعیت‌ها سروکار داریم بسیار کارآمد هستند. در این روش ها می توان صفات متعدد و متنوعی را به طور همزمان جهت غربالگری جمعیت‌های موجود مورد ارزیابی قرار داد. اطلاعات بدست آمده از این روش‌ها می‌تواند به منظور شناسایی جمعیت‌های، ارقام و ژنوتیپ‌های مستعد مورد نیاز برای برنامه های اصلاحی بسیار مفید باشد (Ayana & Bekele, 1999; Damania *et al.,* 1996). از طرف دیگر شناسایی همبستگی گروه بزرگی از صفات متفاوت در گیاه مورد نظر می‌تواند امکان برنامه ریزی مناسب‌تری را در زمانی که چندین جنبه اصلاحی به طور همزمان در اصلاح یک گیاه مورد توجه است، برای اصلاحگر فراهم نماید (Ribeiro *et al.,* 2016).

مطالعات مختلف پیشین نیز همبستگی بین صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی را در گیاهان مختلف تایید نموده‌اند و اطلاعات حاصل از این پژوهش‌ها را وسیله ارزشمندی جهت انتخاب ژنوتیپ‌های مناسب اصلاحی دانسته‌اند (Sarikhani Khorami & Vahdati, 2019; Shubha & Singh, 2018). بررسی تنوع مورفولوژیکی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی و نیز یافتن ارتباط احتمالی بین این صفات می‌تواند برای اصلاحگران بسیار حائز اهمیت باشد. به طور مثال دستیابی به همبستگی بین صفات مورفولوژیک یا فیزیولوژیک دارای توراث پذیری بالا با صفت انباشت پایین اسید اکسالیک، امکان دستیابی به نشانگرهای کارآمد و قابل اطمینان جهت انتخاب کم هزینه و آسان جمعیت‌ها و ژنوتیپ های کم اکسالات اسفناج را در پروژهای اصلاحی ممکن می‌سازد. از طرف دیگر مطالعات سیتوژنتیکی متعددی که در گذشته بر روی گونه های مورد مطالعه در این تحقیق انجام شده است، سطح پلوئیدی و تعداد کروموزوم های گونه های این جنس را مشابه هم (2n= 2x= 12) گزارش نموده است که علاوه بر دلالت بر قرابت ژنتیکی این گونه ها بیانگر امکان تلاقی‌های موفق بین گونه ای در گیاهان این جنس می‌باشد (Ito *et al*., 2000; Morelock & Correll, 2008). بنابراین با توجه به مطالب گفته شده، این پژوهش به عنوان مطالعه‌ای فراگیر با هدف غربالگری جمعیتهای اهلی و وحشی اسفناج با در نظر گرفتن جنبه‌های متفاوت صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و انباشت اکسالات انجام گردید. همچنین یافتن روابط همبستگی احتمالی بین این صفات، به منظور افزایش سهولت انتخاب جمعیت یا گیاهان مناسب برای اصلاح اسفناج از جنبه‌های مختلف عملکردی، افزایش کیفیت غذایی و نیز شاخص‌های مرتبط با راندمان فتوسنتزی از اهداف دیگر این تحقیق بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در گلخانه تحقیقاتی گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران- کرج، در پاییز و زمستان سال ۱۳۹۸ در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار و با ۸ مشاهده اجرا شد. ژرم پلاسم مورد استفاده در این مطالعه شامل ۴۳ جمعیت متعلق به هر سه گونه موجود اسفناج به صورت بذر جمع آوری گردید. تعداد ۳۲ رقم محلی بعلاوه یک جمعیت وحشی متعلق به گونه اهلی *S. oleracea* به ترتیب از مناطق سبزیکاری سراسر کشور و روستای پاچنار شهرستان لوشان استان گیلان جمع آوری گردید. به منظور جمع آوری بذر دو گونه وحشی *S. turkestanica* و *S. tetrandra* با استفاده از فلورها و منابع موجود اقدام به شناسایی مناطق پراکنش در ایران شد (Rechinger, 1963). تعداد ۸ جمعیت از هر دو گونه (هرکدام ۴ جمعیت) در اواسط تیر ماه سال ۱۳۹۷ و ۱۳۹۸ جمع آوری شدند (جدول ۱). دو رقم اصلاح شده ویروفلای و بی بی اسفناج که هر دو متعلق به گونه اهلی *S. oleracea* بودند نیز به عنوان شاهد در کنار سایر جمعیت‌ها کشت شدند. فاصله بین ردیف‌ها ۲۰ سانتی متر و فاصله بوته ها روی ردیف‌ها ۱۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. به منظور آبیاری یکنواخت از سیستم آبیاری نواری استفاده گردید. در طول دوره رشد گیاه، دمای هوا بین ۵ درجه سانتی گراد تا ۳۰ درجه سانتیگراد در نوسان بود. حداقل و حداکثر نوسان دمای روزانه به ترتیب ۸ و ۱۵ درجه سانتیگراد بود. طول روز از ۱۰ ساعت و ۷ دقیقه تا ۱۱ ساعت و ۶ دقیقه در مدت آزمایش ثبت شد.

جدول ۱. محل جمع‌آوری و مشخصات جغرافیایی جمعیت‌های وحشی اسفناج.
Table 1. Site of collection and geographical properties of wild populations of spinach.

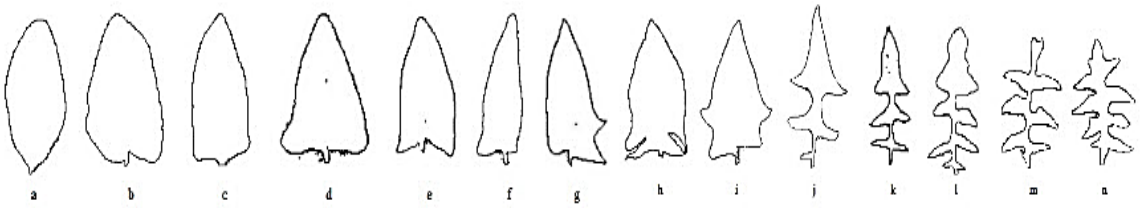
No.	Populations	Species	Collection site	Latitude (N)	Longitude (E)	Altitude (m)
1	Lowshan	*S. oleraceae*	Gilan, Lowshan, Pa chenar	36°35′27.2″	49°32′01.9″	1005
2	Cheshmehshour	*S. turkestanica*	Razavi Khorasan, Cheshmehshour	60°36′17″	36°31′04″	450
3	Bazangan	*S. turkestanica*	Razavi Khorasan, Bazangan	60°29′60″	36°18′57″	857
4	Afghanistan	*S. turkestanica*	Afghanistan, Baghlan, Doshi	68°40′12″	35°37′12″	528
5	Bojnurd	*S. turkestanica*	North Khorasan, Bojnurd	37°28′	57°20′	1070
6	Aslan Duz	*S. tetrandra*	Ardabil, Aslan Duz	39°26′38"	47°24′20″	1400
7	Meshgin Shahr	*S. tetrandra*	Ardabil, Meshgin Shahr	38°44′	47°40′	1400
8	Aq Qasemlu	*S. tetrandra*	Ardabil, Aq Qasemlu	38°38′15"	47°56′44″	1142
9	Kangarlu	*S. tetrandra*	Ardabil, Kangarlu	38°41′10"	47°56′42.6″	1791

سه گروه صفات در این آزمایش مورد مطالعه قرار گرفت که شامل صفات مورفولوژیکی و عملکردی، شاخص‌های فتوسنتزی و صفت بیوشیمیایی انباشت اکسالات کل بود (جدول ۲). تعداد ۲۳ صفت مورفولوژیک در جمعیت‌های موجود مورد ارزیابی قرار گرفت. مقادیر مربوط به اندازه‌گیری این صفات که در دو گروه صفات کمی و کیفی جای می‌گرفتند براساس توصیف نامه‌های موجود ثبت گردید (Anonymous, 2005; Doležalová *et al.,* 2002; UPOV, 2007). برای اندازه‌گیری رنگ برگ و ارزیابی میزان جلا و درخشندگی آن از دستگاه رنگ سنج مدل CR-400 شرکت کونیکا مینولتا استفاده شد. ثبت شکل برگ (شکل ۱) و آنالیز پارامترهای ابعادی سطح آن با استفاده از نرم افزار Image j نسخه ۱/۵۲ انجام شد. اندازه گیری درصد ماده خشک برگ با استفاده از ترازوی دیجیتال HR-200 به انجام رسید. بدین منظور ابتدا نمونه‌های برگ تازه، بلافاصله بعد از برداشت توزین شدند و به آون ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت انتقال یافتند. درصد ماده خشک نمونه‌ها پس از خشک شدن از تقسیم عدد بدست آمده از وزن خشک بر وزن تر ضربدر عدد ۱۰۰ بدست آمد. به منظور تعیین میزان شادابی و طراوت برگ‌های اسفناج بعد از برداشت از تست پنل و مشاهده ویژگی‌های ظاهری برگ استفاده گردید. بدین منظور از ۶ فرد آموزش دیده با جنسیت‌های مختلف و با سنین متفاوت (محدوده سنی ۲۰ تا ۵۰ سال) استفاده گردید. لیست پنل شامل صفات چروکیدگی، صاف ایستادن برگ، تردی و صفت شادابی کلی بود. این صفات در سه مقدار کم، متوسط و زیاد ارزیابی شدند. بدین منظور برگ‌های تازه به منظور مرحله پیش خنک سازی بلافاصله بعد از برداشت به یخچال ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت انتقال داده شد و بعد از آن به مدت دوساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. نمونه‌های برگ اسفناج در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی به منظور ارزیابی در اختیار افراد ارزیاب قرار داده شد.

به منظور اندازه‌گیری محتوای کلروفیل برگ‌های اسفناج و تعیین میزان سبزینگی برگ از دستگاه SPAD مدل ۵۰۲ شرکت Minolta استفاده گردید. بدین منظور از هر گیاه حداقل ۳ برگ بالغ و از هر برگ ۳ نقطه خوانش صورت گرفت و میانگین آنها ثبت گردید. به منظور ارزیابی شاخص‌های فتوسنتزی، فلورسانس کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه Handy- PEA شرکت Hansatech مالزی اندازه گیری شد. برای این منظور از محل پهنک برگ (سه برگ به ازای هر بوته) گیره گذاری به مدت ۲۰ دقیقه با هدف ایجاد تاریکی در محل مورد نظر انجام شد.

سپس با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل، نور قرمز به برگ تابانده شده و عامل Fm (فلورسانس حداکثر)، Fo (فلورسانس حداقل) و Fv (فلورسانس متغیر)، همچنین شاخص‌های Fv/Fm و Fv/Fo (حداکثر کارایی فتوسیستم ۲) و PI (شاخص کارایی یا کارایی هر دو فتوسیستم ۱و ۲) محاسبه گردید (Strasser *et al.,* 2000).

اندازه گیری اکسالات کل به روش شرح داده شده توسط Naik *et al.* (2014) انجام شد. بدین منظور ۰/۳ گرم از برگ تازه و بالغ اسفناج (برای هر جمعیت از هر بلوک میانگین ۳ مشاهده در ۳ تکرار) که با استفاده از نیتروژن مایع و هاون چینی کاملاً پودر شده بود به فالکن ۱۵ میلی‌لیتر انتقال یافت. به هر کدام از نمونه‌ها، ۶ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال اضافه شده و مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد.



شکل ۱. انواع شکل های برگ اسفناج مشاهده شده در ۴۳ جمعیت (شکل‌ها هم اندازه نیستند).
Figure 1. All of the spinach leaf shapes into 43 populations (the shapes aren't same scales).

مخلوط حاضر در این مرحله تا سرد شدن در دمای اتاق نگهداری شده و مجدداً با اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. به ۱ میلی لیتر از فاز مایع به دست آمده ۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۲ نرمال به همراه ۲ میلی لیتر پرمنگنات پتاسیم ۰/۰۰۳ مولار اضافه گردید. مخلوط به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شده و بعد از آن عدد جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۲۸ نانومتر قرائت شد. محلول استوک برای ساخت استاندارد اسید اکسالیک از حل کردن ۱۰۰ میلی گرم اسید اکسالیک شرکت Merck آلمان در اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال به دست آمد. غلظت‌های مختلف ۰/۱ تا ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، اکسالیک اسید ساخته و منحنی استاندارد رسم شد و غلظت اکسالات نمونه‌ها بر اساس میلی‌گرم اکسالات در ۱۰۰ گرم وزن تر نمونه بیان شد.

تجزیه و تحلیل داده ها

تجزیه واریانس مقایسات مستقل مقادیر انباشت اکسالات در جمعیت‌های مختلف اسفناج با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. به منظور تجزیه همبستگی بین صفات مورد بررسی از ضرایب پیرسون و اسپیرمن به ترتیب برای صفات پارامتری و غیر پارامتری استفاده گردید. ضرایب مورد اشاره و نیز داده‌های حاصل از آنالیز توصیفی صفات به‌وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ بدست آمد. به منظور رسم هیت‌مپ (Heatmap) و نیز خوشه‌بندی همزمان صفات به روش Ward از نرم‌افزار تحت وب CIMminer (https://discover.nci.nih.gov/cimminer/home.do) استفاده شد. تجزیه تابع تشخیص برای آزمون صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام شد. رسم منحنی هیستوگرام نیز با استفاده از نرم‌افزار Past نسخه ۱/۹۳ انجام گرفت.

نتایج و بحث

جدول توزیع فراوانی (جدول ۲) صفات مورد مطالعه در این پژوهش بخوبی بیانگر وجود درصد ضرایب تغییرات متنوع و مناسب در بین صفات مورد بررسی بود. این پارامتر که نشان‌دهنده میزان پراکندگی کمیت‌های سنجیده شده در هر صفت می‌باشد می‌تواند بیانگر پتانسیل اصلاحی توده های مورد مطالعه از نظر اصلاح صفات مورد نظر باشد. با توجه به ضرایب تغییر مناسب بدست آمده در این تحقیق می‌توان جمعیت‌های حاضر در این مطالعه را مستعد امور اصلاحی آتی در صفات مورد نظر دانست. *بیشترین* درصد ضریب تغییرات در گروه صفات مورفولوژیک در شکل برگ، اندازه سطح برگ، میانگین تعداد برگ بالغ در بوته و طول دمبرگ مشاهده شد. در گروه صفات فیزیولوژیک نیز بیشترین درصد ضریب تغییرات از شاخص کارایی (PI) که به عنوان پارامتر توصیف کننده قدرت زنده مانی گیاهان تحت تنش نیز شناخته می شود، بدست آمد (Živčák *et al.,* 2008). همچنین صفت انباشت اکسالات نیز حد متوسطی از ضریب تغییرات (۲۳/۹۶ درصد) را در بین صفات مورد مطالعه به خود اختصاص داد. این نتایج به طور مشابهی در مطالعات پیشین بر روی صفات مورفولوژیک و مقدار اکسالیک اسید اسفناج قابل مشاهده است (Abolghasemi *et al.,* 2019; Asadi & Hasandokht, 2007; Eftekhari *et al.,* 2010; Mou, 2008; Siener *et al.,*2006). هر چند در مورد صفات فیزیولوژیک مورد بررسی در این تحقیق، چنین مطالعه‌ای تا کنون صورت نگرفته است.

جدول ۲. آمار توصیفی صفات اندازه گیری شده در ۴۳ جمعیت اسفناج.

Table 2. Descriptive statistics of the measured traits into all of 43 spinach populations.

No.	Traits	Par/Non	Abb.	Min.	Max.	Mean	SD	CV (%)
1	Species	Non	Sp.	1	3	1.28	0.63	49.23
2	Domestic or wild	Non	D/W	1	2	1.21	0.41	34.04
3	Leaf area (cm2)	Par	LS	4.43	93.80	45.90	21.17	46.12
4	Leaf shape	Non	LSh	1	14	6.49	3.42	52.68
5	Growth uniformity (%)	Par	GU	0.62	100	73.40	19.86	27.05
6	Shape uniformity (%)	Par	ShU	50.00	100	92.05	15.20	16.51
7	Crispness	Non	Cr	1	3	1.63	0.58	35.46
8	Vegetative state	Non	VS	1	3	2.14	0.52	24.11
9	Average number of leaves	Par	NofL	6	27	10.93	5.71	52.20
10	Leaf width (cm)	Par	LW	1.70	8.40	5.28	1.43	27.09
11	Leaf length (cm)	Par	LL	3.40	17.50	11.01	2.90	26.35
12	Leaf length to leaf width	Par	LLLW	1.36	4.04	2.17	0.58	26.75
13	Plant height (cm)	Par	PH	10	28	16.29	4.62	28.39
14	Blistering	Non	Bl	1	4	2.14	0.77	36.17
15	Leaf tip shape	Non	LtipSh	1	4	2.51	0.592	23.58
16	Uniformity of leaf shape	Non	LShU	50	100	87.05	16.95	19.47
17	Petiole redness	Non	PR	1	3	1.86	0.47	25.11
18	Petiole length	Par	PL	2.00	19.50	7.87	4.16	52.91
19	Petiole thickness	Par	PTh	0.20	3.30	0.53	0.64	120.61
20	State of leaf margin	Non	LM	1	2	1.30	0.47	35.77
21	Polished (L index)	Par	Lin	32.96	47.25	41.06	3.37	8.20
22	Intensity of green color	Par	Gr	25.20	53.40	34.16	5.31	15.54
23	Freshness	Non	Fr	1	3	1.84	0.79	42.66
24	Dry matter (%)	Par	DM	8.09	13.35	9.42	1.49	15.79
25	Proportion of female plants (%)	Par	PoF	33	81	58.74	11.25	19.15
26	Minimum fluorescence	Par	Fo	184.00	355.00	228.07	30.82	13.52
27	Maximum fluorescence	Par	Fm	1129.00	1651.00	1327.33	100.55	7.58
28	Variable fluorescence	Par	Fv	921.00	1373.00	1099.26	79.50	7.23
29	Variable fluorescence to maximum fluorescence	Par	Fv/Fm	0.77	0.85	0.83	0.01	1.80
30	Variable fluorescence to minimum fluorescence	Par	Fv/Fo	3.41	5.63	4.87	0.46	9.41
31	Performance index	Par	PI	1.30	10.81	7.00	2.32	33.12
32	Total chlorophyl	Par	Tch	14.24	30.17	19.30	3.00	15.54
33	Total oxalic acid mg/100Fw	Par	OA	681.9	2901.6	1848.4	444.05	24.02

Par/Non (Parametric and Nonparametric traits), SD (Standard deviation), Sp. (1=*S. oleracea*, 2= *S. turkestanica*, 3=*S. tetrandra*), W/D (1= Domestic, 2= Wild), LSH (Figure 1; a=1 up to n= 14), Cr (1= slight, 2=semi-crispy, 3=crispy), VS (1= open, 2= semi-open 3=compact), Bl (1= smooth, 2= low blisters, 3= medium blisters, 4= high blisters), LtipSh (1= Round, 2=semi-round, 3= sharp, 4= two branches), PR (1= null, 2= semi red, 3= red), LM (1= savoy, 2= flat), Fr (1= withered, 2= Semi-fresh, 3= fresh)

غربالگری اکسالات

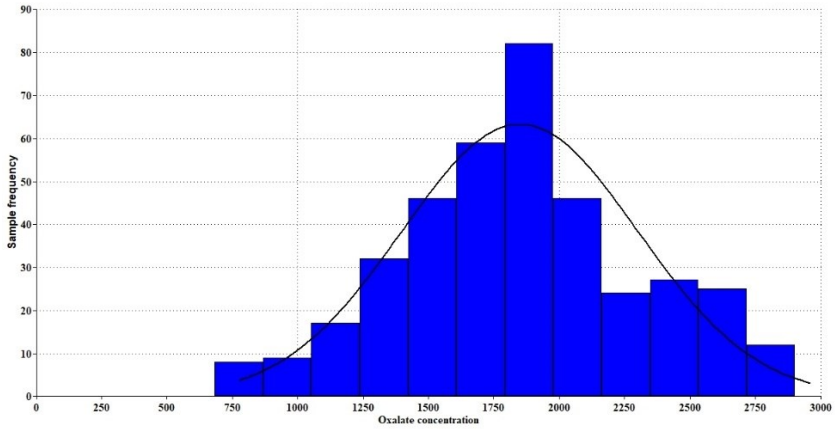
بررسی مقادیر اکسالات موجود در نمونه‌های این آزمایش بیانگر وجود تفاوت معنی‌داری از تجمع این ماده در بین جمعیت‌های مورد بررسی بود (جدول ۳). فراوانی انباشت اکسالات در ۳۸۷ نمونه مربوط به ۴۳ جمعیت اسفناج مورد مطالعه در بازه ۶۸۲ تا ۲۹۰۲ میلی گرم در هر ۱۰۰ گرم وزن تر قرار گرفت که در هیستوگرام ترسیم شده قابل مشاهده است (شکل ۲). این مطلب بخوبی بیانگر تنوع بالا در بین جمعیت‌های مورد بررسی به لحاظ انباشت اکسالات است. یافته‌های این پژوهش به‌طور نزدیکی با یافته‌های Mou (2008) قابل مقایسه می باشد. این پژوهشگر در ارزیابی خود از تعداد ۳۴۹ اکسشن به دامنه تغییرات اکسالات از مقدار ۶۴۷ تا ۱۲۸۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر دست یافت. از این نظر می‌توان گفت متوسط و حداکثر مقدار تجمع اکسالات در جمعیت‌های ایران بیشتر بوده که نشان‌دهنده تطابق بالای محیطی اسفناج ایران در راستای انباشت زیاد این ماده است.

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر جمعیت بر اکسالیک اسید اسفناج.

Table 3. Results of variance analysis effect of population on spinach oxalic acid.

Source of variation	df	Mean of squares	F Value	Pr > F
Population	42	1782204.00	153.26	<.0001
Block	2	27385.90	2.36	0.0969
Error	84	879177.6	10466.4	0.93
$Error_s$	258	11628.32	-	-

نتایج تجزیه واریانس مقایسات مستقل نشان داد، تفاوت معنی‌داری از نظر انباشت اکسالات در بین دو گروه جمعیت‌های وحشی و گروه رقم‌های اهلی و اصلاح شده اسفناج وجود دارد. (جدول ۴). میانگین مقادیر اکسالات موجود در گروه جمعیت‌های اسفناج اهلی (*S. oleracea*) به صورت معنی‌داری با گروه جمعیت‌های دو گونه اسفناج وحشی *S. tetrandra* و اسفناج وحشی *S. turkestanica* تفاوت داشت. بدین صورت که میانگین انباشت اکسالات در گونه *S. oleracea* کمتر از دو گونه دیگر بود. همچنین نتایج نشان داد برای مقادیر انباشت اکسالات بین دو گروه جمعیتی متعلق به دو گونه وحشی اسفناج تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.



شکل ۲. توزیع فراوانی انباشت اکسالات در نمونه‌های اسفناج.
Figure 2. Frequency distribution of oxalate into spinach samples.

جدول ۴. نتایج تجزیه واریانس مقایسات مستقل (اُرتوگونال) سه گونه اسفناج برای انباشت اکسالات.
Table4. Results of variance analysis of orthogonal comparisons all of three spinach species populations for oxalate accumulation.

Contrast	df	Mean of squares	F Value	Pr > F
Domestic populations vs. wild populations	1	4153571.053	21.52	<.0001
S. turkestanica vs. *S. tetrandra*	1	391055.829	2.03	0.1554
S. oleracea vs. *S. tetrandra*	1	2128233.433	11.03	0.0010
S. oleracea vs. *S. turkestanica*	1	4324915.664	22.41	<.0001

کمترین انباشت اکسالات در بین تمام جمعیت های موجود در این مطالعه نیز مربوط به جمعیت کرج از گونه اهلی *S.oleracea* بود و بیشترین مقدار نیز در جمعیت بزنگان از گونه *S. turkestanica* مشاهده گردید. مورد اخیر با یافته مطالعه مشابه پیشین که در آمریکا انجام گرفته بود که درآن بیشترین مقدار انباشت را در گونه های وحشی گزارش داده بودند مطابقت داشت. همچنین در نگاه کلی یافته‌های مطالعه فوق‌الذکر در ارتباط با تغییرات اکسالات در جمعیت‌های گوناگون اسفناج شباهت زیادی به نتایج مطالعه حاضر دارد (Mou, 2008).

آنالیز خوشه بندی

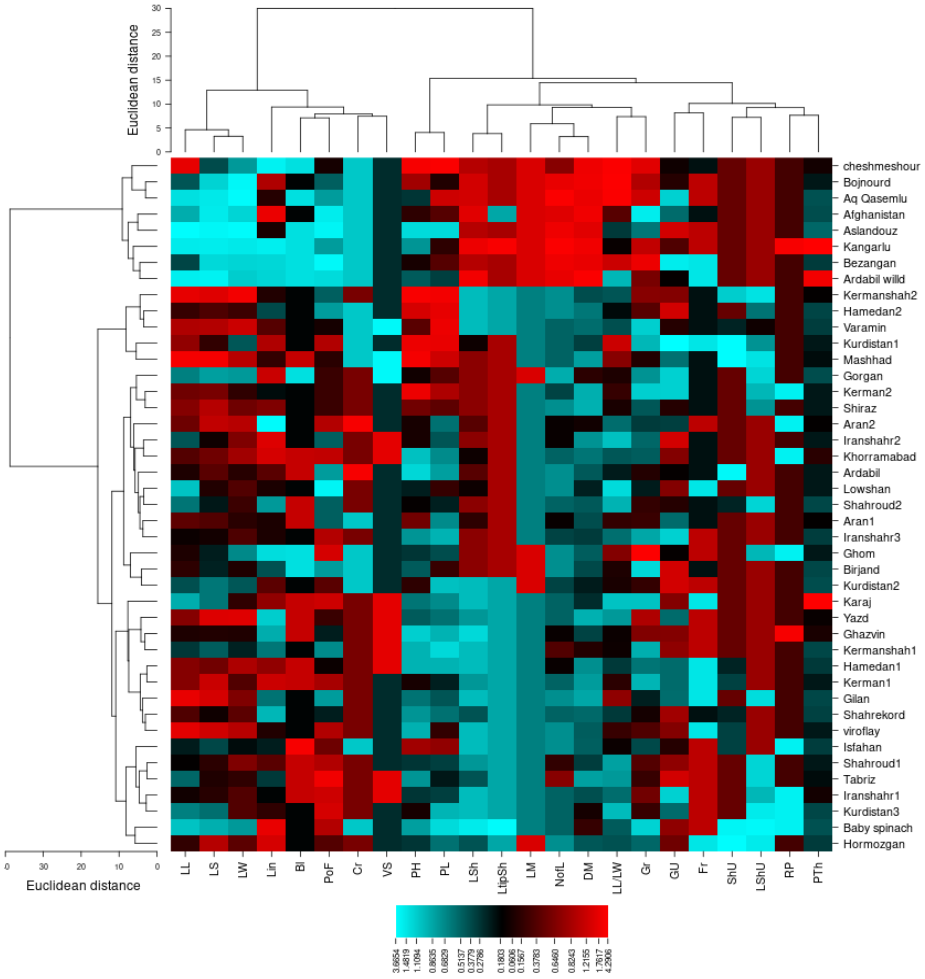
صفات مورفولوژی

خوشه‌بندی جمعیت‌های اسفناج براساس صفات مورفولوژی در شکل ۳ قابل مشاهده است. جهت تعیین محل خط برش از تجزیه تابع تشخیص استفاده شد. برای این خوشه‌بندی، خط برش در محلی که سه گروه از جمعیت‌های موجود را دسته بندی می‌کرد، بالاترین صحت گروهبندی به میزان ۱۰۰ درصد را نشان داد. گروه اول متشکل از کلیه جمعیت‌های دو گونه وحشی *S. turkestanica* و *S.tetrandra* بود. این نتیجه نشان‌دهنده گزینش صفات مورفولوژی مناسب در این مطالعه، جهت غربالگری جمعیت‌های موجود بود.کمترین میانگین سطح برگ، کمترین میزان تردی برگ (تردی صفتی متناظر با ضخامت برگ در نظر گرفته شد)، کمترین میانگین سطح برگ، کمترین طول برگ و نهایتاً دارا بودن برگهایی با سطح صاف و بدون تاول از ویژگی‌های بارز این گروه بود. از طرف دیگر این گروه دارای بیشترین درصد ماده خشک و میانگین تعداد برگ در هر بوته می‌باشد. اما نکته قابل توجه در ارتباط با صفت نسبت گیاهان ماده در جمعیت بود، که مشخص شد گروه جمعیت‌های وحشی پایین‌ترین درصد بوته ماده در جمعیت را نسب به سایر گروه‌ها یا به‌عبارت دیگر نسبت به جمعیت‌های اهلی دارا بود. بطوریکه پایین‌ترین درصد بدست آمده به میزان ۳۳ درصد در جمعیت بزنگان متعلق به گونه *S. turkestanica* مشاهده گردید. نکته دیگر در مورد

یکنواختی بالای شکل بوته‌ها در داخل هر یک از جمعیت‌های دو گونه وحشی است. این ویژگی با درنظر گرفتن همگن شدن ژنتیکی افراد در جمعیت‌های وحشی اسفناج طی نسل‌های متمادی قابل توجیه می‌باشد (Hamrick, 1995; Slatkin, 1987).

خوشه دوم شامل مجموعه ای از جمعیت‌های رقم‌های محلی از گونه *S. oleracea* بود. این گروه شامل ۵ جمعیت‌کرمانشاه ۲، همدان ۲، ورامین، کردستان ۱ و مشهد بود. این گروه همچنین بیشترین بیوماس را در بین سایر گروه های تولید کرد. صفات عملکردی مهمی چون سطح برگ، طول و عرض برگ، طول دمبرگ، ارتفاع گیاه که از اجزای اصلی عملکرد و بیوماس در گیاه اسفناج است در این گروه بیشترین مقدار بود. این گروه همچنین در کنار شاخص‌های نامبرده دارای تیپ رویشی نیمه باز بود که جمعیت‌های آن را را جهت برداشت مکانیزه مناسب می‌نمود.

بقیه جمعیت‌های اسفناج که همگی از گونه *S. oleracea* بودند نیز در خوشه ۳ قرار گرفتند. این خوشه شامل ۳۰ جمعیت بود که به دو زیر گروه ۸ و ۲۲ عضوی تقسیم شد. زیر شاخه اول با ۸ عضو، همگی جمعیت‌هایی از اسفناج بودند که بالاترین ماندگاری و شادابی بعد از برداشت را داشتند. این گروه همچنین اغلب دارای برگهای ترد بود، اما زیر شاخه دوم که رقم اصلاح شده Viroflay نیز در آن قرار داشت با وجود حضور چندین زیر گروه متمایز در بین مجموع افراد این زیر شاخه، در نگاه کلی افراد این گروه اکثراً دارای حاشیه برگ غیر پیچیده یا صاف بودند، میانگین درصد ماده خشک این افراد از سایر گروه‌ها کمتر بود و همچنین تیپ رویشی غالب در آنها از نوع نیمه باز مشاهده شد.

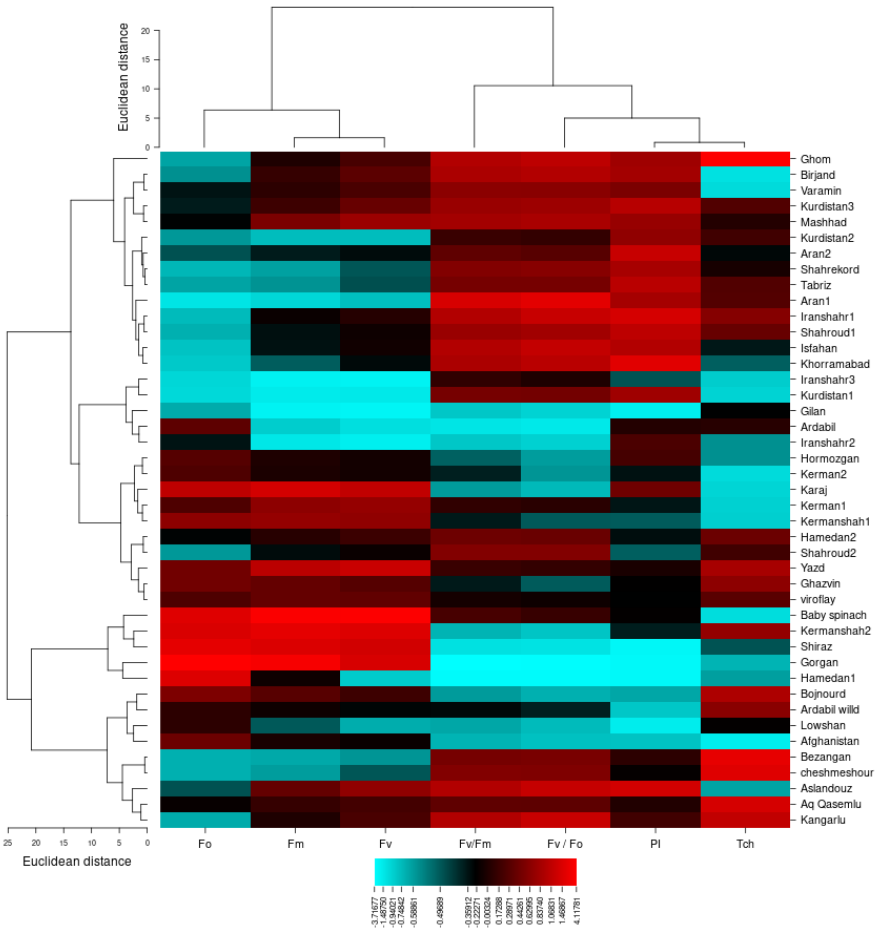


شکل ۳. خوشه بندی جمعیت‌های اسفناج براساس صفات مورفولوژی.

Figure 3. Heatmap cluster of spinach populations based on morphological traits

صفات فیزیولوژی

گروه‌بندی جمعیت‌های اسفناج بر مبنای پارامترهای کلروفیل فلورسانس و محتوای کلروفیل کل به ۵ خوشه، بالاترین درصد صحت گروهبندی (۸۸/۴ ٪) را براساس تجزیه تابع تشخیص نشان داد (شکل ۴). به ترتیب از بالا به پایین، گروه اول قرار داشت که به عنوان بزرگترین خوشه شامل ۱۴ جمعیت از گونه *S. oleracea* بود. این گروه در کنار دارا بودن میانگین محتوای کلروفیل کل زیاد، دارای بیشترین مقدار شاخص‌های فتوسنتزی PI، Fv/Fo و Fv/Fm در بین دیگر خوشه ها بود. از آنجایی که این شاخص‌ها از اصلی‌ترین پارامترهای تخمین کارایی دستگاه فتوسنتزی گیاه به حساب می‌آیند، می توان جمعیت‌های این گروه را دارای ظرفیت بالاتری به لحاظ سازش با تنش‌های محیطی در نظر گرفت (Živčák *et al.*, 2008). گروه دوم با ۵ جمعیت، کمترین مقادیر برای پارامترهای Fm و Fv را در بین سایر گروه‌ها دارا بود. گروه سوم با دارا بودن ۱۰ عضو حد متوسطی از PI و پارامترهای Fm و Fv را داشت. گروه چهارم نیز با ۵ عضو بیشترین مقادیر سه پارامتر Fo، Fm و Fv را به خود اختصاص داد. و اما آخرین گروه یا همان خوشه پنجم بسیار قابل توجه بود. چرا که برمبنای پارامترهای اندازه‌گیری شده همه ۹ جمعیت وحشی موجود در این مطالعه در این گروه قرار گرفتند. حتی جمعیت وحشی لوشان (*S. oleracea*) که در خوشه بندی مورفولوژی جدا افتاده بود در این آنالیز در کنار بقیه جمعیت‌های وحشی در یک گروه قرار گرفت. شاید بتوان بر مبنای این نتایج پیشنهاد نمود که استفاده از این پارامترها به عنوان یک روش غربالگری و تشخیص جمعیت‌های اهلی از وحشی در گیاه اسفناج مفید باشد.

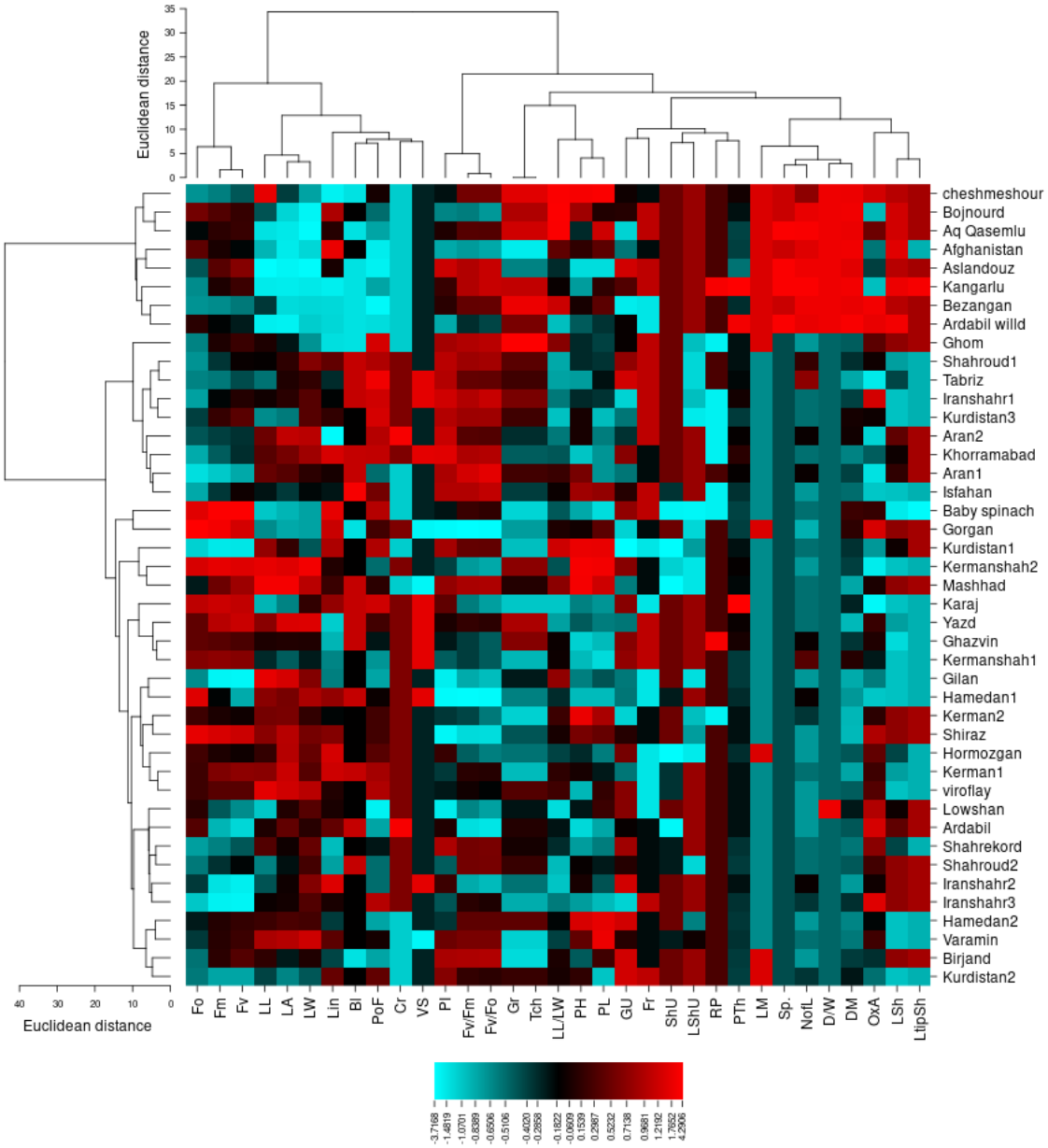


شکل ۴. خوشه بندی جمعیت‌های اسفناج براساس صفات فیزیولوژیک.

Figure 4. Heatmap cluster of spinach populations based on physiological traits.

صفات کل

در این بخش از مطالعه آنالیز خوشه‌بندی، جمعیت‌ها از منظر استفاده همزمان تمام صفات اندازه‌گیری شده بررسی گردیدند. تطبیق نتایج این نوع خوشه‌بندی با حالتی که صفات با توجه به ماهیت مشترک به صورت مجزا در غربالگری جمعیت‌ها استفاده می‌شد، نتایج جالبی را نشان داد. در خوشه بندی حاضر که در شکل ۵ نشان داده شده است جمعیت‌های وحشی همچنان مانند خوشه‌بندی مورفولوژی و فیزیولوژی درکنار هم در خوشه اول از بالا قرار گرفتند. همچنین جمعیت وحشی لوشان که در خوشه بندی فیزیولوژی در کنار سایر جمعیت‌های وحشی در یک خوشه قرار داشت، اینجا همانند خوشه بندی مورفولوژی در گروه مجزایی واقع شد. شاید بتوان از این نتایج این گونه تحلیل کرد که بر خلاف ماهیت مجزای صفات اندازه گیری شده، ارتباط خوبی بین گروه-های صفتی مورد اشاره وجود دارد.



شکل ۵. خوشه بندی جمعیت‌های اسفناج براساس همه صفات مطالعه شده.

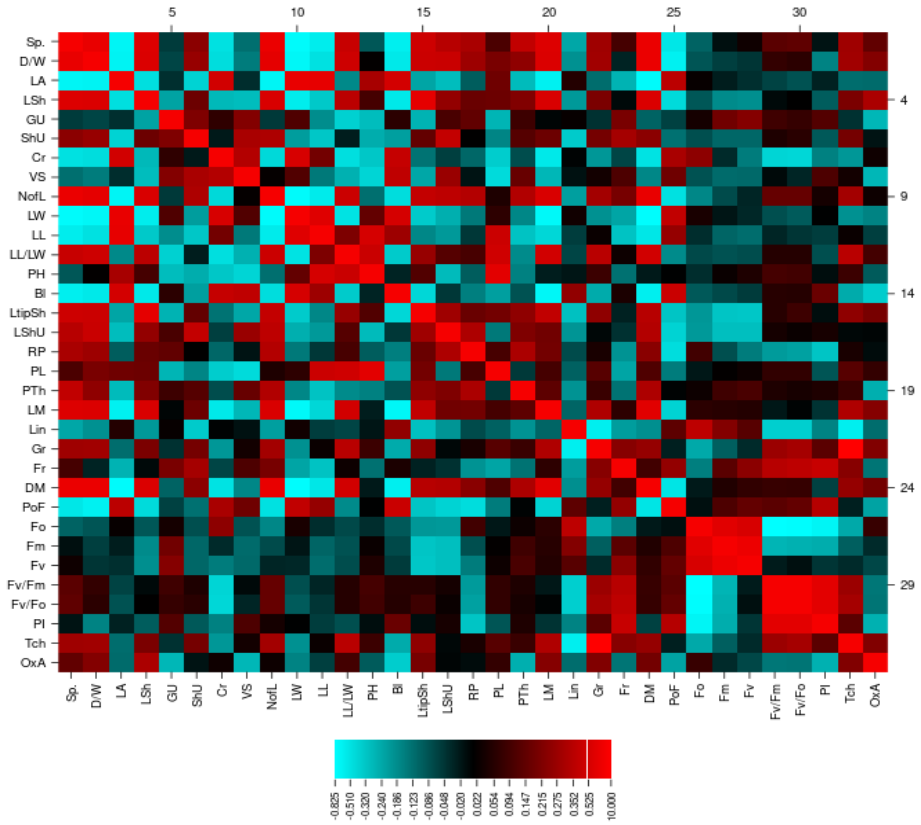
Figure 5. Heatmap cluster of spinach populations based on the all studied traits.

بنابراین از نتایج آنالیز خوشه ای بر جمعیت‌های مورد مطالعه این مطلب قابل فهم می‌باشد که تنوع ژنتیکی بالایی در بین این جمعیت‌های اسفناج وجود دارد که این مسئله بنحوی بیانگر غنای ذخایر ژنتیکی اسفناج ایران است بطوریکه ژرم پلاسم جمع آوری شده در این پژوهش را جهت کاربردهای متنوع اصلاحی بسیار مستعد نشان می‌دهد. یافته حاضر به وسیله نتایج پژوهش‌های پیشین نیز تایید شده است (Abolghasemi *et al.*, 2019; Eftekhari *et al.*, 2010).

آنالیز همبستگی

ضرایب همبستگی بدست آمده از آنالیز همبستگی تمامی صفات مورد مطالعه در این تحقیق نشان دهنده تعداد زیادی (۲۲۸ مورد همبستگی معنی‌دار، ۹۱ مورد آن در سطح ۱ درصد) همبستگی های معنی‌دار در بین این صفات بود. می‌توان این طور بیان نمود که نتایج نشان داده شده در Heatmap همبستگی مطالعه حاضر (شکل ۶) این امکان را به پژوهشگران علاقمند به اصلاح جمعیت‌های اسفناج خواهد داد که با توجه به نیاز اصلاحی خود از این روابط همبستگی استفاده نمایند.

بیشترین همبستگی مثبت و منفی (از ۰/۹۹+ تا ۰/۸۳-) در بین پارمترهای کلروفیل فلورسانس دیده شده که با توجه به حضور سه فاکتور اصلی Fv، Fo و Fm در اجزای فرمول‌های تشکیل‌دهنده شاخص‌های اصلی PI، Fv/Fm و Fv/Fo بدیهی به‌نظر می‌رسد، اما بیشترین همبستگی‌های داخلی مثبت و منفی در صفات مورفولوژیک مربوط به تعداد برگ و نوع گونه (۰/۹۲) (به ترتیب کمترین به بیشترین تعداد برگ در گونه‌های *S. oleracea*، *S. turkestanica* و *S. tetrandra* دیده شد)، درصد ماده خشک و اهلی یا وحشی بودن (۰/۹۰) ، تعداد برگ و درصد ماده خشک (۰/۸۸)، طول برگ و سطح برگ (۰/۸۷-) و درصد ماده خشک و عرض برگ (۰/۸۰-) بود.



شکل ۶. همبستگی همه صفات مورد مطالعه در ۴۳ جمعیت اسفناج.

Figure 6. Heatmap correlation among the all studied traits of 43 spinach populations.

نسبت های بدست آمده در این تحقیق بوسیله موارد مشابه از گزارش‌های مربوط به همبستگی صفات در گیاه اسفناج توسط تحقیقات پیشین نیز تایید شد (Abolghasemi *et al.,* 2019; Asadi & Hasandokht, 2007; Eftekhari *et al.,* 2010). یکی دیگر از صفات ارزشمندی که همبستگی آن با سایر صفات موفولوژی مورد ارزیابی قرار گرفت نسبت گیاه ماده در هر جمعیت بود. مشاهده گردید که رابطه قوی بین درصد گیاه ماده و نوع گونه یا وحشی بودن جمعیت برقرار است. با این توضیح که گونه‌های وحشی *S. tetrandra* و *S. turkestanica* کمترین میزان درصد گیاه ماده را نسبت به گونه اهلی *S. oleracea* دارا بودند. همچنین با افزایش درصد گیاه ماده در جمعیت، درصد ماده خشک و تعداد برگ در بوته کاهش پیدا می‌کرد در حالی‌که وضعیت برجستگی روی پهنک یا حال تاول افزایش می‌یافت. ظرایب این سه همبستگی به ترتیب ۰/۵۲- ، ۰/۴۸- و ۰/۴۰ بدست آمد. همانطور که همبستگی های ارزشمندی در داخل هر گروه صفتی مشاهده گردید، در بین گروه‌های مختلف صفتی (صفات موفولوژیک با بیوشیمیایی، صفات مورفولوژیک با فیزیولوژیک و صفات فیزیولوژیک با بیوشیمیایی) نیز موارد جالبی از همبستگی دیده شد. در مورد صفت انباشت اکسالات جز در یک مورد همبستگی معنی‌دار دیگری با دیگر صفات مشاهده نشد. میزان اکسالات کل با صفت میزان چروکیدگی برگ که در این مطالعه بصورت مقدار تاول بیان شده است، رابطه منفی و معنی‌داری به میزان ۰/۳۶- در سطح ۵ درصد نشان داد. بدین معنی که هرچه اسفناج‌ها برگ‌های تاول‌دارتری داشتند مقدار اکسالات تجمع یافته کمتری در آنها مشاهده شد و در مقابل اسفناج‌های با برگ‌های صاف تجمع اکسالات بالاتری نشان دادند. این نتیجه به طور مشابهی نتایج دو مطالعه پیشین در این خصوص را البته با ضریب همبستگی بالاتری تایید می‌نماید (Kitchen *et al*., 1964; Mou, 2008). شادابی یا ماندگاری پس از برداشت برگ‌ها با PI به میزان ۰/۳۹ همبستگی داشت. همبستگی تردی برگ که متناظر با ضخامت برگ هم می‌باشد، با شاخص Fv/Fo به میزان ۰/۴۲- مشاهده شد. همینطور مشاهده گردید نسبت گیاه ماده در جمعیت رابطه مثبت و معنی‌داری (۰/۳۴) با پارامتر فیزیولوژیکی شاخص کارایی (PI) دارد.

نتیجه گیری کلی

در مجموع با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت ژرم‌پلاسم اسفناج ایران همانطور که پیش‌بینی می‌شد دارای تنوع قابل ملاحظه‌ای برای صفات مورد مطالعه می‌باشد که آنرا بسیار مستعد کاربردهای آتی در امور اصلاحی می‌نماید. همچنین نتایج این پژوهش بخوبی بیانگر توان تفکیک صفات مورد بررسی در غربالگری جمعیت‌های اسفناج ایران است. از سوی دیگر، گروهبندی های صورت گرفته در این مطالعه با توجه به قدرت تفکیک بالا و دقت مناسب می توانند در تشکیل کلکسیون‌های هسته جهت کاهش هزینه های مربوط به حفظ ژرم‌پلاسم نیز راهگشاه باشد. مقایسه انطباقی بین خوشه‌بندی‌های مختلف انجام شده، نشان از ارتباط ژنتیکی و فیزیولوژیکی بین گروه‌های صفتی با ماهیت‌های متفات دارد، که به نوعی بیانگر عملکرد سیستمی گیاه به عنوان یک مجموعه یکپارچه می‌باشد. همبستگی‌های یافت شده در این تحقیق که در بین تمامی صفت‌های مورد مطالعه وجود داشت امکان اصلاح اسفناج به لحاظ عملکردی (با در نظر گرفتن روابط موجود در بین صفات اجزای عملکرد با سایر صفات)، بهبود کیفیت غذایی (با در نظر گرفتن رابطه انباشت اکسالات با سایر صفات) و نیز اصلاح برای سازگاری با شرایط محیط کشت (با در نظر گرفتن شاخص‌های کلروفیل فلورسانس با سایر صفات) را به ما می‌دهد. در پایان باید گفت مطالعه همبستگی‌ها موجود در گیاه اسفناج باعث سرعت بخشیدن فرآیند انتخاب و افزایش کارایی اصلاح همزمان چندین صفت می‌گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان بدینویسله کمال تقدیر و تشکر را از معاونت پژوهش و فناوری دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و همچنین صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور برای حمایت مالی از فرآیند اجرای این تحقیق در چهارچوب طرح پژوهشی شماره ۹۸۰۱۳۹۱۲ دارند.

REFERENCES

1. Abolghasemi, R., Haghighi, M., & Etemadi, N. (2019). Screening of some native and foreign accessions of spinach for spring culture in Isfahan. *Iran Agricultural Research, 38*(1), 87-99 .
2. Anonymous. (2005). Minimum descriptors for leafy vegetables *ECPGR Working Group on Leafy Vegetables First Meeting*, 1-6 .
3. Araus, J., Amaro, T., Voltas, J., Nakkoul, H., & Nachit, M. (1998). Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under mediterranean conditions. *Field Crops Research, 55*(3), 209-223.
4. Asadi, H., & Hasandokht, M. (2007). Study of genetic diversity on iranian spinach genotypes. *Iranian Journal of Agricultural Sciences, 38*(2), 257-265 (In Farsi).
5. Astley, D., & Ford-Lloyd, B. (1981). The evolutionary significance of multigermicity in the genusspinacia (chenopodiaceae). *Plant Systematics and Evolution, 137*(1-2), 57-61 .
6. Ayana, A., & Bekele, E. (1999). Multivariate analysis of morphological variation in sorghum (sorghum bicolor (l.) moench) germplasm from Ethiopia and Eritrea. *Genetic Resources and Crop Evolution, 46*(3), 273-284 .
7. Correll, J., Bluhm, B., Feng, C., Lamour, K., Du Toit, L., & Koike, S. (2011). Spinach: Better management of downy mildew and white rust through genomics. *European Journal of Plant Pathology, 129* (2), 193- 205.
8. Damania, A. B., Pecetti, L., Qualset, C. O., & Humeid, B. O. (1996). Diversity and geographic distribution of adaptive traits in *Triticum turgidum* L. (durum group) wheat landraces from turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution, 43*(5), 409-42 .
9. Decoteau, D. R. (2000). *Vegetable crops*: Prentice Hall, 464pp.
10. Doležalová, I., Křístková, E., Lebeda, A., & Vinter, V. (2002). Description of morphological characters of wild *Lactuca* L. spp. genetic resources (english-czech version). *Horticultural Science. (Prague), 29*(2), 56-83.
11. Eftekhari, S., Hassandokht, M. R., Fattahi Moghadam, M. R., & Kashi, A. (2010). Genetic diversity of some Iranian spinach (*Spinacia oleracea* L) landraces using morphological traits. *Iranian Journal of Horticultural Science, 41*(1), 83-93 (In Farsi).
12. Genty, B., Briantais, J.-M., & Da Silva, J. B. V. (1987). Effects of drought on primary photosynthetic processes of cotton leaves. *Plant Physiology, 83*(2), 360-364 .
13. Ghashghaie, G. C. J., Genty, B., & Briantais, J. (1992). Leaf photosynthesis is resistant to a mild drought stress. *Photosynthetica, 27*(3), 295-309 .
14. Hamrick, J. (1995). Conservation genetic of endemic plant species. *Conservation Genetics*, 231-304 .
15. Ito, M., Ohmido, N., Akiyama, Y., Fukui, K., & Koba, T. (2000). Characterization of spinach chromosomes by condensation patterns and physical mapping of 5S and 45S rDNAs by FISH. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125(1), 59-62.
16. Kaminishi, A., & Kita, N. (2006). Seasonal change of nitrate and oxalate concentration in relation to the growth rate of spinach cultivars. *HortScience, 41*(7), 1589-1595 .
17. Kawazu, Y., Okimura, M., Ishii, T., & Yui, S. (2003). Varietal and seasonal differences in oxalate content of spinach. *Scientia Horticulturae, 97*(3-4), 203-210 .
18. Kitchen, J., Burns, E., & Perry, B .(1964). Calcium oxalate content of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Journal of the American Society for Horticultural Science, 84*, 441-445 .
19. Lester, G. E., Makus, D. J., Hodges, D. M., & Jifon, J. L. (2013). Summer (subarctic) versus winter (subtropic) production affects spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaf bionutrients: Vitamins (C, E, folate, K1, provitamin A), lutein, phenolics, and antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61*(29), 7019-7027 .
20. Morelock, T. E., & Correll, J. C. (2008). *Spinach vegetables* I (pp. 189-218) Springer.
21. Mou, B. (2008). Evaluation of oxalate concentration in the us spinach germplasm collection. *HortScience, 43*(6), 1690-1693 .
22. Naik, V. V., Patil, N. S., Aparadh, V. T., & Karadge, B. A. (2014). Methodology in determination of oxalic acid in plant tissue: A comparative approach. *Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences, 5*(2), 1662-1672 .
23. Obando, J., Miranda, C., Jowkar, M., Moreno, E., Sour, M., Martínez, J., & Fernandez-Trujillo, J. (2007). Creating climacteric melon fruit from nonclimacteric parentals: postharvest quality implications (pp. 197-205) Springer.
24. Obando-Ulloa, J. M., Jowkar, M. M., Moreno, E., Souri, M. K., Martínez, J. A., Bueso, M. C., & Fernández-Trujillo, J. P. (2009). Discrimination of climacteric and non-climacteric melon fruit at harvest or at the senescence stage by quality traits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(10), 1743-1753.

25. Rechinger, K. H. (1963). *Flora Iranica: Flora des iranischen hochlandes und der umrahmenden gebirge*: Akademische Druck-und Verlagsanstalt.
26. Ribeiro, H. L. C., Santos, C. A. F., Diniz, L. D. S., Nascimento, L. A. D., & Nunes, E. D. (2016). Phenotypic correlations and path analysis for plant architecture traits and grain production in three generations of cowpea. *Revista Ceres, 63*(1), 33-38.
27. Ryder, E. J. (1979). *Leafy salad vegetables*: Springer Science & Business Media.
28. Sabaghnia, N., Asadi-Gharneh, H., & Janmohammadi, M. (2015). Genetic diversity of spinach (*Spinacia oleracea* L.) landraces collected in Iran using some morphological traits. *Acta Agriculturae Slovenica, 103*(1), 101-111 .
29. Sarikhani Khorami, S. & Vahdati, K. (2019). Determination of persian walnut yield components and its correlation with phenological, morphological and biochemical traits. *Iranian Journal of Horticultural Science, 50*(3), 549-560 (In Farsi).
30. Shi, A., Mou, B., & Correll, J. C. (2016). Association analysis for oxalate concentration in spinach. *Euphytica, 212*(1), 17-28 .
31. Shubha, K., & Singh, D. (2018). Selection of yield-associated morphological and biochemical traits using correlation and path coefficient analysis in potato (*Solanum tuberosum* L.) in the foothills of north-western Himalayas. *Potato Research, 61*(3), 273-281 .
32. Siener, R., Hönow, R., Seidler, A., Voss, S., & Hesse, A. (2006). Oxalate contents of species of the polygonaceae, amaranthaceae and chenopodiaceae families. *Food Chemistry, 98*(2), 220-224 .
33. Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science, 236*(4803), 787-792 .
34. Souri, M. K., & Hatamian, M. (2019). Aminochelates in plant nutrition: a review. *Journal of Plant Nutrition*, 42(1), 67-78.
35. Strasser, R. J., Srivastava, A., & Tsimilli-Michael, M. (2000). The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, 445-483 .
36. Svobodová, I., & Misa, P. (2004). Effect of drought stress on the formation of yield elements in spring barley and the potential of stress expression reduction by foliar application of fertilizers and growth stimulator. *Plant Soil and Environment, 50*(10), 439-446 .
37. Swiader, J. M., Ware, G. W., & McCollum, J. P. (1992). *Producing vegetable crops*: Interstate Printers and Publishers Inc.
38. UPOV. (2007). International union for the protection of new varieties of plants (UPOV). Spinach: guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. 29 pp.
39. Van Treuren, R., Coquin, P., & Lohwasser, U. (2012). Genetic resources collections of leafy vegetables (lettuce, spinach, chicory, artichoke, asparagus, lamb's lettuce, rhubarb and rocket salad): Composition and gaps. *Genetic Resources and Crop Evolution, 59*(6), 981-997 .
40. Živčák, M., Brestič, M., Olšovská, K., & Slamka, P. (2008). Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant Soil and Environment, 54*(4), 133-139.