Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 50, No 3, Autumn 2019 (549-560)
DOI: 10.22059/ijhs.2018.260251.1474

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۸ (ص ۵۶۰-۵۴۹)

تعیین اجزای عملکرد گردوی ایرانی و مطالعه همبستگی آن با صفات فنولوژیک، مورفولوژیک و بیوشیمیایی

سعادت ساریخانی خرمی[۱] و کورش وحدتی[۲*]
۱ و ۲. استادیار و استاد، گروه باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۴/۲۰ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۷/۴)

چکیده

برآورد ضرایب همبستگی بین صفات مختلف، نه‌تنها می‌تواند سبب تسریع برنامه‌های اصلاحی گردو شود، بلکه امکان بهبود سایر صفات را در کنار اصلاح برای صفات موردنظر فراهم می‌کند. بدین منظور، داده‌های حاصل از دو سال ارزیابی مورفولوژیک ۳۲۵ ژنوتیپ‌های انتخابی از استان‌های فارس، مازندران و ایلام جهت مطالعه همبستگی بین صفات مورفولوژیک مورد استفاده قرار گرفت. همچنین به منظور مطالعه همبستگی بین صفات بیوشیمیایی و مورفولوژیک، خصوصیات بیوشیمیایی تعداد ۵۲ ژنوتیپ برتر از ۳۲۵ ژنوتیپ اولیه مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی نتایج این پژوهش نشان داد که رابطه‌ی خطی و معنی‌داری بین صفات فنولوژیک به‌ویژه تاریخ برگدهی با تاریخ برداشت وجود داشت که از آن می‌توان جهت تعیین تاریخ برداشت بر مبنای تاریخ برگدهی استفاده کرد. عملکرد با تاریخ برگدهی (۰/۵۸**)، وزن میوه (۰/۶۴**) و مغز (۰/۴۶*)، اندازه میوه (۰/۵۶**) و عادت باردهی جانبی (۰/۵۳**) همبستگی مثبت و با رنگ مغز (-۰/۳۸*) همبستگی منفی داشت که با توجه به نتایج حاصل رگرسیون گام به گام، عادت باردهی جانبی، وزن میوه و شاخص اندازه میوه از اجزای اصلی تعیین کننده عملکرد گردو بودند. بررسی همبستگی بین صفات بیوشیمیایی با ارتفاع از سطح دریا و صفات مورفولوژیک نشان داد که درصد روغن و پروتئین موجود در مغز گردو تحت تأثیر خصوصیات فیزیکی میوه (اندازه و وزن میوه و مغز) نمی‌باشد. در مقابل، با افزایش ارتفاع از سطح دریا، درصد روغن و پروتئین موجود در مغز افزایش یافت. همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند مضاعف (MUFA) و اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف (PUFA) و همچنین بین نسبت PUFA:SFA با ضخامت پوست سخت مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: اندازه میوه، تنوع ژنتیکی، درصد روغن، رگرسیون گام به گام، ضریب همبستگی، عملکرد.

Determination of Persian walnut yield components and its correlation with phenological, morphological and biochemical traits

Saadat Sarikhani Khorami[1] and Kourosh Vahdati[2*]
1, 2. Assistant Professor and Professor, Department of Horticulture, Aburaihan Campus, University of Tehran, Iran
(Received: Jul. 11, 2018 - Accepted: Sep. 26, 2018)

ABSTRACT

Estimation of correlation coefficients can accelerate walnut breeding programs and provide the ability to improve other traits along with targeted breeding traits. For this purpose, data obtained from two-year morphological evaluation of 325 screened genotypes from Fars, Mazandaran and Ilam provinces were used to study the correlation between morphological traits. In addition, in order to study the correlation between biochemical and morphological traits, biochemical characteristics of 52 superior genotypes out of 325 screened genotypes were evaluated for one year. Based on the results, a linear and strong relation was observed between phenological traits especially budbreak and harvest date. Yield had a positive and strong correlation with budbreak date (0.58**), nut weight (0.64**), kernel weight (0.46*), nut size (0.56**) and lateral bearing (0.53**) and a negative correlation with kernel color (-0.38*). Based on the result of stepwise regression analysis, nut weight, lateral bearing and nut size index were the main components of walnut yield. Correlation study between biochemical traits with altitude and morphological traits showed that oil and protein percentage of walnut kernel was not affected by the physical characteristics of the nut (nut and kernel size and weight). In Contrast, the oil and protein content increased with increasing altitude. A strong and negative correlation was observed between MUFA and PUFA. Also, PUFA: SFA ratio negatively correlated with shell thickness.

Keywords: Correlation coefficient, genetic diversity, nut size, oil percentage, stepwise regression, yield.

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

مقدمه

گردوی ایرانی (Persian walnut) با نام علمی *Juglans regia* L. در بین محصولات باغبانی از اهمیت اقتصادی ویژه‌ای برخوردار می‌باشد و از نظر ارزش صادرات و میزان تولید، پس از بادام هندی و بادام، رتبه سوم خشکبار را در جهان داراست (FAO, 2016). ایران یکی از مراکز مهم پیدایش و تنوع گردو می‌باشد و ژرم‌پلاسم غنی از گردو در باغ‌های سنتی آن وجود دارد (Vahdati *et al.*, 2014). این تنوع ژنتیکی و ژرم‌پلاسم غنی، اساس انجام برنامه اصلاح گردو می‌باشد. به‌طورکلی، با توجه به مشکلات شدید فعلی از جمله سرمای دیررس بهاره و کم آبی، تنها راه برای تداوم تولید محصولات کشاورزی از جمله گردو و امنیت غذایی، استفاده و بهره‌برداری از این تنوع ژنتیکی است (Govindaraj *et al.*, 2015).

وجود مقادیر بالای پروتئین، اسیدهای چرب غیراشباع به‌ویژه اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف، ترکیباتی از قبیل فیبر، ملاتونین، استرول‌های گیاهی، فلاونوئیدها، فنولیک اسیدها، تانن و پلی‌فنل‌ها (Reiter *et al.*, 2005; Pereira *et al.*, 2008; Martinez *et al.*, 2010)، سبب شده تا گردو از محصولات مهم استراتژیک در تغذیه انسان شناخته شود (Gandev, 2007). خوشبختانه در سال‌های اخیر مصرف سرانه گردو در کشور افزایش یافته و سبب شده تا بخشی از تولید گردو کشور به بازار داخلی اختصاص یابد. بررسی میزان عملکرد در واحد سطح، تولید و صادرات گردو در ایران و جهان نشان می‌دهد که هر چند اختصاص بخشی از تولید گردو کشور به مصرف داخلی یکی از دلایل پایین بودن جایگاه ایران در تجارت جهانی گردو است؛ اما دلیل اصلی عدم توفیق ایران در تجارت جهانی گردو، عدم یکنواختی محصول به‌دلیل عدم وجود ارقام تجاری است (Sarikhani Khorami *et al.*, 2012; Soleimani *et al.*, 2009). از طرف دیگر، جایگاه سوم ایران در تولید جهانی گردو، به‌دلیل سطح زیرکشت بالا است. به‌عبارت دیگر، میانگین عملکرد باغ‌های گردوی ایران (۲ تن در هکتار) نسبت به میانگین عملکرد گردوی دنیا (۳/۲ تن در هکتار) و همچنین کشورهای پیشرو (۱۰-۱۲ تن در هکتار) به‌طور معنی‌دار پائین است (FAO, 2016; Anonymous, 2017) که بخشی از این عملکرد پائین به دلیل عدم استفاده از ارقام تجاری با باردهی جانبی (ژنتیک) و بخشی به دلیل عوامل اقلیمی و مدیریتی است. به‌عنوان مثال، پدیده تغییر اقلیم به‌ویژه در سال‌های اخیر سبب افزایش دما و وقوع سرمای ناگهانی، شروع زودهنگام فصل و وقوع سرمای دیررس بهاره و افزایش شدت تنش‌های خشکی شده که همه این موارد در کنار هم سبب کاهش عملکرد درختان گردو شده است (Rehman *et al.*, 2015; Pathak *et al.*, 2018). آنچه مسلم است با توجه به موارد فوق و همچنین وجود یک ژرم‌پلاسم غنی گردو، انجام یک برنامه اصلاحی بر پایه بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی و شناسایی ژنوتیپ‌های برتر، سریع‌ترین و بهترین راهکار برای افزایش میزان تولید و بهبود جایگاه ایران در تجارت جهانی گردو می‌باشد (Arzani *et al.*, 2008).

نکته مهم در انجام برنامه اصلاحی در درختان میوه به‌ویژه گردو، طولانی‌بودن چرخه اصلاحی و وجود دوره نونهالی و فصل رشد طولانی می‌باشد (van Nocker & Gardiner 2014). در بسیاری از موارد، امکان شناسایی درختان دیربرگده در مراحل اولیه وجود داشته، اما اطلاع از خصوصیات میوه مستلزم سپری شدن یک دوره نونهال طولانی می‌باشد. در این راستا، مطالعه همبستگی صفات می‌توانند به‌عنوان یک ابزار کارآمد برای ارزیابی بهتر و سریع‌تر صفات و به‌طورکلی اصلاح درختان میوه باشند. مطالعه همبستگی بین صفات مهم اصلاحی به‌ویژه صفات با توارث‌پذیری بالا می‌تواند در دستیابی به نشانگرهای کارآمد و قابل اطمینان مفید باشد و راه را برای بررسی صفاتی که اندازه‌گیری آن‌ها ممکن است دشوار باشد، هموار می‌کند (Karamtlo *et al.*, 2016). به‌عبارت دیگر، آگاهی از همبستگی بین خصوصیات مهم درخت و میوه، می‌تواند راهنمای مناسبی برای انتخاب در برنامه‌های اصلاحی گردو باشد (Amiri *et al.*, 2010). به‌علاوه، مطالعه همبستگی امکان بهبود سایر صفات را در کنار اصلاح برای صفات موردنظر را فراهم می‌کند (Ribeiro *et al.*, 2016; Yucel *et al.*, 2009).

با توجه به اهمیت مطالعه همبستگی در کاهش چرخه اصلاحی درختان میوه و همچنین ارزش غذایی و اقتصادی بالای گردو، پژوهش حاضر با هدف مطالعه همبستگی بین برخی صفات مهم فنولوژیک، مورفولوژیک و بیوشیمیایی در برنامه‌های اصلاحی درختان گردو انجام گرفت. همچنین با توجه به اهمیت عملکرد و دیربرگدهی در برنامه‌های اصلاحی گردو در کشور، تلاش شد تا صفات مهم و مرتبط با این صفات مورد بررسی قرار گیرند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

به‌منظور انجام این آزمایش و با توجه به وجود ژرم‌پلاسم غنی گردو در کشور، داده‌های حاصل از دو سال ارزیابی مورفولوژیک ۳۲۵ ژنوتیپ‌های انتخابی از استان‌های فارس، مازندران و ایلام جهت مطالعه همبستگی بین صفات مورفولوژیک مورد استفاده قرار گرفت. این ژنوتیپ‌ها بر مبنای اطلاعات حاصل از سازمان جهاد کشاورزی، بزرگان محلی، طرح پرسشنامه از باغداران و ارزیابی‌های اولیه انتخاب شد. ژنوتیپ‌های انتخابی گردو شامل ۱۷۹ ژنوتیپ از استان فارس (شهرستان‌های سپیدان، بوانات و اقلید)، ۹۱ ژنوتیپ از استان مازندران (بخش سوادکوه) و ۵۵ ژنوتیپ از استان ایلام (بخش‌های میشخاص، علمدار، زرنه، خوران و سیروان) بود که خصوصیات مهم مورفولوژیک آن‌ها طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۵ براساس توصیف‌نامه موسسه بین‌المللی منابع ژنتیک گیاهی (IPGRI) مورد ارزیابی قرار گرفت. در ادامه و از بین ۳۲۵ ژنوتیپ مورد مطالعه، تعداد ۵۲ ژنوتیپ به‌عنوان ژنوتیپ‌های برتر و امیدبخش گردو انتخاب شد که شامل ۲۵ ژنوتیپ برتر از استان فارس، ۱۱ ژنوتیپ برتر از استان ایلام و ۱۶ ژنوتیپ برتر از استان مازندران بود. خصوصیات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های برتر انتخابی به‌منظور مطالعه همبستگی بین صفت مورفولوژیک و بیوشیمیایی برای یکسال مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به اینکه در حال حاضر رقم "چندلر" به عنوان یک رقم تجاری و استاندارد در دنیا شناخته می‌شود؛ لذا در این پژوهش، ژنوتیپ‌هایی که در عمده صفات از رقم تجاری "چندلر" برتر بودند، به عنوان ژنوتیپ برتر در نظر گرفته شدند. ژنوتیپ‌های برتر انتخابی دارای وزن میوه و مغز بالاتر از ۱۲/۵ و ۶/۸ گرم، درصد مغز بالاتر از ۴۸ درصد، عادت باردهی جانبی بیشتر از ۴۰ درصد و ضخامت پوسته سخت کمتر از ۱/۵ میلی‌متر بودند (جدول ۱). البته ژنوتیپ‌هایی که از نظر برخی صفات به‌ویژه دیربرگدهی برتر بودند، نیز به‌عنوان ژنوتیپ برتر انتخاب شدند؛ چرا که این ژنوتیپ‌ها در برنامه‌های اصلاحی بعدی بسیار حائز اهمیت می‌باشند.

جدول ۱. دامنه تغییرات برخی خصوصیات مهم فنولوژیک و پومولوژیک ۵۲ ژنوتیپ برتر گردو در استان‌های فارس، مازندران و ایلام طی سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹۶

Table 1. Variance of some phenological and pomological characteristics of the 52 superior walnut genotypes collected from Fars, Mazandaran and Ilam province, Iran during 2016-2017

Characteristics	Number of genotypes	Average	Minimum	Maximum	Standard deviation (SD)	CV (%)
Budbreak date*	52	20.55	13.00	34.00	5.74	27.96
Harvest date*	52	166.28	158.00	175.00	4.43	2.66
Lateral bearing (%)	52	74.50	40.00	100.00	17.65	23.69
Nut weight (g)	52	14.71	12.54	19.80	1.68	11.40
Kernel weight (g)	52	7.89	6.86	9.91	0.67	8.51
Kernel percentage (%)	52	53.91	48.37	62.00	3.52	6.52
Nut length (mm)	52	39.40	33.65	45.75	2.64	6.70
Nut diameter (mm)	52	35.18	30.65	42.30	2.43	6.90
Nut thickness (mm)	52	33.98	29.76	40.78	2.29	6.73
Shell thickness (mm)	52	1.27	0.98	1.55	0.18	14.15

* Days after reference standard (4th March).

صفات مورد مطالعه

صفات مورد مطالعه در این پژوهش شامل سه گروه صفات فنولوژیک، پومولوژیک و بیوشیمیایی بود که صفات فنولوژیک (شامل تاریخ باز شدن جوانه، زمان آغاز و پایان آزاد شدن دانه گرده و پذیرش آن توسط کلاله گل ماده، تاریخ برداشت و عادت باردهی جانبی) و پومولوژیک (شامل عملکرد، وزن میوه، وزن مغز، درصد مغز؛ رنگ مغز، طول، قطر و عرض میوه، شاخص اندازه میوه، شاخص شکل میوه، روزنه انتهای پوست سخت، ضخامت تیغه میانی، ضخامت پوست سخت و سهولت جدا شدن مغز از پوست سخت) برای دو سال متوالی (۱۳۹۶-۱۳۹۵) و صفات بیوشیمیایی (درصد روغن، پروتئین کل، میزان فنل کل و پروفیل اسید چرب) برای یکسال (۱۳۹۶) مورد ارزیابی قرار گرفت. صفات فنولوژیک در محل باغ، صفات پومولوژیک در آزمایشگاه میوه‌کاری گروه باغبانی پردیس ابوریحان و صفات بیوشیمیایی در آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس انجام گرفت.

صفات فنولوژیک

صفات فنولوژیک، از جمله صفات بیولوژیک هستند که در پاسخ به تغییرات اقلیمی حادث می‌شوند (McGranahan & Forde, 1985). این صفات در گردو از توارث‌پذیری بالایی برخوردار بوده (Hansche *et al.*, 1972; Ramos, 1997) و صرفاً وقوع نسبی آن‌ها به میزان زیادی تحت تأثیر شرایط محیطی می‌باشد. معمولاً این صفات در مقایسه با استاندارد مرجع (روز پس از استاندارد مرجع) مورد ارزیابی قرار می‌گیرند که در مطالعه حاضر، زودبرگده‌ترین ژنوتیپ (۱۴ اسفندماه)، به‌عنوان ژنوتیپ استاندارد مرجع در نظر گرفته شد و برگدهی سایر ژنوتیپ‌ها نسبت به این ژنوتیپ، مورد ارزیابی قرار گرفت (Arzani *et al.*, 2008). تاریخ باز شدن جوانه، زمانی که بیش از ۵۰ درصد جوانه‌های انتهایی رشد و فلس‌های آن‌ها باز و برگ سبز داخلی نمایان شد، در نظر گرفته شد. همچنین تاریخی که اولین و آخرین دانه‌های گرده آزاد شد، به‌عنوان زمان شروع و پایان گرده‌ریزی در نظر گرفته شد. اصولاً در تاریخ آخرین شکفتن دانه گرده، فلس‌های شاتون به‌طور کامل باز شده و بساک‌ها سیاه می‌شوند. همچنین تاریخی که اولین گل ماده در یک ژنوتیپ، آماده پذیرش دانه گرده است، به‌عنوان زمان شکفتن اولین گل ماده در نظر گرفته شد (IPGRI, 1994). تقریباً در زمان شکفتن اولین گل ماده، دو سطح کلاله نسبت به یکدیگر، شکل V گرفته (زاویه دو لوب کلاله نسبت به یکدیگر ۳۵ درجه است) و سطح آن مرطوب است. در تاریخ پایان پذیرش دانه گرده توسط مادگی، کلاله خشک و تیره شده است (Janick & Paul, 2008). تاریخ برداشت، زمانی در نظر گرفته شد که تقریباً تمام (۹۵ درصد) پوشش سبز به‌راحتی و به‌طور کامل از پوست سخت جدا شد. علاوه بر صفات فنولوژیک، صفت درصد باردهی جانبی نیز در مرحله گلدهی و بر مبنای درصد گل‌هایی که بر روی شاخه یک‌ساله به‌صورت جانبی ظاهر شده بودند، محاسبه شد (Yarilgac *et al.*, 2001).

صفات پومولوژیک

به‌منظور بررسی صفات مرتبط با میوه و مغز، از هر ژنوتیپ تعداد ۱۵ میوه به‌صورت تصادفی برداشت و به آزمایشگاه میوه‌کاری گروه باغبانی پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران منتقل گردید. بدین منظور پس از جدا کردن پوست سبز از میوه، به مدت یک‌ماه در شرایط سایه و دمای اتاق نگهداری شدند تا اینکه رطوبت موجود در آن‌ها به زیر هشت درصد برسد (Zeneli *et al.*, 2005). صفات میوه و مغز ۱۵ میوه از هر ژنوتیپ مورد اندازه‌گیری قرار گرفت و در نهایت با میانگین‌گیری از داده‌ها، برای هر ژنوتیپ سه تکرار (و پنج میوه در هر تکرار) در نظر گرفته شد. در این پژوهش، وزن میوه و مغز با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. همچنین از نسبت وزن مغز به وزن میوه، درصد مغز محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری طول (H)، قطر (L) و ضخامت (E) میوه و ضخامت پوست سخت از کولیس دیجیتال استفاده شد. شاخص اندازه میوه از رابطه (۱) و شاخص شکل میوه از رابطه (۲) محاسبه شد (Arzani *et al.*, 2008).

$$SI = (L+E+H)/3 \quad \text{رابطه ۱)}$$

$$FI = 100H/ ((E+L)/2) = 200H/ (E+L) \quad \text{رابطه ۲)}$$

همچنین صفات روزنه انتهای پوست سخت، ضخامت تیغه میانی، سهولت جداشدن مغز از میوه و عملکرد به‌صورت نمره‌دهی و براساس توصیف‌نامه IPGRI اندازه‌گیری شدند (IPGRI, 1994). جهت اندازه‌گیری رنگ مغز از جدول رنگ گردو (Walnut Color Chart, FDA of California. P.O.Box. 270-A. Santa Clara, California 95052.) استفاده شد.

صفات بیوشیمیایی

جهت اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی، مغز میوه‌های خشک شده با استفاده از آسیاب برقی به‌طور کامل پودر شد و مقدار ۲۰ گرم از مغز آسیاب شده هر ژنوتیپ برای تعیین میزان روغن، پروتئین کل، فنل کل (TPC) و پروفیل اسیدهای چرب استفاده شد. در این بخش نیز برای هر ژنوتیپ سه تکرار در نظر گرفته شد. روغن موجود در مغز ژنوتیپ‌های برتر مورد مطالعه، با استفاده از دستگاه سوکسله و حلال هگزان (۵۰۰ میلی‌لیتر) به‌مدت پنج ساعت استخراج شد. حلال موجود در نمونه استخراج شده با استفاده از دستگاه روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد جدا شد. همچنین به‌منظور اطمینان از حذف کامل حلال، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آون خلاء و دمای ۲±۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. درصد روغن هر نمونه از نسبت وزن روغن استخراج شده پس از جداسازی کامل حلال به وزن اولیه نمونه به‌دست آمد. به‌منظور تعیین پروفیل اسیدهای چرب نمونه‌های مورد مطالعه، از روش Metcalf *et al.* (1966) استفاده شد. در نهایت با تشکیل دو فاز در نمونه‌ها، مقدار ۱/۲ میکرولیتر از فاز رویی به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل (Unicam 4600، آمریکا) با آشکارگر یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون BPX70 (به قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت فاز ثابت ۰/۲۲ میکرومتر و طول ۳۰ متر) و گاز حامل هلیوم تزریق شد.

میزان پروتئین کل موجود در مغز ژنوتیپ‌های برتر گردو با استفاده از دستگاه کجلدال و روش هضم اندازه‌گیری شد (AOAC, 1995). همچنین میزان فنل کل موجود در مغز نیز با استفاده از روش رنگ‌سنجی Folin-Ciocaltue و براساس میزان اسیدگالیک و برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک اکی‌والان بر گرم وزن خشک عصاره استخراج شده (mg GAE.g^{-1} DW Extract) اندازه‌گیری شد (Labuckas *et al.*, 2008).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به‌منظور مطالعه همبستگی بین صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی، از ضریب همبستگی اسپیرمن (Spearman) و رسم Heatmap استفاده شد. به‌منظور رسم Heatmap از نرم‌افزار آماری R (http://www.r-project.org/) و پکیج‌های (R-package) MASS، Hmisc، VGAM و gplots استفاده شد (Sarikhani Khorami *et al.*, 2018b). همچنین به‌منظور تعیین صفات مهم و تأثیرگذار بر عملکرد گردوی ایرانی، تجزیه ارتباطی بین برخی صفات مهم اصلاحی گردو با این صفت با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver. 22) انجام شد.

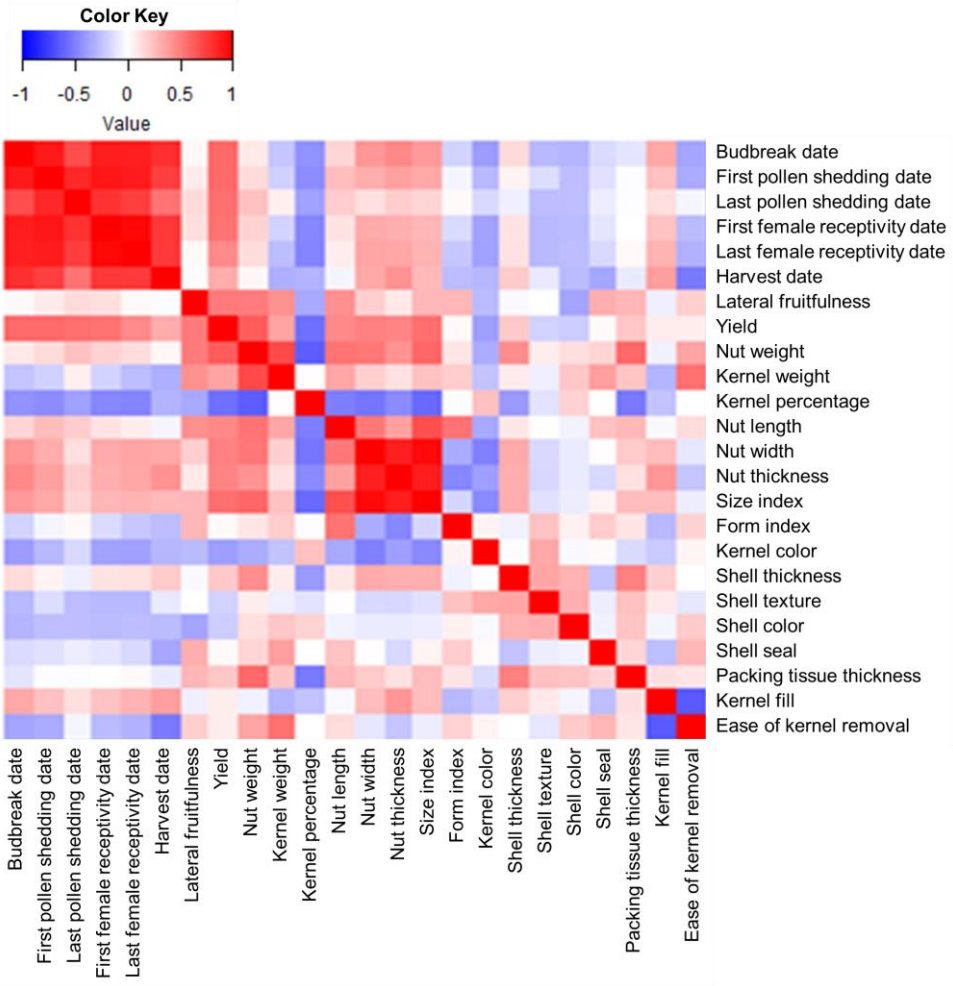
نتایج و بحث

همبستگی بین صفات فنولوژیک و پومولوژیک

بررسی همبستگی بین صفات فنولوژیک و پومولوژیک ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گردو نشان داد که بین صفات فنولوژیک با یکدیگر همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. به‌عبارت‌دیگر، همبستگی مثبت و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین تاریخ باز شدن جوانه (برگدهی) با شروع و پایان آزاد شدن دانه گرده و پذیرش آن توسط مادگی و تاریخ برداشت ($P<۰/۰۱$) مشاهده شد (شکل ۱) که این نتایج با مطالعات پیشین در زمینه گردو مطابقت داشت (Korac *et al.*, 1997; Solar *et al.*, 2001; Ebrahimi *et al.*, 2010; Amiri *et al.*, 2010). با توجه به همبستگی مثبت و معنی‌دار (**۰/۸۹۸) بین تاریخ برگدهی (X) با تاریخ برداشت (Y)، تجزیه رگرسیون خطی بین این دو صفت انجام شد که حاکی از وجود ارتباط خطی و معنی‌دار (**R^2=۰/۶۷۷) با معادله رگرسیون Y= 0.678X+152.27 بود. با توجه به اینکه ژنوتیپ‌های انتخابی مربوط به مناطق و اقلیم‌های مختلف بودند؛ لذا از این رابطه می‌توان در مراحل اولیه رشد گردو جهت تعیین تاریخ برداشت برمبنای تاریخ برگدهی استفاده کرد (شکل ۲).

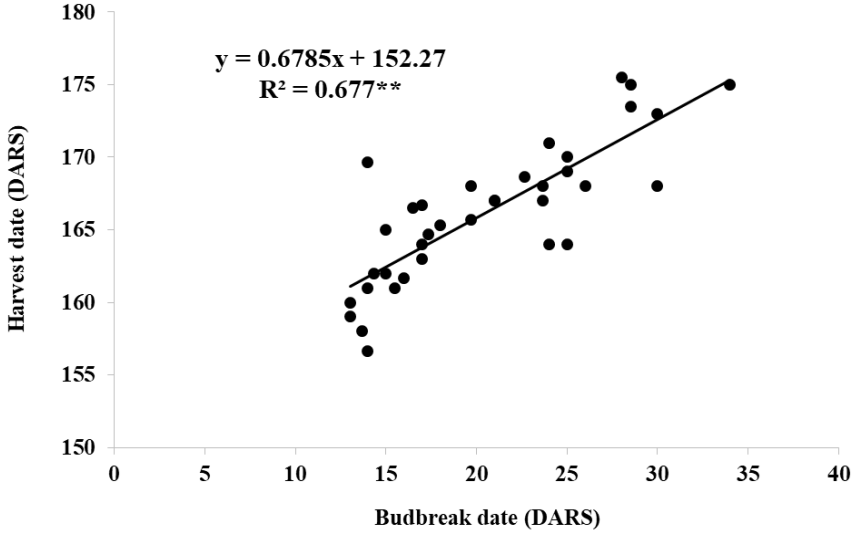
Ebrahimi *et al.* (2010) گزارش کردند که همبستگی قوی و معنی‌داری بین صفات فنولوژیک وجود داشت و میزان این همبستگی به حدی است که اجازه می‌دهد تا از طریق اندازه‌گیری هر کدام به تغییرات صفت همبسته پی برد و از این طریق می‌توان با صرف زمان و هزینه کمتر، به‌طور غیرمستقیم اندازه‌گیری یک صفت را انجام داد (Forde, 1975; Ebrahimi *et al.*, 2010).

براساس نتایج به‌دست‌آمده، تاریخ برگدهی همبستگی مثبت و معنی‌داری با عملکرد (P<۰/۰۱) و اندازه میوه (P<۰/۰۵) و همبستگی منفی و معنی‌داری با رنگ مغز و سهولت جدا شدن مغز از پوست سخت (P<۰/۰۵) داشت. به‌عبارت دیگر، ژنوتیپ‌های دیربرگده از عملکرد بالاتر، اندازه میوه درشت‌تر و رنگ مغز تیره‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های زودبرگده برخوردار بوده و مغز آن‌ها به راحتی از پوست سخت جدا می‌شود (شکل ۱). براساس نتایج حاصل از این پژوهش، همبستگی معنی‌داری بین تاریخ برگدهی با عادت باردهی جانبی مشاهده نشد. مطالعات صورت گرفته روی ۸۴۰ ژنوتیپ گردو در کشور اسلوونی نشان داد که درختان با عادت باردهی جانبی، اصولاً زودگل‌تر هستند و جوانه‌های آن‌ها در بهار زودتر باز می‌شود (Solar *et al.*, 2001). این در حالی است که در بررسی نتایج حاصل از پژوهش حاضر، همبستگی معنی‌داری بین صفات فنولوژیک با عادت باردهی جانبی مشاهده نشد که احتمالاً علت این امر، وجود ژنوتیپ‌های انتخابی در ارتفاع‌های مختلف می‌باشد که بر روی زمان نسبی ظهور برگ و گل اثر معنی‌دار دارد (Akca & Ozongun, 2004).



شکل ۱. همبستگی بین برخی صفات فنولوژیک و پومولوژیک در گردوی ایرانی

Figure 1. Heatmap correlation between some phenological and pomological traits of Persian walnut



شکل ۲. رگرسیون خطی بین تاریخ برگدهی و تاریخ برداشت برخی ژنوتیپ‌های گردو در استان‌های ایلام، فارس و مازندران (DARS: روز پس از استاندارد مرجع)

Figure 2. Linear regression analysis between harvest and budbreak date of some Persian walnut genotypes in Fars, Ilam and Mazandaran province, Iran (DARS: Days after reference standard)

عملکرد به‌عنوان اولین و مهم‌ترین هدف در برنامه‌های اصلاح درختان میوه به‌ویژه گردو به‌شمار می‌رود (Amiri *et al.*, 2010). براساس نتایج حاصل از این آزمایش، عملکرد با تاریخ برگدهی، عادت باردهی جانبی، وزن میوه و اندازه میوه همبستگی مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و با وزن مغز همبستگی مثبت در سطح احتمال پنج درصد داشت. این در حالی است که همبستگی منفی بین عملکرد با درصد مغز (P<۰/۰۱) و رنگ مغز (P<۰/۰۵) مشاهده شد. بررسی نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های با عادت باردهی جانبی دارای عملکرد بیشتر و میوه‌های با طول بزرگ‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های با باردهی انتهایی هستند. با توجه به همبستگی معنی‌دار و معنی‌دار عملکرد (Y) با صفات تاریخ برگدهی (X_1)، عادت باردهی جانبی (X_2)، وزن میوه (X_3)، وزن مغز (X_4) و شاخص اندازه میوه (X_5) و به‌منظور شناسایی صفات مؤثر بر میزان عملکرد ژنوتیپ‌های گردو، از تجزیه‌ی رگرسیون گام‌به‌گام (Stepwise regression) بین عملکرد به‌عنوان متغیر وابسته با این صفات به‌عنوان متغیر مستقل استفاده شد. بررسی نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون گام‌به‌گام نشان داد که از بین صفات مورد نظر، صفات عادت باردهی جانبی، وزن میوه و شاخص اندازه میوه وارد مدل شدند و مدل نهایی به‌دست‌آمده به‌صورت رابطه (۳) بود (جدول ۲).

رابطه ۳) $Y = 0.909+0.009\ X_2+0.102\ X_3+0.135\ X_5$

مطالعات پیشین بر روی همبستگی بین صفات مهم اصلاحی در گردو نیز حاکی از این است که عادت باردهی جانبی، اندازه و وزن میوه همبستگی مثبت و معنی‌دار با میزان عملکرد بالا داشته و در تعیین عملکرد گردو اثرگذار می‌باشند (Amiri *et al.*, 2010; Sarikhani Khorami *et al.*, 2014). همچنین گزارش شده است که همبستگی بالایی بین عملکرد با دیربرگدهی وجود داشته و ژنوتیپ‌های دیربرگده به‌دلیل مقاومت بیشتر در برابر سرمای دیررس بهاره، می‌توانند عملکرد درخت را به‌ویژه در سال‌های که سرمای دیررس بهاره وجود دارد، حفظ کنند (Sarikhani Khorami *et al.*, 2014; Akca & Ozongun, 2004).

بررسی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که وزن میوه همبستگی مثبت و معنی‌داری با وزن مغز، اندازه میوه (طول، عرض و ضخامت میوه)، ضخامت پوست سخت و ضخامت تیغه میانی (P<۰/۰۱) و همبستگی منفی با درصد و رنگ مغز (P<۰/۰۵) داشت که این نتایج با مطالعات پیشین مطابقت داشت (Sharma & Sharma, 2001; Arzani *et al.*, 2008; Amiri *et al.*, 2010; Mousavi *et al.*, 2015; Shamlo *et al.*, 2016).

جدول ۲. رگرسیون گام‌به‌گام برای صفات مؤثر بر میزان عملکرد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گردوی ایرانی
Table 2. Stepwise regressing analysis for traits related to yield of some Persian walnut genotypes

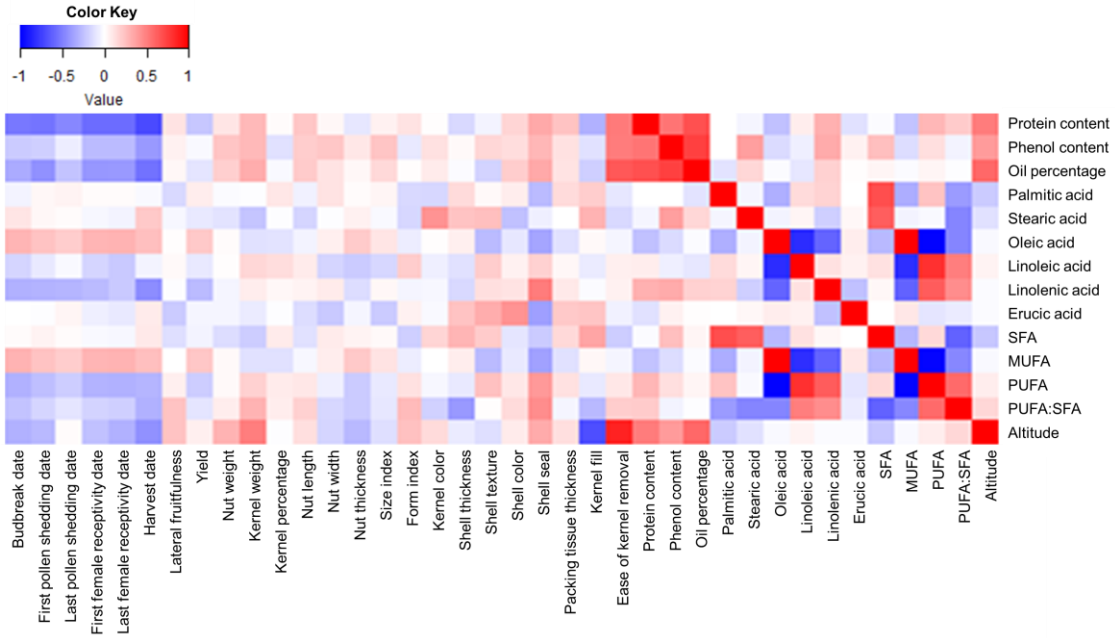
	Step 1	Step 2	Step 3
Intercept	0.120	0.983	0.909
Nut size Index (X_5)	0.219	0.170	0.135
Lateral bearing (X_2)	-	0.012	0.009
Nut weight (X_3)	-	-	0.102
R^2	0.493**	0.610**	0.653**
Final model	$Y = 0.909 + 0.009\ X_2 + 0.009\ X_3 + 0.135\ X_5$		

Mousavi *et al.* (2015) طی مطالعات خود بر روی جمعیت گردو در استان چهارمحال و بختیاری گزارش کردند که میوه‌های درشت‌تر دارای وزن مغز، درصد مغز، طول، عرض و قطر میوه بیشتری بوده، اما درصد پوست چوبی آن‌ها کمتر می‌باشد. مطالعات صورت گرفته روی همبستگی بین صفات مغز و میوه گردو در کشور هند نشان داد که وزن میوه همبستگی مثبت و معنی‌داری با عرض، طول و ضخامت میوه، ضخامت تیغه میانی، ضخامت پوست سخت، وزن مغز، عرض، طول و ضخامت مغز داشت. همچنین همبستگی منفی بین درصد مغز با وزن میوه، اندازه میوه و ضخامت پوست سخت گزارش شده است (Sharma & Sharma, 2001) که این نتایج با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت داشت؛ به عبارت دیگر می‌توان گفت که وزن میوه و مغز، اندازه میوه و ضخامت پوست سخت از فاکتورهای مؤثر بر درصد مغز گردو می‌باشد (Sharma & Sharma, 2001; Amiri et al., 2010; Abedi & Parvaneh, 2016). Amiri *et al.* (2010) گزارش کردند که وزن میوه، وزن مغز، ضخامت پوست سخت و سهولت جدا شدن مغز از میوه، چهار متغیر کلیدی در تعیین مقدار درصد مغز می‌باشند و به همین دلیل باید در برنامه‌های اصلاحی گردو این چهار صفت با یکدیگر در نظر گرفته شوند.

براساس نتایج حاصل از این آزمایش، ضخامت پوست سخت همبستگی مثبت و معنی‌داری با ضخامت تیغه میانی ($P<۰/۰۱$) و بافت پوست سخت ($P<۰/۰۵$) داشت. میزان پر بودن مغز همبستگی منفی با سهولت جداشدن مغز از پوست سخت ($P<۰/۰۱$) داشت که این نتایج با نتایج Eskandari *et al.* (2005) همخوانی نداشت، اما با نتایج Ebrahimi *et al.* (2010) مطابقت داشت. همبستگی مثبتی و معنی‌داری بین سهولت جدا شدن مغز با وزن میوه و وزن مغز مشاهده شد (شکل ۱). گزارش شده که درصد مغز و رنگ مغز با تاریخ برداشت همبستگی منفی دارد (Amiri *et al.*, 2010) نتایج حاصل از این آزمایش نیز مؤید وجود همبستگی منفی بین درصد مغز و رنگ مغز با صفات فنولوژیک بود (شکل ۱).

همبستگی بین صفات بیوشیمیایی و مورفولوژیک

همبستگی بین صفات بیوشیمیایی با صفات مهم مورفولوژیک می‌تواند نقش بسزایی در دستیابی به نشانگرهای مرتبط با کیفیت مغز داشته باشد. با این وجود، تاکنون مطالعات کمی در خصوص همبستگی بین صفات بیوشیمیایی و صفات مورفولوژیک در گردو صورت گرفته است. بررسی همبستگی بین صفات بیوشیمیایی و ارتفاع از سطح دریا و همچنین صفات مورفولوژیک نشان داد که میزان پروتئین و درصد روغن مغز ژنوتیپ‌های برتر مورد مطالعه همبستگی مثبت و معنی‌داری با ارتفاع از سطح دریا و همبستگی منفی و معنی‌داری با صفات فنولوژیک داشتند (شکل۳). به‌عبارت دیگر، با افزایش ارتفاع از سطح دریا، درصد روغن و پروتئین کل مجود در مغز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (Yuemei *et al.*, 2014). براساس نتایج به‌دست‌آمده، درصد روغن و پروتئین با صفات اندازه میوه، وزن میوه و وزن مغز همبستگی معنی‌داری نداشت؛ لذا می‌توان گفت که محتویات روغن و پروتئین موجود در مغز گردو تحت تأثیر خصوصیات فیزیکی میوه نمی‌باشد (Martinez & Maestri, 2008). براساس نتایج به‌دست‌آمده، مغز ژنوتیپ‌هایی که دارای روزنه انتهای بسته بوده و به سختی از پوست چوبی جدا می‌شود، دارای مقادیر بالاتری روغن و پروتئین می‌باشند.



شکل ۳. همبستگی بین برخی صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی در گردوی ایرانی

Figure 3. Heatmap correlation between some morphological and biochemical traits of Persian walnut

به‌علاوه ژنوتیپ‌های دیررس دارای مقادیر کمتری لینولنیک اسید بودند. همبستگی منفی و معنی‌داری بین ضخامت پوست سخت با نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف به اسیدهای چرب اشباع (PUFA:SFA) مشاهده شد. همچنین همبستگی مثبتی بین میزان باردهی جانبی با میزان اسید پالمیتیک (P<۰/۰۱) و میزان اسیدهای چرب اشباع (P<۰/۰۵) مشاهده شد (شکل ۳).

بررسی همبستگی بین صفات بیوشیمیایی نیز حاکی از این بود که درصد روغن، میزان پروتئین و فنل کل همبستگی مثبت و معنی‌داری (P<۰/۰۱) با یکدیگر داشتند. همچنین میزان فنل کل همبستگی مثبتی (P<۰/۰۵) با میزان استئاریک اسید (C18:0) و لینولنیک اسید داشت (شکل ۳). وجود مقادیر بالای لینولئیک (C18:2) و لینولنیک (C18:3) اسید سبب ارزش غذایی بالای مغز گردو شده است (Gandev, 2007). میزان این دو اسید چرب غیراشباع با چند باند مضاعف (PUFA) همبستگی منفی با میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند مضاعف به‌ویژه اولئیک اسید داشت. نسبت اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف به اسیدهای چرب اشباع (PUFA:SFA) به عنوان شاخصی از کیفیت روغن به‌شمار می‌رود که براساس راهنمای رژیم غذایی برای تغذیه سالم، اگر این نسبت بالاتر از ۱/۵ باشد، اثر بسیار مثبت و بالایی بر سلامت انسان دارد (Bouabdallah et al., 2014). میزان این شاخص در گردو بالاتر از ۵ است که نشان‌دهنده کیفیت بالای روغن گردو و البته فسادپذیری سریع آن می‌باشد (Sarikhani Khorami et al., 2018a). براساس نتایج بدست آمده، نسبت PUFA:SFA همبستگی مثبت و معنی‌داری با اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف و همبستگی منفی و معنی‌داری با میزان اسیدهای چرب اشباع و اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند مضاعف نشان داد. همچنین میزان اسیدهای چرب اشباع با میزان اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف همبستگی مثبت و با میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند مضاعف همبستگی منفی داشت. همچنین همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان اسیدهای چرب غیراشباع با یک باند مضاعف (به‌ویژه اولئیک اسید) و اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند مضاعف (به‌ویژه لینولئیک و لینولنیک اسید) مشاهده شد (شکل ۳) که این نتایج با مطالعات صورت گرفته بر روی جمعیت گردو در استان کرمانشاه مطابقت داشت (Shafaei Chorush & Arzani, 2018).

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی و با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر مشخص شد که همبستگی مثبت و معنی‌داری از نوع خطی بین صفات فنولوژیک وجود داشته و می‌توان از این رابطه خطی جهت تعیین تاریخ برداشت بر مبنای تاریخ برگدهی استفاده کرد. همچنین همبستگی معنی‌داری بین تاریخ برگدهی با برخی صفات مرتبط با میوه مشاهده گردید که این همبستگی‌ها می‌تواند نقش بسزایی در تسریع فرایند انتخاب و کاهش طول چرخه اصلاح گردو داشته باشد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، عادت باردهی جانبی، تاریخ برگدهی، اندازه و وزن میوه و وزن مغز از صفات تأثیرگذار بر عملکرد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گردو بودند که از بین این صفات، وزن میوه، عادت باردهی جانبی و اندازه میوه به‌عنوان اجزای اصلی تعیین کننده عملکرد گردو به‌شمار می‌روند و می‌توان از آن‌ها جهت تخمین عملکرد درختان گردوی ایرانی استفاده کرد. همچنین مشخص شد که وزن میوه، وزن مغز، اندازه میوه و ضخامت پوست سخت از فاکتورهای مؤثر بر درصد مغز گردو می‌باشد.

همبستگی بین صفات مهم مورفولوژیک با صفات بیوشیمیایی نشان داد که درصد روغن و پروتئین موجود در مغز گردو تحت تأثیر خصوصیات فیزیکی میوه نمی‌باشد. این در حالی است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا، محتوی روغن و پروتئین موجود در مغز گردو افزایش یافت. همچنین مشخص گردید که ارزش غذایی روغن گردو برای سلامت (PUFA:SFA) در ژنوتیپ‌های با پوست نازک‌تر بیشتر از ژنوتیپ‌های با پوست سخت ضخیم بود.

سپاسگزاری

از خانم مهندس زهرا حاجی‌نیا و آقای مهندس موسی کوهی برای همکاری‌های علمی و از دانشگاه تهران، بنیاد ملی نخبگان ایران و صندوق حمایت از پژوهشگران برای حمایت مالی، تقدیر و تشکر می‌گردد.

REFERENCES

1. Abedi, B. & Parvaneh, T. (2016). Study of correlations between horticultural traits and variables affecting kernel percentage of walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Nuts*, 7 (1), 35-44.
2. Akca, Y. & Ozongun, S. (2004). Selection of late leafing, late flowering, laterally fruitful walnut (*Juglans regia*) types in Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32 (4), 337-342.
3. Amiri, R., Vahdati, K., Mohsenipoor, S., Mozaffari, M. R. & Leslie, C. (2010). Correlations between some horticultural traits in walnut. *HortScience*, 45, 1690–1694.
4. Anonymous. (2017). *Agriculture Statistics of Iran*. Deputy Planning and Economic, Ministry of Agriculture-Jahad, Iran, Retrieved 11 July 2018 from http://www.maj.ir/Dorsapax/userfiles/Sub65/Amarnamehj194-95-site.pdf (In Farsi).
5. AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis (16th Ed)*. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.
6. Arzani, K., Mansouri Ardakan, H., Vezvaei, A. & Roozban, M. R. (2008). Morphological variation among Persian walnut (*Juglans regia*) genotypes from central Iran. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 36, 159–168.
7. Bouabdallah, I., Bouali, I., Martinez-Force, E., Albouchi, A., Perez Camino, M.C. & Boukhchina, S. (2014). Composition of fatty acids, triacylglycerols and polar compounds of different walnut varieties (*Juglans regia* L.) from Tunisia. *Natural Product Research*, 28 (21), 1826–1833.
8. Ebrahimi, A., Fattahi Moghadam, M. R., Zamani, Z. & Vahdati, K. (2010). An investigation on genetic diversity of 608 Persian walnut accessions for screening of some genotypes of superior traits. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 40 (4), 83-94 (In Farsi).
9. Eskandari, S., Hassani, D. & Abdi, A. (2005). Investigation on genetic diversity of Persian walnut and evaluation of promising genotypes. *Acta Horticulturae*, 705, 159-163.
10. FAO. (2016). *FAOSTAT production crops*. FAOSTAT website from http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor.
11. Forde, H.I. (1975). *Walnuts*. In: Janick, J. and Moore, J.N. (Eds.), *Advances in Fruit Breeding*. (pp. 439-455). Purdue University Press, West Lafayette, IN.
12. Gandev, S. (2007). Budding and grafting of the walnut (*Juglans regia* L.) and their effectiveness in Bulgaria (Review). *Bulgarian Journal of Agricultural Science*; 13, 683-689.
13. Govindaraj, M., Vetriventhan, M. & Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International*, 1-14.

14. Hansche, P. E., Beres, V. & Forde, H. I. (1972). Estimates of quantitative genetic properties of walnut and their implications for cultivar improvement. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 97, 279-285.
15. IPGRI. (1994). *Descriptors for walnut (Juglans spp.).* Rome, Italy, International Plant Genetic Resources Institute, 51 pp.
16. Janick, J. & Paul, R.E. (2008). *The encyclopedia of fruit and nuts*. CABI Press, 800 pp.
17. Karamatlo, I., Sharifani, M. & Sabouri, H. (2016). Evaluation of genetic diversity in some walnut (*Juglans regia* L.) genotypes using morphological markers. *Journal of Crop Production and Processing*, 6 (20), 13-23 (In Farsi).
18. Korac, M., Cerovic, S., Golosin, B. & Miletic, R. (1997). Collecting, evaluation and utilization of walnut (*Juglans regia* L.) in Yugoslavia. *Plant Genetic Ressources Newsletter*, 111, 72-74.
19. Labuckas, D. O., Maestri, D. M., Perello, M., Martınez, M. L. & Lamarque, A. L. (2008). Phenolics from walnut (*Juglans regia* L.) kernels: Antioxidant activity and interactions with proteins. *Food Chemistry*, 107, 607-612.
20. Martinez, M. L. & Maestri, D.M. (2008). Oil chemical variation in walnut (*Juglans regia* L.) genotypes grown in Argentina. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110 (12), 1183-1189.
21. Martınez, M. L., Labuckas, D. O., Lamarque, A. L. & Maestri, D. M. (2010). Walnut (*Juglans regia* L.): genetic resources, chemistry, by-products. *Journal of Science Food Agriculture*, 90, 1959-1967.
22. McGranahan, G. H. & Forde, H. I. (1985). Relationship between clone age and selection trait expression in mature walnuts. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110, 692-696.
23. Metcalf, L. C., Schmirz, A. A. & Pelka, J. R. (1966). Rapid preparation of methyl esters from lipid for gas chromatography. *Analytical Chemistry*, 38, 514-515.
24. Mousavi, S. A., Tatari, M., Moradi, H. & Hassani, D. (2015). Evaluation of genetic diversity among the superior walnut genotypes based on pomological and phenological traits in Chahar Mahal va Bakhtiari province. *Seed and Plant Improvement Journal*, 31(2), 365-389. (in Farsi)
25. Naghavi, M.R., Gharehyazi, B. & Hoseini salkadeh, G. (2008). *Molecular markers*. (2nd ed.). University of Tehran Press, 334 p. (in Farsi)
26. Pathak, T. B., Maskey, M. L., Dahlberg, J. A., Kearns, F., Bali, K. M. & Zaccaria, D. (2018). Climate change trends and impacts on California agriculture: a detailed review. *Agronomy*, 8(3), 1-27.
27. Pereira, J. A., Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C. F. R., Bento, A. & Estevinho, L. (2008). Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2103-2111.
28. Ramos, D. E. (1997). *Walnut production manual* (Vol. 3373). UCANR Publications. 320pp.
29. Rehman, M. U., Rather, G. H., Gull, Y., Mir, M. R., Mir, M. M., Waida, U. I. & Hakeem, K. R. (2015). Effect of climate change on horticultural crops. In: K. R. Hakeem (Ed), *Crop Production and Global Environmental Issues*. (pp. 211-239) Springer Press.
30. Reiter, R. J., Manchester, L. C. & Dun-xian Tan, M. D. (2005). Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition*, 21, 920-924.
31. 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.
32. Sarikhani Khorami, S., Arzani, K. & Roozban, M. R. (2012). Identification and selection of twelve walnut superior and promising genotypes in Fars Province, Iran. *Seed and Plant Improvement Journal*, 28 (2), 277-296. (in Farsi)
33. Sarikhani Khorami, S., Arzani, K. & Roozban, M. R. (2014). Correlations of certain high-heritability horticultural traits in Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae*, 1050, 61-68.
34. Sarikhani Khorami, S., Arzani, K., Karimzadeh, G. & Shojaeiyan, A. (2018a). Morphological characteristics, protein contents and fatty acids composition of some walnut (*Juglans regia* L.) superior genotypes in the north of Fars province. *Seed and Plant Production Journal*, 33 (2), 163-184. (in Farsi)
35. Sarikhani Khorami, S., Arzani, K., Karimzadeh, G., Shojaeiyan, A. & Ligterink, W. (2018b). Genome size: a novel predictor of nut weight and nut size of walnut trees. *HortScience*, 53(3), 275-282.
36. Shafaei Chorush, Z. & Arzani, K. (2018). Evaluation of diversity of walnut promising genotypes in Kermanshah province according to oil properties and determine the correlation of these traits with some morphological and ecological characters. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48(4), 887-897. (in Farsi)
37. Shamlo, F., Rezaei, M., Biabani, A. & Khanahmadi, A. (2016). Morphological diversity among walnut genotypes of in Azadshar, Iran. *Journal of Horticulture Science*, 30 (3), 469-479.
38. Sharma, O. C. & Sharma, S. D. (2001). Correlation between nut and kernel characters of Persian walnut seedlings trees of Garsa Valley in Kullu district of Himachal Pradesh. *Acta Horticulturae*, 544, 129-132.

39. Solar, A., Ivancic, A., Stampar, F. & Hudina, M. (2002). Genetic resources for walnut (*Juglans regia* L) improvement in Slovenia. Evaluation of the largest collection of local genotypes. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49, 491-501.
40. Soleimani, A., Rabiei, V., Hassani, D. & Amiri, M. E. (2009). Effects of rootstock and cultivar on propagation of walnut (*Juglans regia* L.) using hypocotyl grafting. *Seed and Plant Production Journal*, 25 (1), 93-101. (in Farsi)
41. Vahdati, K., Hassani, D., Rezaee, R., Jafari Sayadi, M. H. & Sarikhani Khorami, S. (2014). *Walnut footprint in Iran*. In: Avanzato, D., McGranahan, G. H., Vahdati, K., Botu, M., Iannamico, L., & Assche, J. V. (Ed), *Following walnut footprints (Juglans regia L.) cultivation and culture, folklore and history, traditions and uses*. (pp. 187-201). Scripta Horticulturae.
42. van Nocker, S. & Gardiner, S. E. (2014). Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. *Horticulture Research*, 1, 14022.
43. Yarilgac, T., Koyuncu, F., Koyuncu, M. A., Kazankaya, A. & Sen, S. M. (2001). Some promising walnut selections (*Juglans regia* L.). *Acta Horticulturae*, 544, 93-100.
44. Yucel, C., Baloch, F. S. & Ozkan, H. (2009). Genetic analysis of some physical properties of bread wheat grain (*Triticum aestivum* L. em Thell*). Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 33, 525-535.
45. Yuemei, C., Junmin, D. & Caihong, Z. (2013). The analysis on fat characteristics of walnut varieties in different production areas of Shanxi province. *Journal of Plant Studies*, 3(1), 28-34.
46. Zeneli, G., Kola, H. & Dida, M. (2005). Phenotypic variation in native walnut populations of Northern Albania. *Scientia Horticulturae*, 105, 91-100.