



ارزیابی بعضی از ژنوتیپ‌های لایم جنوب کشور بر اساس صفات مورفولوژی

سمانه راهب^{۱*}، مرتضی گل‌محمدی^۱، بهروز گل‌عین^۱

^{۱*} محقق پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، رامسر

^۱ استادیار و دانشیار پژوهشکده مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری، رامسر

* نویسنده مسئول: srahebcitrus@yahoo.com

چکیده

به منظور ارزیابی برخی از ژنوتیپ‌های لیموترش جنوب کشور بر اساس خصوصیات مورفولوژی میوه، بذر، گل و برگ، تعداد ۳۵ ژنوتیپ لایم در طی سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۵ جمع‌آوری شدند. تجزیه‌ی خوشه‌ای نمونه‌ها بر اساس صفات مورفولوژی، به روش حداقل واریانس وارد، صورت گرفت و ژنوتیپ‌ها در سه گروه قرار گرفتند. بیشترین تعداد ژنوتیپ مورد بررسی با ۲۰ عضو در گروه سوم (G3) دیده شد. بررسی ماتریس تفاوت بر اساس ضریب گاور نشان داد بین نمونه‌ها در دامنه ۰/۰۵ تا ۰/۶۳ تفاوت وجود دارد. حداکثر میزان تفاوت بین دو نمونه C10 (مکزیک لایم) و ژنوتیپ TD9 تعلق داشت و حداقل میزان تفاوت نیز بین دو ژنوتیپ از منطقه میناب (MH3 و MH1) مشاهده شد. بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که بین ژنوتیپ‌ها در صفات مختلف مورفولوژی تفاوت وجود داشته که بیانگر تنوع در بین این ژنوتیپ‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: بذر، تجزیه‌ی خوشه‌ای، تنوع، گل، لیموترش

مقدمه

لایم‌ها گروهی از مرکبات را شامل می‌شوند که موطن اصلی آن‌ها جزایر هند شرقی بوده که به اروپا منتقل شده‌اند (Davies and Albrigo, 1994). کشورهای عمده تولید کننده لایم در جهان شامل هند، مکزیک، چین، آرژانتین، برزیل، اسپانیا، آمریکا، ترکیه و ایران است (FAOSTAT, 2017)، که از لحاظ سطح زیرکشت و میزان تولید لایم، ایران در رتبه نهم جهانی قرار گرفته است، که سطح زیر کشت آن حدود ۲۵۷۳۴ هکتار و میزان تولید آن ۴۲۷۷۱۵ تن می‌باشد (FAOSTAT, 2017). مناطق مناسب کشت لایم در ایران، استان‌های فارس، بوشهر، کهگیلویه، هرمزگان و سیستان بلوچستان می‌باشد (Golein and Adouli, 2011). از مهمترین کاربردهای لیموترش استفاده از آن در صنایع دارویی، صنایع تبدیلی به عنوان لیمو خشک و تولید آب‌لیمو است (Sheresta et al., 2012; Njoku et al., 2011). با وجود مزایای ذکر شده از لیموترش یکی از مشکلات اصلی آن وجود بیماری جاروک است. که در سال‌های اخیر وقوع این بیماری بخش زیادی از درختان لایم در جنوب ایران را از بین برده است و تهدید اصلی برای تولید لایم در ایران محسوب می‌شود. بیماری جاروک ناشی از نوعی فیتوپلازما (*Candidatus Phytoplasma aurantifolia*)، مهمترین بیماری درختان لایم‌ترش می‌باشد (Bove et al., 2000). نشانگرهای مورفولوژی عمدتاً متناظر با صفاتی هستند که پیامد جهش‌های قابل رویت در مورفولوژی DNA می‌باشند. این نشانگرها در جمعیت‌های طبیعی یافت می‌شوند و یا در نتیجه آزمایش‌های جهش‌زایی تولید می‌شوند. در روش‌های کلاسیک اصلاح گیاهان، برآورد تنوع در بین گیاهان بر پایه چنین ویژگی‌هایی استوار است و استفاده مستمر از این ویژگی‌ها برای توصیف ارقام دلیلی بر اهمیت و اعتبار این صفات می‌باشد (Ansari and Bloosi, 2004). آل نگار و همکاران (۲۰۰۹)، برای ارزیابی خصوصیات بین گونه‌ای در دورگ‌هایی که حاصل از تلاقی لمون ولکامریانا و لایم بودند، از بعضی صفات مورفولوژی همچون تعداد بذر در هر میوه، درصد جوانه زنی و تعداد جنین‌های موجود در هر بذر استفاده کردند. بر اساس نتایج بدست آمده دورگ‌های ناشی از لمون ولکامریانا هیچ کدام چند جنین نبودند. دورجی و یاپ‌واتادافیوم (Dorji and



Yapwattanaphun, 2011) در بررسی ژنوتیپ های نارنگی (*Citrus reticulata* Blanco) در بوتان، جهت شناسایی آنها از ویژگی های مورفولوژی استفاده نمودند. در داده های حاصل از بررسی طول و عرض برگ؛ عرض، طول و قطر میوه؛ ضخامت اپی کارپ و تعداد بذر در میوه تفاوت معنی دار بالایی بین ژنوتیپ ها مشاهده شد، در حالی که ویژگی های گل، تنوع کمی را بین درختان و حتی مناطق نشان دادند. به دلیل بذری بودن ارقام مختلف لایم ترش و سابقه کشت طولانی آن، ژنوتیپ های مختلفی از آن در نواحی جنوبی کشور بوجود آمده است. در طی دهه های گذشته با تلاش پژوهشگران مرکبات کشور، تعدادی از بیوتیپ های لیموترش از مناطق جنوبی کشور جهت دستیابی به ارقام متحمل به جاروک جمع آوری و در کلکسیون ها نگهداری می شوند. تا کنون ارزیابی های دقیق باغبانی همچون بررسی خصوصیات مورفولوژی در آنها انجام نشده است. لذا در این پژوهش بررسی خصوصیات مورفولوژی تعدادی از این ژنوتیپ ها بعنوان اولین قدم جهت شناسایی دقیق نمونه های مورد نظر و استفاده از آنها در برنامه های اصلاحی جهت بهبود صفات مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

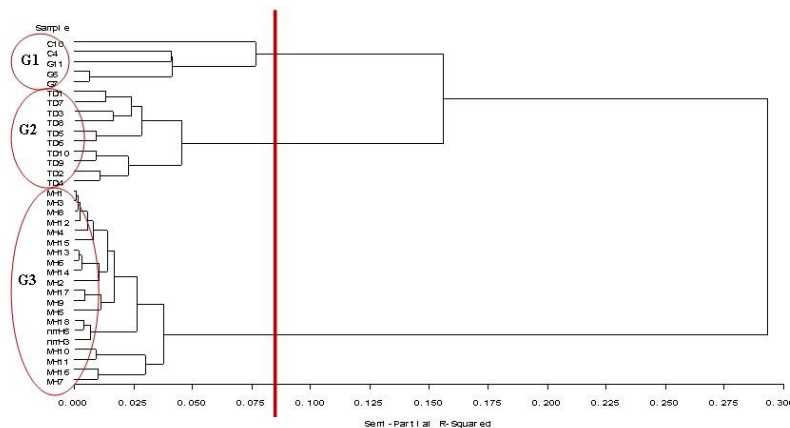
سی و پنج ژنوتیپ طبیعی لایم ترش از مناطق اصلی کاشت آن، واقع در کلکسیون ایستگاه های تحقیقات مرکبات جنوب کشور از استان های فارس (داراب و جهرم)، هرمزگان (میناب) و کرمان (جیرفت)، که همگی روی پایه های یکسان پیوند زده شده بودند و از شرایط یکسان باغبانی نیز برخوردار بودند، انتخاب شدند و خصوصیات مورفولوژی آنها در طی دو سال متوالی ارزیابی شد. برای ارزیابی ژنوتیپ های مورد بررسی از نمونه های میوه، گل و برگ استفاده شد. بر اساس مناطق کشت، زمان برداشت میوهی ژنوتیپ های مختلف طی ماه های تیر تا شهریور بود. بطوریکه ۳۰ عدد میوه به طور تصادفی از قسمت های مختلف درخت در زمان رسیدن باغبانی میوه بر اساس شاخص برداشت لایم ها که میزان آب میوه و رنگ قابل قبول است، انتخاب شدند. جهت تکمیل صفات مربوط به گل تعداد ۳۰ عدد گل از هر ژنوتیپ با شروع فصل بهار و شکوفایی گل ها (اوایل ماه اسفند تا فروردین) از تمام قسمت درخت نمونه گیری صورت گرفت. برای انتخاب برگ ها، تعداد ۳۰ عدد برگ از بخش میانی شاخه های رویشی در زمان برداشت میوه در نظر گرفته شد. سپس نمونه ها مورد نظر با حفظ اصول قرنطینه ای به آزمایشگاه پژوهشکده مرکبات و میوه های نیمه گرمسیری، رامسر انتقال داده شدند. ویژگی های مورفولوژی ژنوتیپ های مختلف بر اساس توصیف نامه ی مرکبات مورد بررسی قرار گرفت (IPGRI, 1999). اندازه گیری صفات ذکر شده با استفاده از مشاهدات عینی و کولیس انجام شد. در نهایت داده ها به نرم افزار Excel برای انجام تجزیه های آماری منتقل شدند سپس تجزیه خوشه ای بر اساس تمام صفات مورفولوژی اندازه گیری شده به روش حداقل واریانس وارد (Ward, 1963) و بررسی ماتریس تفاوت بر اساس ضریب گاور با استفاده از نرم افزار SAS 9.0 (SAS, 2002) صورت گرفت.

تجزیه خوشه ای نمونه ها بر اساس داده های مورفولوژی

تجزیه خوشه ای بر اساس تمام صفات مورفولوژی اندازه گیری شده به روش حداقل واریانس وارد (Ward, 1963) با استفاده از نرم افزار SAS 9.0 (SAS, 2002) صورت گرفت. مناسب ترین نقطه برش دندروگرام از بین نقاط مختلف موجود، نقطه ای انتخاب شد که کل ژنوتیپ های لیموترش مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم بندی نماید (شکل ۱). با این برش، ژنوتیپ های هر گروه شاخصه های متمایزی داشتند که آنها را از سایر گروه ها جدا کرد. بر اساس نتایج بدست آمده از تجزیه خوشه ای، بیشترین تعداد ژنوتیپ مورد بررسی در گروه سوم (G3) دیده شد که شامل ۲۰ ژنوتیپ بود. همانطور که مشخص است تمامی ژنوتیپ هایی که در گروه سه (G3) قرار گرفتند، همگی متعلق به استان هرمزگان و شهرستان میناب می باشند. تشکیل یک گروه جداگانه برای نمونه های شهرستان میناب می تواند به دلیل مسیر تکاملی مشترک برای این ژنوتیپ ها باشد، از آنجاییکه در این شهرستان لیموها سطح زیر کشت بیشتری را نسبت به



سایر ارقام مرکبات به خود اختصاص داده‌اند، لذا به نظر می‌رسد ناخالصی ژنی کمتری در این مناطق وارد شده باشد و همچنین تکثیر لیموها در این منطقه از راه بذر می‌باشد و به دلیل ذکر شده در بالا، حفاظت‌شدگی ژنوتیپ‌ها در این منطقه طبیعی به نظر می‌رسد. نتایج به دست آمده از تحقیق جهانگیرزاده و همکاران (۱۳۹۴)، گروه‌بندی بالا را تایید می‌کند.



شکل «۱» نمودار خوشه‌ای ۳۵ ژنوتیپ مرکبات با استفاده از خصوصیات مورفولوژی به روش حداقل واریانس وارد

گروه دوم (G2) با داشتن ۱۰ عضو دومین گروه را از لحاظ جمعیت به خود اختصاص داده است. همانطور که از اطلاعات جدول (۱) مشخص است این نمونه‌ها متعلق به استان شیراز و شهرستان داراب می‌باشند. قرار گرفتن آن‌ها در یک گروه با توجه به اینکه همگی در شرایط آب و هوایی و باغی یکسان پرورش پیدا کرده‌اند طبیعی به نظر می‌رسد. ژنوتیپ‌های C10، C4، G11، G5، G7 و G1 از اعضای گروه یک (G1) می‌باشند. نمونه‌های G5، G7، G11 و G1 متعلق به استان کرمان و شهرستان جیرفت می‌باشند که همراه با مکزیکن لایم (C10) و پرشین لایم (C4) در یک گروه قرار گرفته‌اند. همانطور که مشخص است ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در این پژوهش بر اساس مناطق کشت و شرایط آب و هوایی یکسان با توجه به ویژگی‌های مورفولوژی در سه گروه جداگانه قرار گرفتند. که این موضوع می‌تواند بیانگر مسیر تکاملی جداگانه‌ی هر کدام از گروه‌ها باشد. با توجه به اینکه ویژگی‌های مورفولوژی به راحتی تحت اثر عوامل محیطی قرار می‌گیرند، برای تشخیص میزان تشابه دقیق ژنوتیپ‌های مختلف نیاز به کاربرد نشانگرهای مولکولی می‌باشد. با توجه به کاربرد دو نشانگر مولکولی در این پژوهش (نتایج آورده نشده است)، نتایج حاصل از نمودار خوشه‌بندی آن‌ها نیز تقریباً این گروه‌بندی مورفولوژی را تایید می‌کند. طبق یافته‌های زندکریمی و همکاران (Zandkarimi et al., 2011) در ارزیابی مورفولوژی بعضی از ژنوتیپ‌های لایم و لمون در استان هرمزگان بیان کرد که ژنوتیپ‌های لایم در پاره‌ای از صفات مورفولوژی همچون شکل، اندازه و ضخامت پوست میوه‌ها با هم متفاوت هستند. مشخصات مورفولوژی هر کدام از گروه‌ها به طور جداگانه بررسی شد و مشخص شد که هر گروهی مشخصات خاص خود را دارد که بعضی از این خصوصیات نسبت به صفات دیگر دارای ارزش اصلاحی بالاتری هستند. به نظر می‌رسد، گروه سوم (G3)، دارای بعضی از ویژگی‌های برتر نسبت به دو گروه دیگر باشد. به عنوان مثال، بافت گوشت میوه‌های آن، گوشتی و آبدار است که این موضوع در صنایع تبدیلی کاربرد فراوانی دارد. میزان آب‌میوه، میزان اسیدیته و برخی از صفات دیگر بیشتر از سایر خصوصیات مورفولوژی و کمی و کیفی در تعیین کیفیت لیموترش حائز اهمیت است (Sheresta et al., 2012). همچنین میوه‌های گروه سوم اکثراً به شکل کروی هستند. همانطور که می‌دانیم گردی میوه در مرکبات از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. میوه‌های گروه سوم دارای سطح پوستی صاف هستند که نسبت به دو گروه دیگر که سطحی زبر دارند از قابلیت بازاریابی بیشتری برخوردار خواهند بود. از طرفی دیگر در گروه‌های یک (G1) و دو (G2) نسبت به گروه سوم (G3)، درخت از تراکم تیغ کمتری برخوردار است که جز صفت مطلوب این گروه‌ها محسوب می‌شود.



بنابراین می توان با توجه به ویژگی های برتر هر گروه از صفات مطلوب هر ژنوتیپ در کارهای اصلاحی استفاده زیادی کرد.

تحلیل ماتریس تفاوت حاصل از داده های مورفولوژی

بررسی ماتریس تفاوت بر اساس ضریب گاور نشان داد (جدول ۱) بین نمونه ها در دامنه ۰/۰۵ تا ۰/۶۳ تفاوت وجود دارد. حداکثر میزان تفاوت بین دو نمونه C10 (مکزیکن لایم) و ژنوتیپ TD9 تعلق داشت و حداقل میزان تفاوت نیز بین دو ژنوتیپ از منطقه میناب (MH1 و MH3) مشاهده شد. همانطور که گفته شد، نمونه C10 که متعلق به منطقه میناب می باشد بالاترین میزان تفاوت را با نمونه TD9 که به نام لیمومحلی منطقه فورگ از استان شیراز می باشد، داشت. این اختلاف زیاد طبیعی به نظر می رسد چرا که با توجه به بررسی خصوصیات مورفولوژی میوه، بذر، گل و برگ از لحاظ بسیاری از صفات دیگر با هم متفاوت هستند. همانطور که از داده های جدول ۳، مشخص است مکزیکن لایم با ضریب تفاوت ۰/۴۳ کمترین تفاوت و بیشترین شباهت را با ژنوتیپ MH5 دارد. با توجه به در نظر گرفتن ویژگی های مورفولوژی نمونه MH5 با نام محلی ۲-۵ بذری، متوجه خواهیم شد که شباهت بسیار زیادی با مکزیکن لایم دارد. در بررسی مورفولوژی مرکبات، محدوده تنوع ژنتیکی بدست آمده توسط شاخص های مورفولوژی معمولاً در دامنه ای است، که در بررسی حاضر بدست آمده است. جهانگیرزاده و همکاران (۱۳۹۴)، در بررسی تنوع و روابط خویشاوندی برخی از ژنوتیپ های لایم با استفاده از نشانگرهای مولکولی و مورفولوژی، بیان کردند که بین نمونه ها از لحاظ مورفولوژی بین ۸٪ تا ۷۲٪ تفاوت وجود دارد. با توجه به نتایج ارائه شده و وجود تنوع کافی بین ژنوتیپ های لیموترش مورد مطالعه، می توان در آینده با انتخاب مواد گیاهی مناسب در بین گروه ها برای انجام برنامه های اصلاحی با اهداف متعدد استفاده کرد. به طوریکه می توان انتظار داشت هیبریدهای حاصل از تلاقی گروه اول (G1) با گروه دوم (G2) و سوم (G3) بتوانند از لحاظ صفات مورد بررسی مطلوب تر و برتر از ژنوتیپ های موجود ظاهر شوند.

جدول «۱» ماتریس تفاوت حاصل از داده های مورفولوژی

Table with columns for Sample, C10, C4, G11, G6, G7, MH1, MH10, MH11, MH12, MH13, MH14, MH15, MH16, MH17, MH18, MH19, MH20, MH21, MH22, MH23, MH24, MH25, MH26, MH27, MH28, MH29, MH30, MH31, MH32, MH33, MH34, MH35, MH36, MH37, MH38, MH39, MH40, MH41, MH42, MH43, MH44, MH45, TD1, TD2, TD3, TD4, TD5, TD6, TD7, TD8, TD9. The table contains numerical values representing the differences between various samples.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که در بین ۳۵ ژنوتیپ لیموترش انتخابی از نظر خصوصیات مورفولوژی میوه، تفاوت های قابل توجهی وجود دارد. مناسب ترین نقطه برش دندروگرام از بین نقاط مختلف موجود، نقطه ای انتخاب شد که کل ژنوتیپ های لیموترش مورد مطالعه را به سه گروه تقسیم بندی نماید. با این برش، ژنوتیپ های هر گروه شاخصه های متمایزی داشتند که آن ها را از سایر گروه ها جدا کرد. بر اساس نتایج بدست آمده از تجزیه خوشه ای، بیشترین تعداد ژنوتیپ مورد بررسی در گروه سوم (G3) دیده شد که شامل ۲۰ ژنوتیپ بود. بررسی ماتریس تفاوت بر اساس ضریب گاور نشان داد بین نمونه ها در دامنه ۰/۰۵ تا ۰/۶۳ تفاوت وجود دارد. دلیل احتمالی این تنوع می تواند



به علت بذری بودن لیمو ترش در منطقه جنوب کشور باشد. وجود تنوع در ژرم پلاسماهای لیموترش مورد مطالعه، می تواند به عنوان اولین گام در برنامه های اصلاحی و یا معرفی رقم پس از ارزیابی تعیین تحمل نسبت به عامل بیماری جاروک مورد استفاده قرار گیرد.

References:

- Bove, J. M., Danet, J. L., Bananej, K., Hassanzadeh, N., Taghizadeh, M., Salehi, M. and Garnier, M. (2000). Witches Broom Disease of Lime (WBDL) in Iran. Fourteenth IOCV Conference, Insect-Transmitted Procarvates, 14(14): 207- 212.
- Davies F.S. and L. G. Albrigo. 1994 .Taxonomy cultivars and breeding, In: Davis, F. S., and Albrigo, L. G. (Eds) Citrus, Wallingford, CAB International, 12- 23.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT database. 2017. available at <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>.
- Golein, B. and Adouli, B. 2011. Citrus (cultivation), NovinPooya. Pp: 160.
- Shrestha, R. L., Dhakal, D. D., Gautum, D. M., Paudya, K P. and Shrestha, S. (2012). Variation of physiochemical components of acid Lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) fruits at different sides of the tree in Nepal. American Journal of Plant Sciences. 3 (12): 1688- 1692.

Evaluation of some Lime (*Citrus* sp.) genotypes based on morphological traits in the south of Iran

Samaneh Raheb^{*1}, Morteza Golmohammadi¹, Behrouz Golain¹

^{*1}Researcher, Citrus and Semi-Tropical Fruits Research Institute, Ramsar

^{1,1}Assistant Professor and Associate Professor of Citrus and Semi-Tropical Fruits, Ramsar

*Corresponding Author: srahebcitrus@yahoo.com

Abstract

In this study, morphological characteristics in leaves, flowers, fruit and seeds of 35 acid lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) genotypes from south of Iran were evaluated during two successive years. The cluster analysis using Ward's minimum variance assigned genotypes into three groups. The majority of studied genotypes, about 20 genotypes, were categorized in group 3 (G3). The dissimilarity matrix based on Gower coefficient showed that there was a significant difference in the range between 0.05 and 0.63 among genotypes. The maximum difference was observed between C10 (Mexican lime) and TD9 genotypes and the minimum difference was found among two genotypes from Minab region (MH1 and MH3). The results showed that genotypes was different in morphological characteristics.

Key-words: Acid lime, Cluster analysis, Diversity, Flower, Seed.