

بررسی تنوع ژنتیکی برخی جمعیت‌های بنفشه بومی ایران (*Viola spp.*) با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیک

سمیرا ابوالقاسمی^۱، روح انگیز نادری^{۲*} و محمدرضا فتاحی مقدم^۲

۱ و ۲. دانشجوی دکتری و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۱۸)

چکیده

بنفشه یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی و دارویی محسوب می‌شود که در بیشتر نقاط ایران به صورت خودرو رویش دارد. بنابراین شناسایی و ارزیابی خصوصیات بنفشه بومی ایران حایز اهمیت می‌باشد. هشت جمعیت بنفشه از استان‌های البرز، مازندران، کرمانشاه، اردبیل و همدان جمع‌آوری شد و ۳۷ ویژگی کمی و کیفی آن‌ها مورد سنجش قرار گرفت. نتایج تجزیه همبستگی ویژگی‌های مورد مطالعه، وجود همبستگی‌های مثبت و منفی معنی‌دار بین برخی ویژگی‌های مهم مانند ویژگی طول پهنک از ابتدا تا پهن‌ترین بخش آن و عمق سینوس پهنک برگ ($r=0.911$)، تعداد شرابه گوشوارک و تعداد شرابه‌های غده‌دار گوشوارک ($r=0.914$)، زاویه نوک برگ با رنگ مهمیز ($r=0.746$)، زاویه سینوس پهنک برگ با نسبت طول به پهنای پهنک برگ ($r=0.854$)، طول گل (طول گلبرگ قدامی به همراه مهمیز) با تعداد بریدگی‌های حاشیه برگ ($r=0.786$)، عرض سینوس برگ با طول کاسبرگ قدامی ($r=0.726$)، را نشان داد. بر اساس تجزیه به عامل‌ها، صفات در ۶ گروه عاملی قرار گرفتند که مجموعاً ۸۹/۶۲ درصد از کل تغییرات را توجیه نمودند. در تجزیه کلاستر توده‌ها در فاصله ۱۰ به سه گروه تقسیم شدند و از عوامل مهم تفکیک کلاسترها ویژگی‌های رنگ گل، اندازه گل، شکل گوشوارک و تعداد شرابه‌های روی گوشوارک بودند. نتایج نشان داد بنفشه‌هایی با گل‌های بزرگ‌تر مانند جمعیت‌های کرمانشاه و چالوس، بنفشه‌هایی با استولون‌های طویل همراه با جوانه‌های زایا مانند جمعیت سبستانگان و همچنین بنفشه‌هایی با برگ‌های بزرگ در جمعیت کرمانشاه و واریان، برای مصارف دارویی و زینتی قابل استفاده هستند.

واژه‌های کلیدی: تجزیه عامل، تجزیه کلاستر، تنوع ژنتیکی، ویژگی‌های ریخت‌شناسی، *Viola spp.*

Evaluation of genetic diversity of some native violet populations of Iran (*Viola spp.*) using morphological markers

Samira Abolghaemi¹, Roohangiz Naderi^{2*} and Mohammadreza Fattahimoghaddam²

1, 2. Ph.D. Candidate and Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: June 11, 2019- Accepted: Sep. 09, 2019)

ABSTRACT

Violet is one of the most important plant in field of ornamental and medicinal purposes that grow wild in most part of Iran. Therefore, it is important to identify and evaluate the characteristics of Iranian native violets. In this study, 37 morphological characters were measured on 8 wild populations of *Viola spp* collected from Alborz, Hamedan, Kermanshah, Ardebil and Mazandaran province. Correlation analysis showed some positive and negative correlations between characters such as lamina length from the base to maximum width with lamina sinus depth ($r=0.911$), number of fimbriae with number of glandular fimbriae along both stipule margins ($r=0.914$), lamina apex angle and colors corolla ($r=0.854$), lamina sinus angle with lamina length/lamina width ($r=0.854$), the lamina dentations has correlation with posterior petal length ($r=0.736$), stipule width with anterior sepal length ($r=0.726$). Factors analysis of these characteristics set the traits to six operating groups that justify 89.62% of total variance. Cluster analysis at Euclidean distance of 10, divided the populations into three branches and important factors in cluster separation contain feature of flower color, flower size, shape of stipule and number of fimbriae on stipule. The results showed that violets with larger flowers such as Kermanshah and Chalous populations, violets with long stolons with fertile buds such as Sisangan population and also violets with large leaves in Kermanshah population and Varian can be used for medicinal and decorative purposes.

Keywords: Cluster analysis, factor analysis, genetic diversity, morphological features, *Viola spp.*

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

مقدمه

جنس *Viola* بزرگترین جنس از تیره ویولاسه (Violaceae) شامل ۶۰۰-۵۲۵ گونه است که در بیشتر نقاط دنیا رویش دارد و به حدود ۱۴ بخش و تعداد زیادی گروه‌های زیر بخش تقسیم می‌شود (Ballard et al., 1999; Yockteng et al., 2003). طبقه‌بندی تیره بنفشه بر اساس ویژگی‌های زیر انجام می‌گیرد: فقدان ساقه، ریزوم کوتاه و تنومند، استولون‌های ریشه‌دهنده، حضور گوشوارک، کاسبرگ گرد یا نوک تیز یا نوک منقاری شکل، خامه صاف یا منقاری شکل، شکل بذور (Merdeda et al., 2008). تقسیم‌بندی بخش *Viola* در اروپا براساس مورفولوژی کپسول (کپسول گرد، بدون انفجار، بدون دم) انجام گرفته است که در حدود ۲۵ گونه بومی مناطق معتدله اروپا و شمال آفریقا را شامل می‌شود. بخش *Viola* جزء بزرگترین گروه‌های زیرتیره بنفشه محسوب می‌شود و به ۵ زیر بخش تقسیم می‌شود: *Boreali Adnatae*, *Stolonosae*, *Rostratae*, *Viola Sororia Americanae* که بومی شمال آمریکا می‌باشد (Marcussen et al., 2006). زیربخش *Viola* به دو رده تقسیم می‌شود، رده *Viola* با گونه‌های *suavis alba odorata* و رده *Eflagellatae* با گونه‌های *ambigua*, *collina*, *hirta* که بر اساس وجود و عدم وجود استولون تقسیم‌بندی شده است (Becker, 1925; Gams, 1952). در حدود ۳۰ گونه در شمال و شمال غربی ایران شناسایی شده است که ۱۹ گونه از آن بومی ایران می‌باشند. از مهم‌ترین گونه‌های دارویی جنس بنفشه می‌توان *Viola tricolor*, *V. arvensis*, *V. baoshanensis* و *V. odorata* را نام برد (Karimi, 2002; Tutin, et al., 1968; Mozafarian, 1996). گونه *V. odorata* که به نام بنفشه شیرین نیز معروف است در صنعت عطرسازی کاربرد فراوان دارد و مواد مؤثره آن اثرات ضدالتهاب، تسکین‌دهنده، ضد مسمومیت و ضد ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) دارد (Drozdova & Bubenchikov, 2004). ترکیبی از آزمایش‌های کاربیلوژی، مورفولوژی و ملکولی مانند توالی یابی DNA (Yockteng, 2003) و مارکرهای RAPD (Auge et al., 2001) (Marcussen, 2003) و

AFLP (Eckestein, 2006) موجب روشن‌سازی روابط فیلوژنیک درون جنس و درون‌گونه‌ای بنفشه شده است. بنفشه گیاهی یکساله یا چند ساله، برگ‌ها متناوب، دنداندار و یا لوبدار، گوشوارک ساده یا دنداندار که گاهی رشد کرده و برگ مانند می‌شود، گل‌ها نامنظم، منفرد و برخی خود بارور (Cleistogamous)، دمگل دارای برگه، گلبرگ‌ها ۵ عدد، نامساوی، گلبرگ‌های پایینی گاهی بزرگ‌تر از بقیه و مهمیزدار، تخمدان سه حجره و تخمک به تعداد زیاد، میوه کپسول می‌باشد (Khatamsaz, 1991).

تنوع ژنتیکی در بحث اصلاح گیاهان اهمیت بالایی دارد و لازمه هر نوع تغییر در ساختار ژنتیکی گیاه وجود تنوع و اطلاع داشتن از سطح و نوع تنوع موجود در ژرم پلاسما است تا بتوان از این تنوع با توجه به اهداف اصلاحی استفاده کرد (Vojdani, 1993). در زمینه بررسی تنوع ژنتیکی، نشانگرهای مورفولوژیک از این نظر که هزینه انجام پایین دارند و نیز به تکنیک‌های مولکولی و بیوشیمیایی خاصی نیاز ندارند، مورد توجه هستند و کمک شایانی به تحقیقات اصلاحی می‌نمایند (Farsi & Zolali, 2003).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه منسجمی جهت شناسایی، تفکیک، مقایسه و ارزیابی صفات جمعیت‌های بنفشه بومی ایران صورت نگرفته است، بررسی تنوع ریخت‌شناسی و تعیین روابط بین ویژگی‌های این جمعیت‌ها برای برنامه‌های اصلاحی ضروری است تا به وسیله آن به اصلاح بنفشه‌های زینتی با ویژگی‌های برتر کمک کند. در این مطالعه خصوصیات مورفولوژیک بنفشه‌های بومی ایران از نقاط شمالی، شمال غربی، غربی و مرکزی ایران از جمله اردبیل، مازندران، تهران، البرز، همدان و کرمانشاه به منظور بررسی تنوع جمعیت‌های خودرو و شناسایی و تفکیک آنها مورد آزمایش قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تنوع ژنتیکی هشت جمعیت بنفشه از مناطق شمالی، شمال غربی و مرکزی ایران مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱).

جمعیت‌های جمع‌آوری شده به گلدان‌های مشابه یک

نگهداری شده بود، اندازه‌گیری شد (جدول ۲ و شکل ۱). ویژگی‌های مربوط به گوشوارک، پهنک و ساقه برگ (دمبرگ) روی سه برگ کاملاً بالغ و گسترش یافته در هر گیاه اندازه‌گیری شد. ویژگی‌های مربوط به ساقه گل‌دهنده، کاسه و جام گل روی دو گل بزرگ و بالغ اندازه‌گیری شد. تجزیه واریانس برای تمامی صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS، تجزیه همبستگی و تجزیه عامل‌ها با نرم‌افزار SPSS و دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر براساس روش Ward انجام شد و همچنین جهت مقایسه میانگین داده‌ها از روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح پنج و یک درصد استفاده شد.

کیلوگرمی حاوی خاک لوم به علاوه خاک برگ به نسبت ۱:۱ و شرایط یکسان منتقل شدند و در بهار سال ۱۳۹۲ خصوصیات کمی و کیفی مورفولوژیک جمعیت‌های بنفشه موردبررسی قرار گرفت. سی و هفت ویژگی (۱۹ خصوصیت رویشی، ۱۳ خصوصیت زایشی و ۵ خصوصیت نسبی) بر روی ۸۰ گیاه از هشت جمعیت جمع‌آوری شده که به مدت یک سال در شرایط یکسان در مزرعه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج) با حداقل و حد اکثر مطلق دما به ترتیب ۲۰- و ۴۲ درجه سانتی‌گراد و میانگین سالیانه نیز ۱/۱۴ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۵۲ درصد

جدول ۱. خصوصیات مناطق جمع‌آوری جمعیت‌های بنفشه

Table 1. Characteristics of areas where violet populations are collected

Sampling areas	Regional climate characteristics
Ramsar- Mazandaran	Average annual relative humidity 80%, Average temperature of the coldest month of the year 3.9 C°, average temperature of the warmest month of the year 26.6 C°, Average annual rainfall 1257.6 mm
Sisangan- Mazandaran	Average annual relative humidity 83%, Average temperature of the coldest month of the year 7.9 C°, average temperature of the warmest month of the year 25.2 C°, Average annual rainfall 1281mm
Khalkhal- Ardabil	Average annual relative humidity 62%, Average temperature of the coldest month of the year -9.3 C°, average temperature of the warmest month of the year 20.1 C°, Average annual rainfall 246 mm
Varian- Alborz	Average annual relative humidity 47%, Average temperature of the coldest month of the year -5.7 C°, average temperature of the warmest month of the year 27.2 C°, Average annual rainfall 168 mm
Chaloos- Mazandaran	Average annual relative humidity 82%, Average temperature of the coldest month of the year 1.7 C°, average temperature of the warmest month of the year 21.1 C°, Average annual rainfall 1257.6 mm
Kheiroodkenar- Mazandaran	Average annual relative humidity 83%, Average temperature of the coldest month of the year 7.9 C°, average temperature of the warmest month of the year 25.2 C°, Average annual rainfall 1281 mm
Nahavand-Hamedan	Average annual relative humidity 44%, Average temperature of the coldest month of the year -6.1 C°, average temperature of the warmest month of the year 39.2 C°, Average annual rainfall 263 mm
Kermanshah	Average annual relative humidity 39%, Average temperature of the coldest month of the year -2.9 C°, average temperature of the warmest month of the year 29.0 C°, Average annual rainfall 305.1 mm

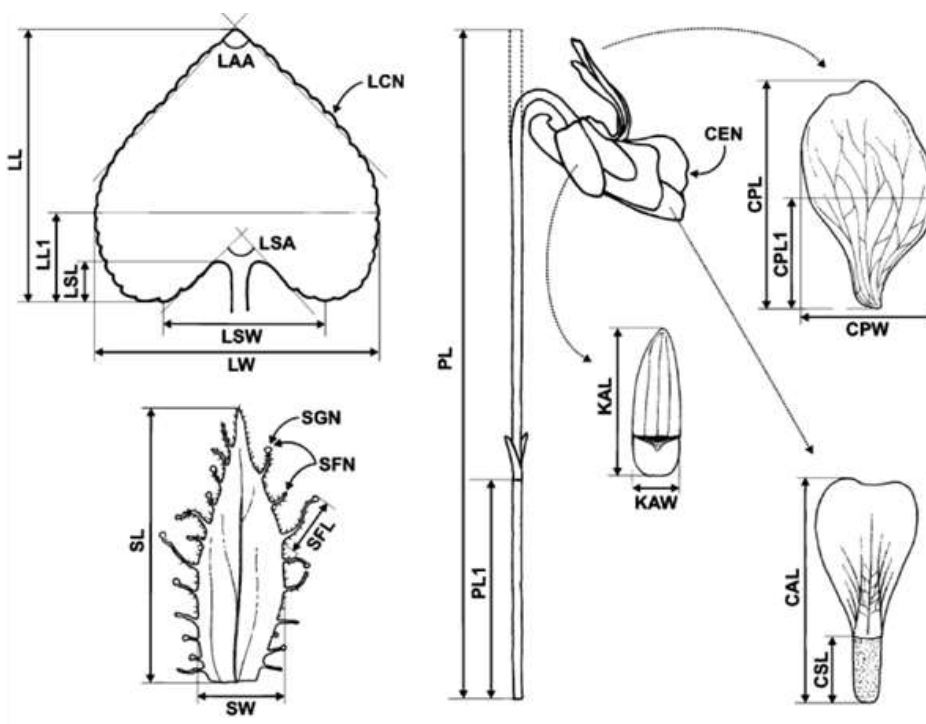
جدول ۲. ویژگی‌های مورد مطالعه در جمعیت‌های بنفشه

Table 2. Characteristics studied in violet populations

Characters	Character explanation
Stolons	
StAL	Maximum length of aboveground stolon (cm)
StP	Violet pigmentation of stolons 0 absent; 1 present
Laminas and petioles	
LL	Lamina length (cm)
LW	Lamina width (cm)
LL1	Lamina length from the base to maximum width (cm)
LSL	Lamina sinus depth (cm)
LSW	Lamina sinus width (cm)
LCN	Number of crenulae along both lamina margins (lamina dentations)
LAA	Lamina apex angle (degree)
LSA	Lamina sinus angle (degree)
AE	Stationary angle (degree)
SL	Stipule length (mm)

ادامه جدول ۲. ویژگی های مورد مطالعه در جمعیت های بنفشه
Continued table 2. Characteristics studied in violet populations

Laminas and petioles	
LL/LW	Lamina length/lamina width
LW/LSW	Lamina width/lamina sinus width
LL1/LL	Lamina length from the base to maximum width/lamina length
LSL/LL	Lamina sinus depth/lamina length
Peduncles	
PL	Peduncle length (cm)
PL1	PL1 Peduncle length below bracteoles (cm)
PL1/PL	Peduncle length below bracteoles/peduncle length
Calyx (sepals)	
KAL	Anterior sepal length (mm)
KAW	Anterior sepal width
Corolla (petals)	
CPL	Posterior petal length (mm)
CPW	Posterior petal width (mm)
CPL1	Posterior petal length from the base to the first maximum width
CLL	Lateral petal length (mm)
CLW	Lateral petal width (mm)
CAL	Anterior petal length (including spur) (length of flower) (mm)
CSL	Spur length (mm)
CSP	Spur colour 0 white; 1 pale blue or (bluish-)violet; 2 deep violet
CPSP	Pigmentation of corolla in contrast to pigmentation of spur
CPL1/CPL	0 spur paler than corolla; 1 spur the same colour as corolla; 2 spur darker than corolla
SW	Stipule width (mm)
SFN	Number of fimbriae (=glandular fimbriae, non-glandular fimbriae and sessile glandule) along both stipule margins
SFL	Maximum fimbriae length on stipule (mm)
SGN	Number of glandular fimbriae along both stipule margins
SYGN	Yellow or yellowish-brown glandular fimbriae on stipule (including yellow or yellowish-brown sessile glandule)
SBGN	Blackish glandular fimbriae on stipule (including blackish sessile glandule)
	0 absent; 1 present



شکل ۱. ویژگی های مورفولوژی اندازه گیری شده برگرفته شده از مقاله (2008) Hodalova *et al.*

Figure 1. The measured morphological traits taken from the article Hodalova *et al.* (2008).

نتایج و بحث

میانگین، بیشینه و کمینه ویژگی‌ها

صفت طول استولون روزمینی از ویژگی‌هایی است که در طبقه‌بندی‌های سنتی بنفشه مورد توجه است به طوری که گامس در سال ۱۹۲۵ و مارکوسن در سال ۲۰۰۳ گونه‌های *V. odorata*, *V. suavis*, *V. alba* را دارای استولون و *V. collina*, *V. hirta*, *V. ambigua* را فاقد استولون نام بردند (Marcussen, 2003 & Gams, 1925). در مطالعه حاضر تمامی جمعیت‌های جمع‌آوری شده دارای استولون روزمینی هستند به جز برخی گیاهان جمعیت واریان در صورتی که بلندترین استولون متعلق به جمعیت رامسر و سیسنگان مازندران می‌باشد. هودالوا یکی از ویژگی‌های مهم که موجب تفرق بین جمعیت‌های *V. alba* شده بود را رنگدانه بنفش استولون، برگ، کپسول و کاسبرگ عنوان کرد (Hodalova et al., 2008). در این مطالعه جمعیت‌های رامسر، سیسنگان، خیرودکنار، نهاوند و کرمانشاه دارای رنگدانه بنفش در پیکره خود بودند در

صورتی که در جمعیت خلخال و واریان فاقد آن بودند. ویژگی طول گل (طول گلبرگ جلویی همراه با مهمیز) در جمعیت کرمانشاه با بیشترین مقدار میانگین ۲۸/۷۵ میلی‌متر و در جمعیت خلخال با میانگین ۸/۱۴ میلی‌متر کمترین مقدار را نشان دادند. ویژگی طول دمگل تا زیر برگ جزو ویژگی‌های مهم ایجاد تفرق میان جمعیت‌ها بود که بیشترین میانگین آن متعلق به جمعیت رامسر با مقدار ۰/۷۳۹ میلی‌متر و کمترین آن متعلق به جمعیت سیسنگان با مقدار ۰/۲۵۸ میلی‌متر بود.

مقایسه میانگین

در نتایج حاصل از مقایسه میانگین برخی صفات، ویژگی تعداد دندان‌های برگ در ژنوتیپ نهاوند بیشترین و در ژنوتیپ خلخال و چالوس کمترین مقدار را داشت. بازترین زاویه نوک برگ در ژنوتیپ نهاوند و تندترین زاویه متعلق به ژنوتیپ خیرودکنار بود. ویژگی طول کاسبرگ قدامی در ژنوتیپ کرمانشاه بیشترین و در ژنوتیپ نهاوند کمترین مقدار بود (جدول ۴).

جدول ۳. دامنه تغییرات و ضریب تنوع ویژگی‌های کمی مورد بررسی در جمعیت‌های بنفشه

Table 3. The range of variation and coefficient of variation of the quantitative characteristics examined in violet populations

Character	Unit of measurement	Minimum	Maximum	Mean	Coefficient of variation
StAl	mm	0	298.200	140.25	47.68
LL	mm	30.2200	74.7100	49.72	17.00
LW	mm	27.6133	63.3166	40.64	17.00
LL1	mm	11.10667	41.0433	21.29	29.28
LSL	mm	5.1533	29.1900	14.55	47.89
LSW	mm	2.333	22.133	11.14	43.85
LCN	mm	24.666	77.666	40.66	9.64
LAA	mm	62.000	112.333	80.69	7.07
LSA	mm	67.333	114.666	83.57	10.52
AE	mm	26.666	74.333	46.49	10.91
SL	mm	9.5166	29.6166	19.24	18.18
SW	mm	1.8833	18.7066	11.53	16.90
SFN	mm	6.666	57.000	24.25	13.40
SFL	mm	0.4100	17.1100	8.21	37.73
SGN	mm	5.666	58.000	18.41	26.21
SYGN	mm	3.000	28.333	10.91	34.56
SYBN	mm	2.000	18.000	7.10	20.93
PL	mm	49.96	129.7200	8.88	23.60
PL1	mm	16/610	62.6850	39.58	19.78
KAL	mm	7.455	31.5011	15.83	36.42
KAW	mm	2.733	18.850	12.33	13.84
CPL	mm	3.785	28.2650	18.96	26.09
CPW	mm	1.62	24.9850	14.02	41.44
CPL1	mm	1.395	21.0200	12.96	31.47
CLL	mm	5.075	27.7500	18.15	29.90
CLW	mm	1.589	24.3900	13.18	54.33
CAL	mm	8.1400	33.125	22.19	30.31
CSL	mm	1.000	23.4560	10.83	54.56
LL/LW	-	0.968	1.5272	1.22	6.38
LW/LSW	-	2.006	14.2228	4.88	27.20
LL1/LL	-	0.3122	0.5383	0.42	12.91
LSL/LL	-	0.1564	0.4011	0.28	27.38
PL1/PL	-	0.2256	0.8269	0.50	12.59
CPL1/CPL	-	0.3016	0.8959	0.64	18.16

جدول ۴. مقایسه میانگین برخی صفات مورد بررسی در هشت جمعیت بنفشه بومی مورد مطالعه.

Table 4. Means comparison of some characteristics examined in eight native violet populations studied.

	CPL	CPW	LAA	KAL	SL	SW	SFN	SFL	SYGN
Ramsar	23.54 ^a	16.82 ^a	79.333 ^{bc}	11.650 ^b	9.770 ^c	2.020 ^d	10.000 ^d	2.130 ^{bc}	3.167 ^c
Sisangan	20.76 ^a	14.76 ^{ab}	68.333 ^c	12.206 ^b	16.332 ^{bc}	10.929 ^{bc}	24.833 ^{bc}	6.884 ^{abc}	9.000 ^c
Khalkhal	5.83 ^c	5.21 ^c	89.333 ^{ab}	3.415 ^c	13.860 ^{bc}	6.673 ^{cd}	46.000 ^a	0.543 ^c	22.667 ^{ab}
Varian	18.45 ^{ab}	14.92 ^{ab}	91.333 ^{ab}	13.860 ^{ab}	27.690 ^a	15.047 ^{ab}	30.000 ^b	12.247 ^a	13.333 ^{bc}
Chaloos	25.71 ^a	15.75 ^{ab}	91.963 ^{ab}	12.474 ^b	20.755 ^{abc}	12.882 ^{ab}	16.778 ^{cd}	11.162 ^{ab}	8.778 ^c
Kheiroodkenar	23.82 ^a	17.53 ^a	65.667 ^c	16.408 ^{ab}	22.400 ^{ab}	17.210 ^a	25.500 ^b	12.411 ^a	7.917 ^c
Nahavand	16.73 ^{ab}	9.64 ^b	105.000 ^a	2.955 ^c	14.513 ^{bc}	5.800 ^{cd}	42.333 ^a	0.643 ^c	28.333 ^a
Kermanshah	20.69 ^a	17.37 ^a	70.000 ^c	18.555 ^a	29.617 ^a	18.547 ^a	18.667 ^{cd}	16.797 ^a	8.333 ^c

در هر ستون، میانگین های دارای حروف یکسان، بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۱ درصد معنی دار نیستند.

In each column, means followed by the same letter are not significant at $P \leq 0.01$, according to Duncan Multiple Test.

تجزیه به عامل ها

نتایج تجزیه به عامل ها در جدول ۵ آورده شده است. میزان واریانس نسبی هر عامل نشان دهنده اهمیت آن عامل در واریانس کل صفات مورد بررسی است و به صورت درصد بیان شده است. در این تجزیه شش عامل اصلی و مستقل که مقادیر ویژه آن ها بیشتر از ۰/۶ بودند توانستند مجموعاً ۸۹/۶۲ درصد واریانس کل را توجیه نمایند. جمعیت ها از نظر ویژگی هایی مثل رنگ مهمیز، رنگ جام گل در مقایسه با رنگ مهمیز، نسبت طول به عرض پهنک برگ، نسبت عمق سینوس برگ به طول برگ، نسبت طول دمگل تا زیر برگک به طول دمگل، زاویه سینوس برگ در عامل اول قرار گرفتند که ۳۲/۰۳ درصد از سهم واریانس را شامل شود. مارکوسن عامل تفکیک ۳ زیرگونه *Viola alba* را ویژگی حداکثر طول کرک سطح برگ نام برد (Marcussen, 2003). جمعیت ها از نظر برخی ویژگی های طول گل، طول گلبرگ جانبی و خلفی، پهنای گلبرگ خلفی و جانبی، تعداد شرابه های گوشوارک در عامل دوم قرار گرفتند که توانستند ۲۶/۴۲۹ درصد از سهم واریانس را توجیه نمایند. با توجه به جدول تجزیه عامل ها (جدول ۵) برخی ویژگی های مربوط به گل و برگ و گوشوارک که در دو گروه عاملی اول و دوم قرار گرفتند، بیشترین نقش را در تفکیک جمعیت ها از یکدیگر داشتند که این دو عامل مجموعاً حدود ۵۸/۴۵۹ درصد از سهم واریانس را به خود اختصاص دادند. ویژگی هایی مانند طول و عرض پهنک برگ، طول و عرض گوشوارک، عمق سینوس برگ در عامل سوم قرار گرفتند که توانستند ۱۶/۴۸۴ درصد از کل واریانس را توجیه نمایند. عامل چهارم شامل ویژگی هایی مانند زاویه ایستایی برگ بود که ۶/۴۴۷

درصد از واریانس را به خود اختصاص داد. گروه های عاملی پنج و ششم به ترتیب توانستند ۴/۱۲۶ و ۴/۱۱۱ درصد از سهم واریانس کل را توجیه کنند. هدف از این روش، توجیه تغییرات موجود در تعدادی از متغیرهای اولیه با استفاده از تعداد کمتری از متغیرها (شاخص) می باشد (Guertin & Bailey, 1982).

ضرایب همبستگی ساده صفات

برخی مواقع که اندازه گیری یک صفت پیچیده، پرهزینه و زمان بر است می توان از صفات دیگر که دارای همبستگی معنی دار و بالایی هستند برای اندازه گیری غیر مستقیم آن استفاده کرد. ضرایب همبستگی ساده صفات نشان داد که طول پهنک از ابتدا تا پهن ترین بخش آن و عمق سینوس پهنک برگ ($r=0/911$)، تعداد شرابه های گوشوارک و تعداد شرابه های غده دار گوشوارک ($r=0/914$)، صفت زاویه نوک برگ با رنگ مهمیز ($r=0/746$)، طول گلبرگ خلفی با طول گلبرگ قدامی ($r=0/917$)، طول کاسبرگ قدامی با پهنای گلبرگ جانبی ($r=0/846$)، زاویه سینوس پهنک برگ با نسبت طول به پهنای پهنک برگ ($r=0/854$)، طول گوشوارک با طول پهنک برگ ($r=0/615$)، طول گل (طول گلبرگ قدامی به همراه مهمیز) با تعداد بریدگی های حاشیه برگ ($r=0/686$)، عرض سینوس برگ با طول کاسبرگ قدامی ($r=0/726$)، تعداد بریدگی های حاشیه برگ با تعداد شرابه های گوشوارک ($r=0/751$) در سطح ۱ درصد همبستگی معنی دار وجود دارد (جدول ۶).

با افزایش تعداد شرابه های گوشوارک تعداد شرابه غده دار آن افزایش می یابد در صورتی که هرچه رنگ مهمیز از بنفش به سمت سفید متمایل می شود زاویه

بنفشه‌ها بیشتر شود نسبت طول برگ به پهنای آن کاهش می‌یابد در نتیجه برگ‌هایی با زاویه سینوس بیشتر دارای برگ‌های پهن‌تری می‌باشند و سینوس برگ هرچه عریض‌تر شود طول کاسبرگ جلویی گل افزایش می‌یابد. بیشتر ویژگی‌های مربوط به اندام‌های زایشی از جمله طول گلبرگ خلفی و قدامی و طول کاسبرگ با یکدیگر همبستگی مثبت بالایی داشتند. مردا و هودالوا در تفکیک جمعیت‌های بنفشه بومی کشورهای جزیره بالکان، بالاترین همبستگی را در ویژگی‌های رنگ جام گل و رنگ جام در مقایسه با رنگ مهمیز بیان کردند (Mereda & Hodalova, 2011).

نوک برگ تنگ‌تر می‌شود. در بنفشه‌هایی که عمق سینوس برگ بیشتر بود گوشوارک طویل‌تری نسبت به بنفشه‌هایی با سینوس کم عمق داشتند. بنفشه‌هایی با تعداد بیشتر بریدگی حاشیه پهنک برگ دارای گوشوارک‌هایی با شرابه‌ی فراوان و اما گل‌های کوچک‌تر هستند. گل‌هایی با رنگ بنفش تیره دارای برگ‌های طویل‌تر و پهن‌تری هستند گل‌های بنفشه‌های جمع‌آوری شده از رامسر و جاده چالوس دارای برگ‌های ریز و باریک و گل‌های سفید رنگ بودند. گوشوارک‌های طویل‌تر متعلق به بنفشه‌هایی با برگ‌های طویل‌تر بودند. هرچه زاویه سینوس برگ در

جدول ۵. نتایج عاملی صفات مورد بررسی در هشت جمعیت بنفشه بومی مورد مطالعه

Table 5. Factor results of the traits examined in eight native violet populations studied

Coefficient Factors	1	2	3	4	5	6
Cumulative variance percentage	32/03	58.45	79.94	81.39	85.51	89.62
Characters	1	2	3	4	5	6
StAl	-0.408	-0.023	-0.103	0.033	-0.288	0.803
StP	0.427	0.320	-0.051	0.064	-0.662	0.217
LHL	0.848	0.063	-0.045	-0.140	-0.315	0.015
LL	-0.531	-0.056	0.756	-0.034	-0.153	0.037
LW	-0.510	-0.119	0.709	-0.294	-0.018	-0.003
LL1	-0.301	0.147	0.893	-0.024	0.038	0.156
LSL	-0.162	0.216	0.931	0.028	-0.094	0.037
LSW	-0.092	0.488	0.789	-0.062	0.062	-0.026
LCN	-0.227	-0.722	0.059	-0.535	0.189	0.127
LAA	-0.647	-0.354	0.087	-0.390	0.385	-0.102
LSA	-0.877	-0.207	0.056	-0.040	-0.106	0.011
AE	-0.371	-0.146	-0.127	-0.775	0.092	0.053
SL	-0.157	0.296	0.853	0.066	0.073	-0.073
SW	0.117	0.196	0.785	0.452	0.046	-0.107
SFN	0.041	-0.840	0.268	-0.134	0.212	0.0353
SFL	0.247	0.407	0.615	0.448	-0.001	-0.175
SGN	0.166	-0.722	0.166	-0.082	0.223	0.545
SYGN	0.397	-0.626	0.211	-0.408	0.282	0.238
SYBN	0.560	-0.421	0.032	0.365	0.053	0.405
PL	-0.619	0.145	0.066	0.509	0.197	0.126
PL1	-0.343	0.476	-0.348	-0.098	0.569	-0.003
KAL	0.117	0.757	0.460	-0.004	-0.089	0.247
KAW	0.322	0.709	0.328	0.377	-0.283	-0.067
CPL	-0.005	0.926	0.179	0.146	0.005	-0.051
CPW	0.223	0.784	0.290	0.050	-0.075	0.048
CPL1	0.262	0.893	0.210	0.016	-0.027	0.066
CLL	0.145	0.923	0.195	-0.023	0.066	0.002
CLW	0.326	0.821	0.343	0.059	0.039	0.050
CAL	0.056	0.912	0.224	0.130	0.171	-0.073
CSL	0.463	0.733	0.214	-0.171	0.201	0.088
CSP	0.969	0.093	-0.031	0.128	-0.078	-0.031
CPSP	0.962	0.151	-0.085	0.109	-0.053	-0.077
LL/LW	0.968	0.148	-0.097	0.108	-0.052	-0.045
LW/LSW	0.908	-0.153	-0.280	0.023	-0.042	0.036
LL1/LL	0.970	0.151	-0.095	0.093	-0.039	-0.042
LSL/LL	0.969	0.152	-0.092	0.095	-0.042	-0.045
PL1/PL	0.968	0.157	-0.113	0.083	-0.033	-0.046
CPL1/CPL	0.967	0.165	-0.094	0.091	-0.045	-0.043

جدول ۶. ضرایب همبستگی برخی از ویژگی های مورد بررسی در هشت جمعیت بنفشه بومی مورد مطالعه.

Table 6. Correlation coefficient among some studied features in eight native violet populations studied.

Characters	SP	LL	LW	LL1	LSL	LSW	LCN	LSA	SL	SFN	SGN	KAL	CAL	CLW
StP	1													
LL	0.158	1												
LW	0.097	0.930**	1											
LL1	0.174	0.844**	0.790**	1										
LSL	0.027	0.786**	0.718**	0.911*	1									
LSW	-0.91	0.588*	0.573**	0.807**	0.841**	1								
LCN	0.127	0.243	0.429**	0.059	-0.111	-0.255	1							
LSA	0.382*	0.561**	0.547**	0.267	0.197	0.016	0.326	1						
SL	0.076	0.615**	0.551**	0.826**	0.847**	0.798**	-0.15	0.047	1					
SFN	0.185	0.219	0.302	0.156	0.05	-0.212	0.751**	0.165	-0.048	1				
SGN	0.313	0.002	0.067	0.055	-0.026	-0.231	0.62**	-0.002	-0.09	0.914**	1			
KAL	-0.096	0.27	0.177	0.541**	0.588**	0.736**	-0.542**	-0.211	0.559**	0.448*	-0.357	1		
CLW	-0.225	0.038	-0.033	0.29	0.438*	0.662**	-0.657**	0.451*	0.489**	-0.561**	-0.426**	0.846**	1	
CAL	-0.19	0.068	0.001	0.294	0.407*	0.597**	-0.686**	-0.238	0.474*	-0.703**	-0.629**	0.752**	0.863**	1

ns, * ** Non-significant, significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

StP: Violet pigmentation of stolons. LL: Lamina length. LW: Lamina width. LL1: Lamina length from the base to maximum width. LSL: Lamina sinus depth. LSW: Lamina sinus width. LCN: Number of crenulae along both lamina margins. LSA: Lamina sinus angle. SL: Stipule length. SFN: Number of fimbriae. SGN: Number of glandular fimbriae along both stipule margins. KAL: Anterior sepal length. CLW: Lateral petal width. CAL: Anterior petal length (including spur) (length of flower).

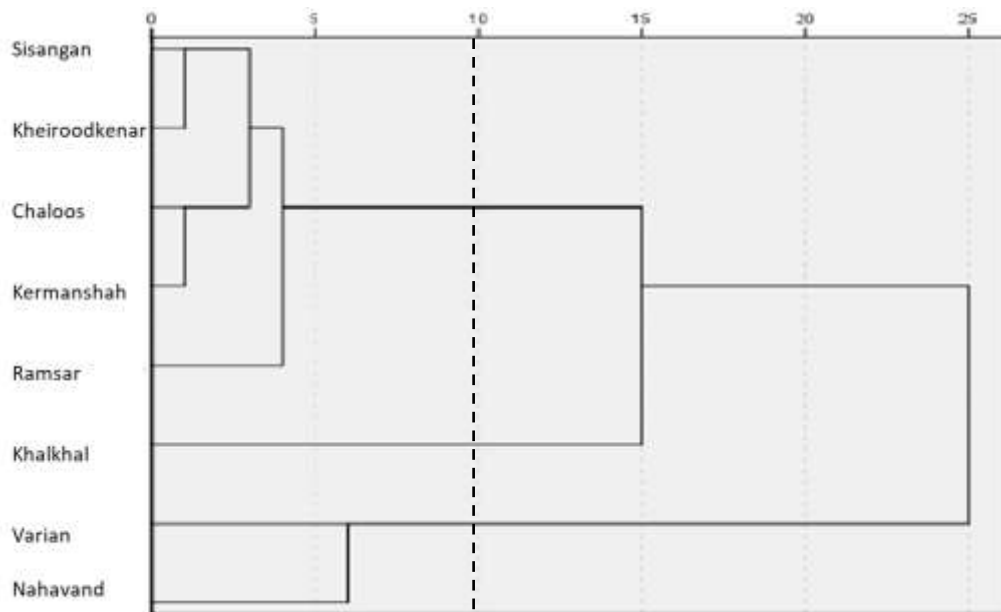
تجزیه کلاستر

کوتاه ترین شرابه ها را به خود اختصاص داده است و گل های کوچک بنفش پررنگ می باشد. این جمعیت دارای کوتاه ترین دمگل و کمترین عرض سینوس برگ و کوچک ترین گل می باشد. خلخال از نظر موقعیت جغرافیایی و اقلیم با دیگر مناطق نمونه گیری متفاوت است. دارای بالاترین ارتفاع از سطح دریا، زمستان بسیار سرد و تابستان خنک می باشد که بر خصوصیات گیاهان خودرو در این منطقه تأثیرگذار است.

گروه سوم شامل جمعیت های واریان و نهاوند با برگ های نسبتاً بزرگ و پهن و تعداد زیاد بریدگی های حاشیه آن، بیشترین زاویه نوک برگ، گل های کوچک و بنفش رنگ و گوشوارک نسبتاً نازک با تعداد زیاد شرابه می باشد. جمعیت نهاوند با بیشترین زاویه نوک برگ و بیشترین تعداد شرابه ها با غده ی زرد رنگ گوشوارک و جمعیت واریان با بیشترین زاویه ایستایی برگ و کمترین نسبت طول دمگل تا زیر برگک به طول دمگل در این گروه قرار گرفتند. هودالوا و مردا ۵۰ ویژگی کمی و کیفی مورفولوژیک ۵۸ جمعیت جمع آوری شده از کشور اسلواکی را مورد بررسی قرار دادند، بر اساس نتایج به دست آمده جمعیت ها به ۶ خوشه تقسیم شدند که به منظور طبقه بندی زیربخش های *Viola* مورد استفاده قرار گرفت (Hodalova & Mereda, 2008). در مطالعه ای که روی خصوصیات مورفولوژیک و ملکولی بنفشه های کشورهای ایران، آذربایجان، شرق اروپا و ترکیه انجام گرفت، جمعیت ها به چهار خوشه تقسیم شدند که نمونه های جمع آوری شده از بندر گز استان گرگان در گونه *Viola alba spp. sintenisii* قرار گرفت (Marcussen & Borgen, 2005).

در این تحقیق تجزیه کلاستر به روش Ward و بر اساس شش فاکتور اصلی که بیشترین واریانس (۸۹/۶۲ درصد) بین ویژگی ها را نشان داد صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس برای گروه های به وجود آمده از لحاظ کلیه صفات ارزیابی شده، نشان داد از بین نقاط برش به دست آمده در خوشه بندی نقطه برش ۱۰ که کل ژنوتیپ ها را به ۳ دسته تقسیم کرده است نقطه برش مناسب تری است چون مطابق نتایج تجزیه واریانس ۳ گروه از لحاظ بسیاری از صفات به ویژه صفات مورفولوژی مربوط به برگ و گل اختلاف معنی دار از هم نشان دادند. در گروه اول جمعیت های رامسر، سیسنگان، جاده چالوس، خیرودکنار و کرمانشاه قرار دارند که دارای گل هایی نسبتاً بزرگ با رنگ سفید با لکه های بنفش در انتهای گلبرگ تا بنفش کم رنگ، استولون روزمینی طویل، برگ هایی با زاویه ایستایی تند، تعداد تضاریس اندک برگ و تعداد کم شرابه روی دو طرف گوشوارک هستند. در این گروه جمعیت رامسر با طویل ترین استولون روزمینی و کوچک ترین گوشوارک و جمعیت سیسنگان با بلندترین دمگل و جمعیت کرمانشاه با طویل ترین گوشوارک قرار گرفتند. دلیل همجوار شدن جمعیت سیسنگان و خیرودکنار در کلاستر ممکن است به دلیل جمع آوری هر دو از استان مازندران و حومه شهرستان نوشهر باشد که خصوصیات مربوط به برگ و گل آن ها بسیار به یکدیگر نزدیک می باشد.

گروه دوم شامل جمعیت خلخال می باشد که دارای خصوصیات از جمله استولون کوتاه، زاویه قائم نوک برگ، گوشوارک کوتاه که بیشترین تعداد شرابه و



شکل ۲. خوشه‌بندی جمعیت‌های بنفشه بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی به روش Ward
Figure 2. Clustering of violet populations based on morphological characteristics

نتیجه‌گیری کلی

داده‌های مورفولوژیک توانستند گروه‌بندی مناسبی برای بنفشه‌های بومی ایران ارائه دهند و تفاوت‌های بین جمعیتی را نشان دهند. به‌طور کلی بنفشه‌هایی با گل‌های بزرگ‌تر مانند جمعیت‌های کرمانشاه و چالوس، بنفشه‌هایی با برگ‌های بزرگ که در جمعیت

کرمانشاه و واریان مشاهده شدند با هدف جذابیت بیشتر و عصاره‌گیری و همچنین بنفشه‌هایی با استولون‌های طویل همراه با جوانه‌های زایا مانند جمعیت سیسنگان به منظور تکثیر سریع و آسان، برای کاربرد در برنامه‌های اصلاحی و مصارف دارویی و زینتی توصیه می‌شود.

REFERENCES

1. Auge, H., Neuffer, B., Erlinghagen, F., Grupe, R. & Brandl, R. (2001). Demographic and random amplified polymorphic DNA analyses reveal high levels of genetic diversity in a clonal violet, *Molecular Ecology*, 10, 1811-1819.
2. Ballard, H.J., Sytsma, K.J. & Kowal, R.R. (1999). Shrinking the violets: phylogenetic relationships of infrageneric groups in *Viola* (Violaceae) based on internal transcribed spacer DNA sequences. *Systematic Botany*, 23, 439-458.
3. Becker, W. (1925). *Viola*. In Engler A, Prantl K (eds) *Die natürlichen Pflanzenfamilien 2*. Verlag von Wilhelm Engelmann. *Leipzig*, 363-376.
4. Drozdova, I. & Bubenchikov, R. (2004). Antioxidant activity of *Viola odorata* L. and *Fragaria vesca* L. polyphenolic complexes. *Rastitel'nye Resursy*, 40, 92-96.
5. Eckstein, R., Neill, R., Danihelka, J., Otte, A. & Hler, W. (2006). Genetic structure among and within peripheral and central populations of three endangered floodplain violets. *Molecular Ecology*, 15, 2367-2379.
6. Farsi, M. & Zolali, J. (2003). *Principles of plant biotechnology*. Publication of Mashhad University. (in Farsi)
7. Gams, H. (1925). *Violaceae*. In Hegi G, *Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Band 5*. J. F. Lehmanns Verlag, München, 585-657.
8. Guetrin, W.H. & Bailey, J. P. (1982). Introduction to Modern Factor Analysis. *Edwards Brothers Inc. Michigan*. 405 p.
9. Holalova, I., Mereda, P. J., Martonfi, P., Martonfi, L. & Danihelka, J. (2008). Morphological characters useful for the delimitation of taxa within *Viola* subsect. *Viola* (Violaceae): A morphometric study from the west Carpathians. *Folia Geobot*, 43, 83-117.

10. Karimi, H. A. (2002). *Dictionary of Iran's vegetation plants* (p. 203). Tehran, Iran: Parcham. (in Farsi)
11. Khatamsaz, M. (1991). *Flora of Iran*, Violaceae. Number 5. (in Farsi).
12. Marcussen, T. (2003). Evolution, phylogeography, and taxonomy within the *Viola alba* complex (Violaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 237, 51-74.
13. Marcussen, T. (2006). Allozymic variation in the widespread and cultivated *Viola odorata* (Violaceae) in western Eurasia. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 151, 563-571.
14. Mártonfi, P., Hodálová, I., Šípošová, H. & Danihelka, J. (2008). *Viola L.* In Goliašová K, Šípošová H (eds) *Flóra Slovenska* 6/1. Veda, Bratislava.
15. Mereda, P. J., Hodalova, I., Kucera, J., Zozomova, J. R., Letz, D. & Slovak, M. (2011). Genetic and morphological variation in *Viola suaveis* s.l. (Violaceae) in the western Balkan Peninsula: two endemic subspecies revealed, *Systematics and Biodiversity*, 9(3), 211-231.
16. Mozafarian, V. (1996). *A dictionary of Iranian plant names*. (Farhange Moaser: Iran) (p. 112). Tehran, Iran: Tehran Nashr-e Markaz. (in Farsi)
17. Tutin, T. G., Heywood, V. H., Burges, N. A., Moore, D. M., Valentine, D. H., Walters, S. M. & Webb, D. A. (1968). *Flora Europaea*. Vol. 2, pp. 270-282. Cambridge: University Press.
18. Vojdani, P. (1993). Role of gene bank and plant genetic materials in increasing crop. In: *Proceedings of the first congress agronomy and plant breeding*. Articles collection. (in Farsi).
19. Yockteng, R., Ballard, H. E., Jr. Mansion, G., Dajoz, I. & Nadot, S. (2003). Relationships among pansies (*Viola* section *Melanium*) investigated using ITS and ISSR markers. *Plant Systematics and Evolution*, 241, 153-170.