بررسی تنوع فنوتیپی میوه گیاه زالزالک (Crataegus spp.) در منطقه حفاظت شده سهند با بهره گیری از فناوری رنگ سنجی دیجیتالی

سیدمحمدعلی خواجه الدینی[۱]، محمدرضا دادپور[۲]*، علی عبادی[۳]، مرضیه قنبری جهرمی[۴]، غلامرضا گوهری[۵]

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲*- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران

۳- استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، ایران

۴- استادیار، گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۵- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، ایران

*ایمیل مسئول نویسنده: dadpour@tabrizu.ac.ir

تاریخ دریافت : ۱۴۰۱/۰۴/۱۸ تاریخ پذیرش : ۱۴۰۱/۰۶/۰۲

چکیده

زالزالک از گیاهان وحشی کوهستانی با ارزش دارویی و غذایی بالا از تیره گلسرخیان می باشد از جنس زالزالک بیش از هزار گونه در دنیا و بیست و دو گونه در ایران و نه گونه در آذربایجان شرقی شناسائی شده است که به عنوان پایه برای درختان سیب و گلابی نیز استفاده می شود. در ارزیابی ناهمسانی فنوتیپی گیاه زالزالک با بررسی رنگ میوه در هفت ارتفاع با شصت جمعیت مجزا در منطقه حفاظت شده سهند به وسعت شصت هزار هکتار از دو روش ارزیابی ظاهری با تصویربرداری از نهصد میوه و ارزیابی با بکاربری فناوری رنگ سنجی دیجیتالی با تصویربرداری از سیصد میوه استفاده گردید. در ارزیابی ظاهری مشخص شد که با افزایش ارتفاع از سطح دریا رنگ میوه ها تدریجا از زرد به نارنجی و سپس با افزایش مجدد ارتفاع رنگ میو ها از نارنجی به قرمز تغییر رنگ داده اند در روش دوم با بکاربری فناوری رنگ سنجی دیجیتالی RGB و با استفاده از نرم افزارهای کامپیوتری و تحلیل فرمولهای استخراجی با روش تحلیل آماری تجزیه واریانس یک طرفه میانگین داده ها نتایج حاصله از روش ارزیابی ظاهری مورد تایید مجدد قرار گرفت. با افزایش میزان اشعه ماورا بنفش و کاهش دما در زمان رنگ گیری میوه به ازاء افزایش ارتفاع از سطح دریا در هفت تیمار مذکور میوه درخت زالزالک اقدام به افزایش تولید آنتوسیانین نموده و پررنگ تر میگردد بنابراین رنگ میوه زالزالک منطقه حفاظت شده سهند به وسعت شصت هزار هکتار می تواند به عنوان یکی از مراکز مهم تنوع و ذخیرگاه ژنتیکی و اشتقاق در گونه های زالزالک در ایران تلقی شود.

کلمات کلیدی

"منطقه حفاظت شده سهند"، "میوه زالزالک"، "رنگ سنجی دیجیتالی"

مقدمه :

زالزالک با نام علمی .Crataegus spp از تیره گلسرخیان (Rosacea) بوده که از جنس زالزالک بیش از هزار گونه در دنیا و بیست و دو گونه در ایران و نه گونه در آذربایجان شرقی شناسائی شده است. زالزالک از گیاهان وحشی کوهستانی بوده که ارزش دارویی و غذایی بالایی داشته و برای درمان بیماری های مختلف انسان استفاده می‌شود که از ترکیبات شیمیایی مهم در زالزالک می توان به فلاونوئیدها (آنتوسیانین ها) ، ترپنها ، و اسیدهای آلی اشاره کرد (جباری; ۱۳۹۵ کوه خیل و همکاران، ۱۳۹۴) (Kumar et al; 2012 Alirezalu et al, 2018).

استفاده درخت زالزالک به عنوان پایه برای سیب و گلابی در ایران ناشناخته می باشد و ارزیابی دقیق فنوتیپی و مورفولوژیکی انواع گونه های زالزالک نیز در ایران انجام نشده است ولی در بسیار از نقاط دنیا از گونه زالزالک (Crataegus.azarolus) بعنوان پایه برای گلابی رقم (Willimas) و سیب رقم (Golden Delicious) استفاده می گردد که موجب پاکوتاهی و زود باردهی در ارقام مذکور گلابی و سیب می شود (رسول زادگان; ۱۳۷۰ عبداللهی و همکاران، ۱۳۹۱ هناره و همکاران، ۱۳۹۳ سمیعی راد، ۱۳۹۶)(Qrunfleh;1993) . از مشکلات اصلی کشت متراکم گلابی در ایران نبود پایه های پاکوتاه یا نیمه پاکوتاه کننده سازگار با ارقام و شرایط خاک های آهکی و خشکی بوده که احداث باغ های پاکوتاه در گلابی را با مشکل مواجه کرده است. زالزالک می تواند بعلت سازگاری با خاک های آهکی و تحمل نسبی به خشکی به عنوان پایه مناسب برای گلابی مورد استفاده قرارگیرد . برای پاکوتاهی ، زود باردهی و جلوگیری از بروز کلروز ناشی از کمبود آهن از پایه های مقاوم زالزالک در باغات گلابی و به می توان استفاده نمود. ریشه قوی و مقاوم زالزالک رشد نهال و میوه به و گلابی عالی بوده و در برابر آفات و بیماریهای ریشه درخت از خود مقاومت نشان می دهد (عبداللهی و همکاران; ۱۳۹۱ هناره و همکاران، ۱۳۹۳ سمیعی راد، ۱۳۹۶) . یکی از روشهای شناسایی گونه ها ، نژادهای جدید و یا اصالت ژنتیکی در گیاهان استفاده از نشانگرهای مولکولی است مشکلات استفاده از نشانگرهای مولکولی اعم از هزینه‌بر و زمان‌بر بودن آن نیاز به استفاده از روشهای دیگر را اجتناب‌ناپذیر می کند. اساس فناوری

های دیجیتالی نوین آنالیز در شکل و رنگ در برگ و میوه به زبان ساده استخراج اطلاعات دیجیتالی از شکل و رنگ در برگ و میوه است در این فناوری می‌توان از انواع تکنیک ها جهت ارزیابی گیاه مورد نظر استفاده نمود که توسط متخصصین گیاه‌شناسی در تحقیقات گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. این فناوری قادر به ارزیابی وجود و یا میزان تنوع فنوتیپی بین توده گیاهی در یک منطقه بخصوص می‌باشد اگر میزان تنوع فنوتیپی بالا باشد می توان آن منطقه را از نظر ذخیره گاه ژنتیکی، مرکز تنوع گیاه و یا حتی خاستگاه گیاه مورد بررسی و تاکید بیشتر قرار داد (Abdolalipour et al; 2016 Chitwood et al, 2016 Klein et al, 2017 Zhuo et al, 2018). شکل سنجی در برگ و رنگ سنجی در میوه تنوع موجود در یک توده را نشان می دهد با این فناوری شناسایی و مقایسه میزان همسانی یا ناهمسانی فنوتیپی یک توده گیاهی با صرف کمترین وقت و حداقل هزینه نسبت به روش های دیگر انجام می گیرد . این فناوری برای کارهای تحقیقاتی کاملاً مناسب و مقرون به صرفه خواهد بود (Abdolalipour et al; 2016 Klein et al, 2017 Zhuo et al, 2018)در مدل رنگ سنجی RGB رنگ ها از ترکیب سه رنگ اولیه (اصلی) به نامهای قرمز (Red) ، سبز (Green) و آبی(Blue) تشکیل شده اند، با ترکیب این سه رنگ می توان میلیونها رنگ جدید ایجاد نمود مثلا با ترکیب دو رنگ قرمز و سبز رنگ زرد و یا با ترکیب سه رنگ قرمز ، سبز و آبی با حداکثر شدت نور رنگ سفید را می توان پدید آورد. این سیستم به خوبی با حقیقت رنگ تطابق دارد از لحاظ عددی این سه رنگ اولیه قرمز، سبز و آبی دارای دامنه عددی بین صفر تا ۲۵۵ می باشند عدد هر سه رنگ اولیه (اصلی) صفر باشد RGB(0,0,0)رنگ حاصله سیاه و اگر عدد هر سه رنگ اولیه ۲۵۵ باشد RGB(255,255,255) رنگ حاصله سفید خواهد بود. عدد اول داخل پاراتنز معادل عددی رنگ قرمز ، عدد دوم داخل پارانتز معادل عددی رنگ سبز و عدد سوم داخل پاراتنز معادل عددی رنگ آبی در مدل رنگ سنجی دیجیتالی RGB می باشد و مدل دیگر رنگ سنجی CMY است که مخفف سه رنگ فیروزه‌ای Cyanسرخابی Magenta و زرد Yellowمی باشد. به استناد مدلهای رنگ سنجی دیجیتالی RGB و CMY نه فرمول در بخش روش انجام تحقیق بکار برده شدند (Kay, G. R; 1992 Wang, Y.et al.2014). رنگ دانه طبیعی آنتوسیانین نوعی آنتی اکسیدان در انواع سبزیجات و میوه ها می باشد که انباشت این رنگ دانه آنتوسیانین در گیاهان با شرایط محیطی مرتبط است از این شرایط میتوان به نور آفتاب، دما، خشکی و شوری اشاره کرد مهمترین عامل نور بوده که کیفیت و شدت نور بر تولید آنتوسیانین موثر است. آنتوسیانین ها انواع مختلف دارند که می توانند در قسمتهای مختلف گیاه مثل برگ، گل، میوه و ... ذخیره گردند. آنتوسیانین از انواع متابولیت های ثانویه از دسته فلاونوئیدها بوده که رنگ دانه ای محلول در آب است و گیاه برای مقابله با تنش ها و انواع شرایط نامساعد محیطی مثل تابش اشعه ماورا بنفش بالای نور خورشید، شوری بالا، دمای پایین و خشکی بالا این ماده را تولید میکند(Ma, Y. et al. 2021). افزایش ارتفاع از سطح دریا با افزایش شدت نور آفتاب و میزان اشعه ماورابنفش نور خورشید و کاهش دما در شب ها در زمان رنگ گیری و رسیدن میوه محتوی کلی آنتوسیانین در پوست میوه افزایش یافته و پوست میوه پررنگ تر می گردد. افزایش میزان آنتوسیانین در میوه نیز باعث افزایش مقاومت میوه در مقابل انواع آفات و امراض میگردد (Fernandes de Oliveira, A; et al;2015). افزایش ارتفاع از سطح دریا و افزایش شدت اشعه ماورا بنفش و دمای پایین تدریجا رنگ آنتوسیانین پوست میوه را از رنگ زرد به نارنجی و سپس قرمز کم رنگ و بعد به قرمز پر رنگ تغییر میدهد. (He, F. et al; 2010 Ma, Y. et al. 2021) . این پژوهش مبتنی بر ارزیابی تنوع فنوتیپی گیاه زالزالک در منطقه حفاظت شده سهند با استفاده از روش ارزیابی ظاهری رنگ میوه و نیز ارزیابی تکمیلی رنگ میوه با دو مدل رنگ سنجی دیجیتالی در زالزالک و مقایسه نتایج این دو روش می باشد. ارزیابی تنوع فنوتیپی با رنگ سنجی دیجیتالی در مقایسه با روش مارکرهای مولکولی با توجه به کم هزینه بودن و صرفه جویی در وقت می تواند جایگزین مناسبی باشد. از روش می توان برای بررسی ارزیابی مرکز تنوع ، خاستگاه و ذخیره گاه ژنتیکی یک گیاه در یک منطقه استفاده کرد.

۱) روش انجام تحقیق :

- **محدوده مورد مطالعه :**

منطقه حفاظت شده سهند بعنوان یکی از رویشگاه ها و ذخیره گاه های مهم ژنتیکی زالزالک در استان آذربایجان شرقی مابین شهر تبریز تا شهر مراغه قرار گرفته که در ارتفاع ۱۵۰۰ الی۳۴۰۰ متر از سطح دریا مستقر شده است. این منطقه در مختصات طول جغرافیائی ۴۶ درجه شرقی و عرض جغرافیائی ۳۷ درجه شمالی به وسعت شصت هزار هکتار قرار دارد در این رویشگاه ۱۵۶ گونه گیاهی شناسائی شده است که ۲۶ گونه آن در حال انقراض می باشد

- **انتخاب نقاط نمونه برداری :**

نمونه برداری از میوه درختان زالزالک از تاریخ ۲۱ /۰۷ /۱۳۹۹ لغایت ۲۱/ ۰۸ /۱۳۹۹ از ارتفاع ۱۵۰۰ متری الی ۲۲۰۰ متری از سطح دریا واقع در مختصات ۳۷ درجه شمالی و ۴۶ درجه شرقی در محدوده ما بین شهر تبریز تا شهر مراغه در منطقه حفاظت شده سهند در استان آذربایجان شرقی به وسعت شصت هزار هکتار مطابق شکل۱ انجام گردید. ترتیب مناطق نمونه برداری از سه محدوده زالزالک خیز واقع در منطقه حفاظت شده سهند مطابق شکل شماره ۱ عبارتند از :

۱- نمونه برداری از اولین منطقه زالزالک خیز واقع در حوالی روستای تجرق از توابع شهرستان عجب شیر با مختصات ۳۷ درجه و ۳۰ دقیقه شمالی و ۴۶ درجه و ۰۵ دقیقه شرقی و در ارتفاع ۱۵۰۰

متر الی ۲۲۰۰ متر بالاتر از سطح دریا با نمونه برداری از بیست جمعیت مجزا آغاز گردید.

۲- نمونه برداری از دومین منطقه زالزالک خیز واقع در حوالی روستای تازه کند از توابع شهرستان مراغه با مختصات ۳۷ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی و ۴۶ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی و در ارتفاع ۱۷۰۰ متر الی ۱۸۰۰ متر بالاتر از سطح دریا با نمونه برداری از شانزده جمعیت مجزا ادامه داده شد.

۳- نمونه برداری از سومین منطقه زالزالک خیز واقع در حوالی روستای چوان از توابع شهرستان مراغه با مختصات ۳۷ درجه و ۲۷ الی ۳۰ دقیقه شمالی و ۴۶ درجه و ۱۲ دقیقه شرقی و در ارتفاع ۱۸۰۰ متر الی ۲۲۰۰ متر بالاتر از سطح دریا با نمونه برداری از بیست و چهار جمعیت مجزا پایان پذیرفت.

شکل۱: نقشه جغرافیایی محدوده زالزالک خیز نمونه برداری شده در منطقه حفاظت شده سهند به استناد تطبیق نقشه فوق با نقشه سایتهای : Google Earth و google map و نقشه تقسیمات کشوری بطوری که موقعیت دقیق مناطق نمونه برداری شده طبق شماره روی نقشه عبارتند از:

۱- روستای تجرق از توابع شهر عجب شیر

۲- روستای چوان از توابع شهر مراغه

۳- روستای تازه کند از توابع شهر مراغه

- **نمونه برداری و نحوه آماده سازی نمونه ها :**

پراکندگی بسیار زیاد تک تک درختان زالزالک از هم در منطقه حفاظت شده سهند و نبود تراکم مورد انتظار در درختان زالزالک موجب گردید میوه های هر درخت یک جمعیت مستقل در نظر گرفته شدند. از هر جمعیت پانزده نمونه میوه ای کاملا رنگ گرفته سالم و بدون زدگی و بدون له شدگی و جمعا نهصد نمونه میوه ای از شصت جمعیت مجزا بوسیله تجهیزاتی شامل GPS ، قیچی باغبانی با تجهیزات جهت بسته بندی نمونه های میوه ای جمع آوری و انتخاب گردید. میوه های برداشت شده از هر درخت جهت سالم ماندن و عدم تغییر رنگ طبیعی تا زمان تصویربرداری و آزمایشات رنگ سنجی در داخل روزنامه های نیمه مرطوب مجزا در داخل یخچال در دمای مثبت سه الی مثبت پنج درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

- **تصویر برداری از نمونه های میوه ای :**

در تصویر برداری از میوه های زالزالک باید رنگ طبیعی میوه ها کاملا حفظ شده باشد و بعد از آزمایشات متعدد در مورد ارزیابی نحوه سیستم نوردهی جهت تصویربرداری از میوه ها بهترین نتیجه با یک سیستم اختصاصی و با نوردهی از پایین و تصویربرداری از بالا با فرمت JPG با دوربین عکاسی Canon مدل Power Shot SX600 HS و با درج شاخص اندازه گیری کنار میوه ها انجام گردید. جهت مقایسه ظاهری اندازه و شکل و رنگ میوه ، تصویر برداری از سه بخش جانبی ، گلگاه و محل اتصال دم میوه (طبق شکل۲) در کلیه نه صد میوه از شصت جمعیت مختلف صورت پذیرفت. در تصویربرداری میوه ها جهت سیستم نورپردازی از یک لامپ LED و حلقه ای شکل حرفه ای (Ring Light) که دارای تنظیم کننده شدت نور بوده استفاده شد. میوه زالزالک در داخل یک پتری دیش سفید مات در وسط این لامپ حلقه ای شکل با نور سفید رنگ مستقر گردید و یک فضای گنبدی شکل فلزی بالای لامپ حلقه ای ایجاد گردید این فضای گنبدی شکل توانست کل لامپ ، پتری دیش و میوه را احاطه کند در بالای این فضای گنبدی شکل یک سوراخ جهت ورود و تثبیت لنز دوربین عکاسی در فاصله۱۲ سانتیمتری میوه تعبیه شد. این فضای گنبدی شکل از هدر رفت نور جلوگیری نموده و باعث ایجاد رنگ طبیعی درمیوه ها طبق شکل شماره ۲ جهت تصویر برداری گردید.

- **رنگ سنجی با فناوری دیجیتالی مدل RGB :**

نرم افزار رایانه ای آنالیز دیجیتالی رنگی بنامImage pro plus رنگ نمونه های میوه انتخاب شده را به وسیله مدل RGB به داده های عددی تبدیل نموده و داده های عددی استخراج شده که حاوی میانگین عددی رنگهای قرمز با نماد(R) ، سبز با نماد(G) و آبی با نماد (B) بودند به نرم افزار EXCEL منتقل شده و سپس این داده های مربوط به هر میوه توسط فرمول های زیر تحت نرم افزار EXCEL نرمال سازی شدند، که در فرمول های اعداد نرمال شده میانگین عددی رنگ قرمز با نماد(r) ، اعداد نرمال شده میانگین عددی رنگ سبز با نماد (g) و اعداد نرمال شده میانگین عددی رنگ آبی با نماد (b) نشان داده شدند.

$r = R/(R+G+B)$

$g = G/(R+G+B)$

$b = B/(R+G+B)$

توسط شش فرمول شش شاخص عددی هر میوه مربوط به رنگ های قرمز ، سبز و آبی تحت نرم افزار EXCEL محاسبه گردیدند.

$I_1 = I_{GREEN} = g-r/g+r$ شاخص اول رنگ سبز

$I_2 = I_{RED} = r-g/r+g$ شاخص اول رنگ قرمز

$I_3 = I_{BLUE} = b-r/b+r$ شاخص اول رنگ آبی

$I_4 = I_{RED} = r-b/r+b$ شاخص دوم رنگ قرمز

$I_5 = I_{GREEN} = g-b/g+b$ شاخص دوم رنگ سبز

شاخص دوم رنگ آبی $I_6 = I_{BLUE} = b-g/b+g$

- **رنگ سنجی فناوری دیجیتالی مدل CMY :**

مدل CMY با سه فرمول زیر بطور مجزا سه شاخص عددی هر میوه را که مربوط به شاخص رنگ زرد ، شاخص رنگ فیروزه ای و شاخص رنگ سرخابی بودند تحت نرم افزار EXCEL محاسبه و استخراج کرد.

$I_{yellow} = r+g/r+g+b$ شاخص رنگ زرد

$I_{Cyan} = r+g/r+g+b$ شاخص رنگ فیروزه ای

$I_{Magenta} = r+g/r+g+b$ شاخص رنگ سرخابی

برای افزایش دقت در رنگ سنجی در مدل های RGB و CMY همواره از بخش جانبی هر میوه زالزالک سه نمونه تصویری بصورت تصویر رنگی و با فرمت JPG از نقاط مختلف و مجزای هر میوه با وسعت سطح برابر توسط نرم افزار رایانه ای آنالیز دیجیتالی رنگی Image pro plus (طبق شکل ۳) گرفته شدند داده های خام ارسالی از نرم افزار Image pro plus برای محاسبات بیشتر به نرم افزار Excel (طبق شکل ۴) منتقل شده و توسط نرم افزارهای آماری SPSS مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

- **ارزیابی خصوصیات فنوتیپی میوه :**

جهت مقایسه ظاهری اندازه و شکل و رنگ میوه تصویر برداری از سه بخش جانبی ، گلگاه و محل اتصال دم میوه در نه صد میوه از شصت جمعیت مختلف صورت پذیرفت. در این مقایسه ظاهری میوه ها از لحاظ رنگ به هشت دسته به ترتیب از بالا به پایین طبق شکل ۲ که شامل رنگ های زیر بودند انجام شد:

۱- زرد پررنگ

۲- زرد پررنگ با رگه های نارنجی کم رنگ

۳- زرد پررنگ با رگه های نارنجی کمی پررنگ

۴- نارنجی پررنگ

۵- قرمز کم رنگ

۶- قرمز کم رنگ (استثنا به شکل کشیده)

۷- قرمز پررنگ

۸- قرمز بسیار پررنگ

شکل ظاهری میوه ها نیز به دو دسته گرد و کشیده طبق شکل ۲ تقسیم بندی شدند. برای افزایش دقت در نتایج بعدی با استفاده از فناوری رنگ سنجی مجموع سیزده هزار و پانصد داده استخراجی از سی صد میوه (منتخب از نه صد میوه نمونه برداری شده جهت مقایسه ظاهری) در نرم افزار plus Image pro ، توسط نرم افزار آماری SPSS با طرح آزمایشی کاملا تصادفی نامتعادل اقدام به تحلیل واریانس یک طرفه (One-way Anova) گردید. کوهستانی بودن و وسعت زیاد منطقه و نیز فاصله بسیار زیاد درختان زالزالک از هم در محدوده زالزالک خیز منطقه حفاظت شده سهند موجب تفاوت در تعداد تکرارها در هر تیمار گردید. منطقه نمونه برداری شده به هفت ارتفاع مختلف (یا هفت تیمار) تقسیم بندی شدند که این هفت تیمار جمعا شامل شصت تکرار زیر میباشند:

۱- تیمار اول (ارتفاع اول) : از ارتفاع۱۵۰۰ الی ۱۶۰۰ متر از سطح دریا با هفت تکرار (هفت درخت).

۲- تیمار دوم (ارتفاع دوم) : از ارتفاع ۱۶۰۰ الی ۱۷۰۰ متر از سطح دریا با چهار تکرار (چهار درخت).

۳- تیمار سوم (ارتفاع سوم) : از ارتفاع ۱۷۰۰ الی ۱۸۰۰ متر از سطح دریا با پانزده تکرار (پانزده درخت).

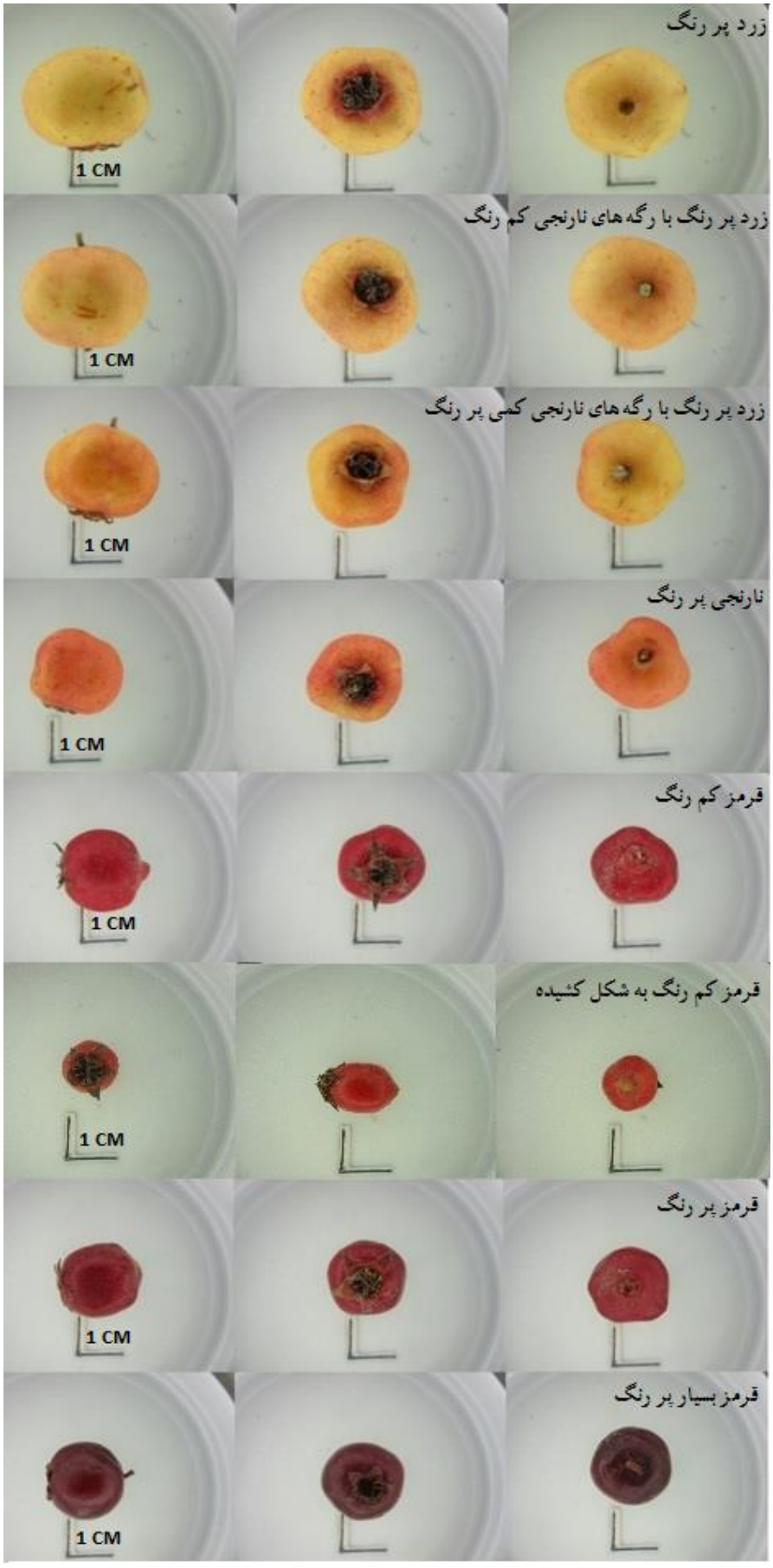
۴- تیمار چهارم (ارتفاع چهارم) : از ارتفاع ۱۸۰۰ الی ۱۹۰۰ متر از سطح دریا با ده تکرار (ده درخت).

۵- تیمار پنجم (ارتفاع پنجم) : از ارتفاع ۱۹۰۰ الی ۲۰۰۰ متر از سطح دریا با یازده تکرار (یازده درخت).

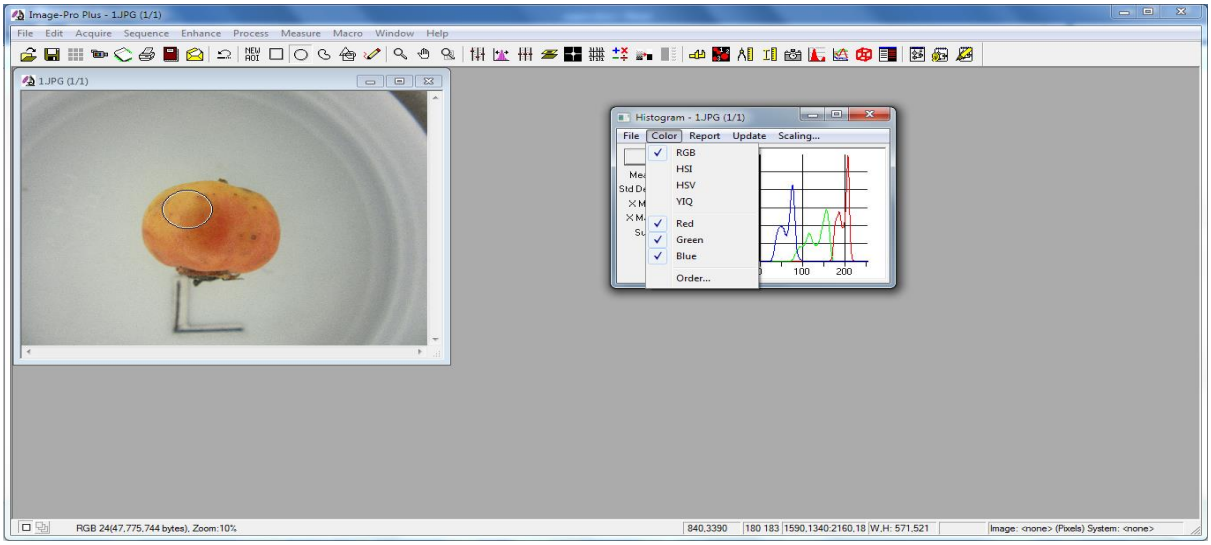
۶- تیمار ششم (ارتفاع ششم) : از ارتفاع ۲۰۰۰ الی ۲۱۰۰ متر از سطح دریا با نه تکرار (نه درخت).

۷- تیمار هفتم (ارتفاع هفتم) : از ارتفاع ۲۱۰۰ الی ۲۲۰۰ متر از سطح دریا با چهار تکرار (چهار درخت).

تجزیه آماری برای مقایسه میانگین های هفت تیمار(هفت ارتفاع) توسط نرم افزار SPSS با تحلیل واریانس یک طرفه و سپس مقایسه میانگین ها توسط روش آزمون چند دامنه ای دانکن با درجه خطا ۰/۰۵ بصورت زیر انجام پذیرفت.در ارتفاع چهارم جمعیت پنجم به علت لهیدگی دو عدد از میوه ها در این جمعیت فقط سه میوه و نیز در ارتفاع پنجم جمعیت هفتم به علت لهیدگی یک عدد از میوه ها در این جمعیت فقط چهار میوه نمونه برداری شدند و در بقیه پنجاه و هشت جمعیت دیگر پنج میوه و از هر میوه سه بخش جانبی مجزا نمونه برداری شدند.



شکل ۲ :.تصویربرداری از میوه های زالزالک در سه جهت شامل: جهت دم میوه ، جهت گلگاه میوه و جهت جانبی میوه



شکل۳: تصویری از فناوری رنگ سنجی دیجیتالی اولین بخش نمونه برداری یک میوه زالزالک با مدل RGB توسط نرم افزار Image pro plus . برای افزایش دقت از هر میوه سه نمونه با ویژگی تصویر رنگی از نقاط مختلف جانبی میوه گرفته شده است.

					RGB																	
	No:region	No: tree	No: fruit	No: sampel	Red -mean	Green -mea	Blue -mean	r	g	b	Iy	Icy	Imag	I1	I2	I3	I4	I5	I6		
3	1	1	1	1	193.5765	158.3442	51.44755	0.4799	0.392555	0.127545	0.872455	0.5201	0.607445	-0.10011	0.100114	-0.58006	0.580061	0.509537	-0.50954		
4	1	1	1	2	205.5493	182.5442	59.99117	0.458729	0.407388	0.133884	0.866116	0.541271	0.592612	-0.05928	0.059277	-0.54816	0.548158	0.5053	-0.5053		
5	1	1	1	3	195.8563	173.4464	48.19652	0.469118	0.415441	0.115441	0.884559	0.530882	0.584559	-0.06068	0.060682	-0.60503	0.605032	0.565098	-0.5651		
6	1	1	2	1	189.919	177.6318	35.80827	0.470844	0.440381	0.088775	0.911225	0.529156	0.559619	-0.03343	0.03343	-0.68273	0.68273	0.664465	-0.66447		
7	1	1	2	2	196.8724	180.1011	37.61122	0.474867	0.434413	0.09072	0.90928	0.525133	0.565587	-0.04449	0.044489	-0.6792	0.6792	0.654487	-0.65449		
8	1	1	2	3	200.2906	184.8847	43.57539	0.467149	0.431217	0.101633	0.898367	0.532851	0.568783	-0.04	0.039997	-0.64263	0.642628	0.61853	-0.61853		
9	1	1	3	1	193.1846	182.6596	46.33046	0.457594	0.432664	0.109742	0.890258	0.542406	0.567336	-0.028	0.028004	-0.61313	0.613131	0.59535	-0.59535		
10	1	1	3	2	195.2355	176.5098	39.97423	0.474195	0.428714	0.097091	0.902909	0.525805	0.571286	-0.05037	0.050372	-0.6601	0.660097	0.630696	-0.6307		
11	1	1	3	3	203.5842	194.7325	57.06265	0.447065	0.427627	0.125308	0.874692	0.552935	0.572373	-0.02222	0.022223	-0.56215	0.562146	0.546753	-0.54675		
12	1	1	4	1	199.94	186.1843	45.70361	0.463009	0.431154	0.105838	0.894162	0.536991	0.568846	-0.03563	0.035625	-0.62789	0.627887	0.605813	-0.60581		
13	1	1	4	2	190.3627	175.5776	31.77787	0.478637	0.441462	0.0799	0.9201	0.521363	0.558538	-0.0404	0.040403	-0.71389	0.713894	0.693494	-0.69349		
14	1	1	4	3	200.8217	182.997	41.71362	0.471931	0.430043	0.098027	0.901973	0.528069	0.569957	-0.04644	0.04644	-0.65602	0.65602	0.628735	-0.62873		
15	1	1	5	1	195.9952	197.5645	52.71833	0.439177	0.442694	0.118129	0.881871	0.560823	0.557306	0.003987	-0.00399	-0.57607	0.576072	0.57873	-0.57873		
16	1	1	5	2	184.48	187.9762	48.02074	0.43874	0.447055	0.114205	0.885795	0.56126	0.552945	0.009387	-0.00939	-0.58692	0.58692	0.593039	-0.59304		
17	1	1	5	3	194.7599	195.0685	49.65329	0.443158	0.44386	0.112981	0.887019	0.556842	0.55614	0.000792	-0.00079	-0.59369	0.593694	0.594206	-0.59421		

شکل٤ : تصویری از داده های ارسالی به نرم افزار EXCLE حاصل از فناوری رنگ سنجی دیجیتالی توسط نرم افزار Image pro plus میباشد. این ۲۲۵ داده عددی در شکل ٤ استخراجی از یک درخت شامل پنج میوه که از هر میوه نیز شامل سه قسمت جانبی یک میوه زالزالک با مدل های RGB و CMY می باشند که توسط نرم افزارهای آماری SPSS و مورد آنالیز آماری قرار گرفتند.

۱- اعداد چهار ستون سفید رنگ به ترتیب از چپ به راست:

الف - شماره ارتفاع نمونه برداری شده می باشد.

ب- شماره درخت نمونه برداری شده می باشد . هر درخت معادل یک تکرار در هر تیمار می باشد.

ج- شماره میوه نمونه برداری شده می باشد. از هر درخت پنج میوه و در کل در این قسمت از پژوهش سیصد میوه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

د- شماره بخش جانبی نمونه برداری شده از یک میوه می باشند.

۲- اعداد سه ستون قرمز رنگ در شکل بالا بیانگر میانگین عددی سه رنگ قرمز (Red Mean) ، سبز (Green Mean) و آبی (Blue Mean) می باشند.

۳- اعداد سه ستون سبز رنگ در شکل بالا بیانگر داده های نرمال شده حاصل از میانگین عددی رنگ های قرمز (r) ، سبز (g) و آبی (b) می باشند.

٤- اعداد مربوط به سه ستون آبی رنگ در شکل بالا نشان دهنده شاخص های عددی مربوط به رنگهای زرد (I_y) ، فیروزه ای (I_{CY}) و سرخآبی (I_{Mag}) میباشند.

٥- شش ستون قهوه ای رنگ در شکل بالا شاخص های عددی مربوط به رنگ های قرمز (I_2 & I_4) ، سبز (I_1 & I_5) و آبی (I_3 & I_6) با شش فرمول می باشند.

۲) نتایج

۱- شاخص اول یا شاخص رنگ سبز یا I_1 : با فرمول: $I_1 = I$ GREEN = g-r/g+r با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد که افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ سبز یا I_1 در میوه زالزالک کاهش می دهد این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره ۱: نتایج مقایسه میانگین ها هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخصI_1

تیمار	تکرار	۰,۰۵ = سطح خطا				
		۱	۲	۳	۴	۵
۷	۶۰	-/۳۱۲۸۱۱				
۶	۱۳۶		-/۲۸۲۸۵۹			
۵	۱۶۲			-/۲۴۸۸۲۳		
۴	۱۴۴				-/۱۵۵۱۲۳	
۳	۲۴۴					-/۱۱۴۹۵۶
۲	۶۰					-/۱۱۴۷۳۵
۱	۱۰۵					-/۰۹۲۰۱۵
سطح معنی داری		۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	/۱۲۶

۲- شاخص دوم یا شاخص رنگ قرمز یا I_2 : که با فرمول: $I_2= I_{RED} = r-g/r+g$ با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ قرمز یا I_2 افزایش می یابد. این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نا رنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره ۲: نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخصI_2

تیمار	تکرار	۰,۰۵ = سطح خطا				
		۱	۲	۳	۴	۵
۱	۱۰۵	/۰۹۲۰۱۵				
۲	۶۰	/۱۱۴۷۳۵				
۳	۲۲۴	/۱۱۴۹۵۶				
۴	۱۴۴		/۱۵۵۱۲۳			
۵	۱۶۲			/۲۴۸۸۲۳		
۶	۱۳۶				/۲۸۲۸۵۹	
۷	۶۰					/۳۱۲۸۱۱
سطح معنی داری		/۱۲۶	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰

۳- شاخص سوم یا شاخص رنگ آبی یا I_3 : که با فرمول: $I_3= I_{BLUE} = b-r/b+r$ با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد در حالت کلی با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ آبی یا I_3 افزایش می یابد. این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره ۳ : نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخصI_3

تیمار	تکرار	۰,۰۵ = سطح خطا		
		۱	۲	۳
۱	۱۰۵	-/۵۳۷۸۹۱		
۳	۲۲۴	-/۵۲۸۵۴۳		
۲	۶۰	-/۵۱۴۷۸۳		
۵	۱۶۲		-/۴۸۲۳۷۲	
۴	۱۴۴		-/۴۸۰۹۵۶	
۷	۶۰			-/۳۰۴۸۳۲
۶	۱۳۶			-/۲۸۶۵۸۲
سطح معنی داری		۰/۱۱۷	۰/۹۱۹	۰/۱۹۰

۴- شاخص چهارم یا شاخص رنگ قرمز یا I_4 : که با فرمول: $I_4= I_{RED} = r-b/r+b$ با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد در حالت کلی با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ آبی یا I_4 افزایش می یابد. این شاخص

گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه
ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره٤ : نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخصI_4

تیمار	تکرار	۰,۰۵ = سطح خطا		
		۱	۲	۳
۶	۱۳۶	/۲۸۶۵۸۲		
۷	۶۰	/۳۰۴۸۳۲		
۴	۱۴۴		/۴۸۰۹۵۶	
۵	۱۶۲		/۴۸۲۳۷۲	
۲	۶۰			/۵۱۴۷۸۳
۳	۲۲۴			/۵۲۸۵۴۳
۱	۱۰۵			/۵۳۷۸۹۱
سطح معنی داری		/۱۹۰	/۹۱۹	/۱۱۷

۵- شاخص پنجم یا شاخص رنگ سبز یا I_5 :که با فرمول: I_5= I GREEN = g-b/g+b با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ سبز یا I_5 در میوه زالزالک کاهش می یابد. این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره٥ : نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخصI_5

تیمار	تکرار	۰/۰۵ = سطح خطا				
		۱	۲	۳	۴	۵
۷	۶۰	-/۰۱۳۵۲۹				
۶	۱۳۶	/۰۰۴۲۴۶				
۵	۱۶۲		/۲۵۴۱۱۰			
۴	۱۴۴			/۳۵۳۵۶۸		
۲	۶۰				/۴۲۴۷۱۶	
۳	۲۲۴				/۴۴۱۳۲۹	/۴۴۱۳۲۹
۱	۱۰۵					/۴۶۸۶۶۶
سطح معنی داری		/۲۷۵	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	/۳۰۸	/۰۹۴

۶- شاخص ششم یا شاخص رنگ آبی یا I_6 : که با فرمول: I_6= I BLUE = b-g/b+g با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ آبی یا I_6 در میوه زالزالک افزایش می یابد. این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره ٦ : نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخصI_6

تیمار	تکرار	۰/۰۵ = سطح خطا				
		۱	۲	۳	۴	۵
۱	۱۰۵	-/۴۶۸۶۶۶				
۳	۲۲۴	-/۴۴۱۳۲۹	-/۴۴۱۳۲۹			
۲	۶۰		-/۴۲۴۷۱۶			
۴	۱۴۴			-/۳۵۳۵۶۸		
۵	۱۶۲				-/۲۵۴۱۱۰	
۶	۱۳۶					-/۰۰۴۲۶۴
۷	۶۰					-/۰۱۳۵۲۹
سطح معنی داری		/۰۹۴	/۳۰۸	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	/۲۷۵

۷- شاخص رنگ زرد : که با فرمول: $I_y = r+g/r+g+b$ با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ زرد یا I_y در میوه زالزالک کاهش می یابد. این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره ۷ : نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخص I_y

تیمار	تکرار	سطح خطا = ۰/۰۵				
		۱	۲	۳	۴	۵
۶	۱۳۶	/۷۳۸۹۴۰				
۷	۶۰	/۷۴۳۲۵۰				
۵	۱۶۲		/۸۲۱۳۹۵			
۴	۱۴۴			/۸۳۱۵۲۱		
۲	۶۰				/۸۴۸۱۷۹	
۳	۲۲۴				/۸۵۲۷۲۱	/۸۵۲۷۲۱
۱	۱۰۵					/۸۵۸۰۶۰
سطح معنی داری		/۳۴۶	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	/۳۲۱	/۲۴۳

۸- شاخص رنگ فیروزه ای: که با فرمول: $I_{Cy} = r+g/r+g+b$ با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد شاخص رنگ فیروزه ای در میوه زالزالک به صورت پر رنگ تر شدن میوه ها تغییر می کند. این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره ۸ : نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخص I_{cy}

تیمار	تکرار	سطح خطا = ۰/۰۵		
		۱	۲	۳
۵	۱۶۲	/۴۸۸۰۲۸		
۷	۶۰		/۵۰۹۷۶۲	
۴	۱۴۴		/۵۱۹۵۸۸	/۵۱۹۵۸۸
۶	۱۳۶			/۵۲۴۲۵۴
۳	۲۲۴			/۵۲۴۵۶۳
۲	۶۰			/۵۲۷۳۴۰
۱	۱۰۵			/۵۳۱۶۳۵
سطح معنی داری		۱/۰۰۰	/۱۴۳	/۱۱۱

۹- شاخص رنگ سرخابی : که با فرمول: $I_{Mag} = r+g/r+g+b$ با تحلیل داده های اماری طبق جدول شماره یک و مطابق روش مقایسه میانگین های هفت تیمار با آزمون چند دامنه ای دانکن نشان میدهد با افزایش ارتفاع از سطح دریا میزان شاخص رنگ سرخابی یا I_{mag} در میوه زالزالک افزایش می یابد. این شاخص گویای این است که با افزایش ارتفاع از سطح دریا تدریجا رنگ میوه ها از زرد به نارنجی و سپس به قرمز تغییر می یابد.

جدول شماره ۹ : نتایج مقایسه میانگین ها در هفت تیمار با ازمون چند دامنه ای دانکن در شاخص I_{mag}

تیمار	تکرار	سطح خطا = ۰/۰۵				
		۱	۲	۳	۴	۵
۱	۱۰۵	/۶۱۰۳۰۵				
۳	۲۲۴		/۶۲۲۷۱۶			
۲	۶۰		/۶۲۴۴۸۱			
۴	۱۴۴			/۶۴۸۸۹۱		
۵	۱۶۲				/۶۹۰۵۷۷	
۶	۱۳۶					/۷۳۶۸۰۵
۷	۶۰					/۷۴۶۹۸۸
سطح معنی داری		۱/۰۰۰	/۷۵۹	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	/۰۷۷

توضیحات زیر شامل تمامی نه جدول می باشد:
۱- میانگین گروه ها در زیر مجموعه های همگن نمایش داده می شود.
۲- از میانگین یکنواخت نمونه ها به میزان ۱۰۳/۲۸۵ استفاده شده.
۳- اندازه گروه ها نا برابر است و میانگین یکنواخت گروه ها اندازه گیری شده است. سطح خطای نوع یک تضمین نشده است.

۳) نتیجه گیری:

این آزمایش نشان می دهد که با بررسی تنوع فتوتیپی گیاه زالزالک در منطقه حفاظت شده سهند با استفاده از روش ارزیابی ظاهری رنگ میوه و نیز ارزیابی تکمیلی رنگ میوه با دو مدل رنگ سنجی دیجیتالی RGB و CMY در زالزالک و مقایسه نتایج این دو روش می توان به نتایج قابل اطمینان در زمینه بررسی تنوع فنوتیپی در گیاه زالزالک دست یافت . تنوع فنوتیپی با رنگ سنجی دیجیتالی در مقایسه با روش مارکرهای مولکولی با کم هزینه بودن و صرفه جویی در وقت می تواند جایگزین مناسبی باشد. از شاخصهای $L_1, L_2, L_3, L_4, L_5, L_6, L_y, L_{cy}, L_{mag}$ محاسبه شده با نه فرمول در بخش روش انجام تحقیق و سپس آنالیز شده و مقایسه میانگین ها در تیمار های مختلف توسط نرم افزار SPSS طی جداول بخش نتایج می توان نتیجه گرفت که برای بررسی ارزیابی مرکز تنوع ، خاستگاه و ذخیره گاه ژنتیکی یک گیاه در یک منطقه، مدل های رنگ سنجی دیجیتالی RGB و CMY می توانند جایگزین مناسبی برای روش مارک های مولکولی باشد.

منابع :

- جباری، م. ۱۳۹۵. خواص آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی آنتوسیانین ها در گیاهان دارویی. نخستین همایش ملی گیاهان دارویی معطر و ادویه ای. دانشگاه گنبد کاووس.
- رسول زادگان، ی. ۱۳۷۰. میوه کاری در مناطق معتدله. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان
- سمیعی راد، ز. ۱۳۹۶. زالزالک: کاشت، داشت و برداشت. تهران: نشر آییژ.
- عبداللهی، ح. همکاران. ۱۳۹۱. مقایسه اثرات پاکوتاه کنندگی دو پایه زالزالک و به روی چند رقم تجاری گلابی. مجله علوم باغبانی ایران. دوره ۴۳، شماره ۱. صفحه ۵۳ الی۶۳.
- کوه خیل، ع. همکاران. ۱۳۹۴. شناسائی و ارزیابی ویژگیهای مورفولوژیکی و فیتوشیمیائی تعدادی از گونه های ولیک در ایران. مجله فناوری تولیدات گیاهی. جلد ۱۵، شماره ۱. صفحه ۱۳ الی ۲۱.
- هناره، م. همکاران. ۱۳۹۳. بررسی قابلیت های گونه های گلابی ایران به منظور دستیابی به پایه های کم رشد و متحمل به آتشک. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان تحقیقات ترویج و آموزش کشاورزی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر.
- Abdolalipour, M. et al. 2016. Identification of some citrus genotypes using leaf shape analysis based on Elliptical Fourier descriptors. Biological Forum -An International Journal, 8(1): 226-232.
- Alirezalu, A. et al. 2018. Flavonoids profile and antioxidant activity in flowers and leaves of hawthorn species (Crataegus spp.) from different regions of Iran. International Journal of Food Properties, 21(1): 452-470.
- Chitwood, D. H. et al. 2016. Latent developmental and evolutionary shapes embedded within the grapevine leaf. New Phytologist, 210: 343-355.
- Fernandes de Oliveira, A. et al.2015. Distinctive Anthocyanin Accumulation Responses to Temperature and Natural UV Radiation of Two Fiel
- d-Grown Vitis vinifera L. Cultivars. Molecules, 20: 2061-2080.
- Google map. 2022/01/02. (https://www.google.com/maps).
- Google earth. 2022/01/03. (https://earth.google.com).
- He, F. et al. 2010. Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes. Molecules, 15: 9057-9091.
- Kay, G. R. 1992. Colour Analysis and The Classification of Fruit. University of Cape Town. thesis in for the degree of Master of Science in Electrical and Electronic Engineering.
- Klein, L.L. et al. 2017. Digital morphometrics of two north American grapevines (Vitis: vitaceae) quantifies leaf variation between species, within species, and among individuals. Frontiers in Plant Science, Volume: 8, Article: 373, 10p.

- Kumar, D. et al. 2012. The genus Crataegus: Chemical and pharmacological perspectives. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 22(5): 1187-1200.
- Li, W. et al.2020. The Eects of Ultraviolet A/B Treatments onAnthocyanin Accumulation and Gene Expression in Dark-Purple Tea Cultivar ‘Ziyan’ (Camellia sinensis). Molecules, 25: 354.
- Ma, Y. et al. 2021. Light Induced Regulation Pathway of Anthocyanin Biosynthesis in Plants. Int. J. Mol. Sci, 22, 11116.
  Qrunfleh, M.M. 1993. Studies on the hawthorn (Crataegus azarolus L.): III. a potential rootstock for ‘Golden Delicious’ apple and ‘Williams’ pear. The Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 68: 983-988.
- Wang, Y. et al. 2014. Estimating rice chlorophyll content and leaf nitrogen concentration with a digital still color camera under natural light. Plant Methods, 10:36.
- Zhuo, M. et al. 2018. Morphological variability in leaves of Chinese wild Vitis species. Scientia Horticulturae, 238:138–146.

Investigating the phenotypic diversity of hawthorn fruit (Crataegus spp.) in Sahand protected area using digital colorimetry technology

Seyed Mohammadali Khajeddini[1] ; Mohamad Reza Dadpour*[2] ; Ali Ebadi[3] ; Marziyeh Ghanbari Jahromi[4] ; Gholamreza Gohari[5]

1. Ph.D. candidate, Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*2- Associate Professors, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

3- Professors, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

4- Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

5- Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Iran

*Email: dadpour@tabrizu.ac.ir

Abstract

Introduction

Hawthorn with scientific name Crataegus spp. It belongs to the Rosacea genus, which has more than a thousand species of hawthorn in the world, twenty-two species in Iran, and nine species in East Azerbaijan. Hawthorn is a mountain wild plant that has high medicinal and nutritional value and is used to treat various human diseases. The important chemical compounds in hawthorn are flavonoids (anthocyanins), terpenes, and organic acids. The use of hawthorn tree for the rootstock of apple and pear trees is unknown in Iran. The phenotypic and morphological study of hawthorn species has not been done in Iran, but in many parts of the world, hawthorn species (Crataegus.azarolus) is used as a rootstock for pears (Willimas) and apples (Golden Delicious), which causes dwarfing and Early fruiting in the mentioned cultivars is pear and apple. One of the main problems of dwarf pear cultivation in Iran is the lack of dwarfing or semi- dwarfing rootstocks compatible with cultivars and conditions of calcareous and dry soils, which has caused the lack of orchards with dwarf pears. Hawthorn can be used as a suitable rootstock for pear due to its compatibility with calcareous soils and relative tolerance to drought. For dwarfing, early fruiting and prevention of chlorosis caused by iron deficiency, resistant hawthorn rootstock can be used in pear orchards. The strong and resistant root of hawthorn is excellent for the growth of seedlings and fruit, and it shows resistance against pests and tree root diseases. One of the ways to identify species, new breeds or genetic originality in plants is the use of molecular markers. The problems of using molecular markers, both costly and time-consuming, make the need to use other methods inevitable. The basis of new digital technologies for analyzing the shape and color in leaves and fruits is, in simple language, the extraction of digital information from the shape and color in leaves and fruits. This technology can be used to evaluate a variety of techniques used by botanists.This technology is able to evaluate the amount of phenotypic diversity between the plant mass in a particular area, if the amount of phenotypic diversity is high, that area can be investigated and emphasized more in terms of genetic reservoir, center of plant diversity, or even the origin of the plant. The analysis of the shape and color in leaves and fruits shows the diversity in a mass. With this technology, identification and comparison of the phenotypic homogeneity or heterogeneity of a plant mass is done with minimal time and minimum cost compared to other methods. This technology will be suitable and affordable for research work. In the RGB colorimetric model. The natural pigment of anthocyanin is a type of antioxidant in all kinds of vegetables and fruits, the accumulation of this anthocyanin pigment in plants is related to environmental conditions. There are different types of anthocyanins that can be stored in different parts of the plant such as leaves, flowers, fruits, etc. Anthocyanin is one of the types of secondary metabolites of the flavonoid category, which is a pigment soluble in water, and the plant produces this substance to withstand stress and adverse environmental conditions such as high ultraviolet radiation,

high salinity, low temperature, and high dryness. Increasing the height above the sea level with increasing the intensity of sunlight and the amount of ultraviolet rays and decreasing the temperature at night during the coloring and ripening of the fruit, the total content of anthocyanin in the skin of the fruit increases and the skin of the fruit becomes more colorful. Increasing the amount of anthocyanin in the fruit also increases the resistance of the fruit against all kinds of pests and diseases. Increasing the altitude above sea level and increasing the intensity of ultraviolet rays and low temperature gradually changes the color of the anthocyanin of the fruit skin from yellow to orange and then to pale red and then to deep red. This research is based on the evaluation of phototypic diversity of hawthorn plant in Sahand protected area using the method of fruit color appearance evaluation and also the complementary evaluation of fruit color with two digital colorimetry models in hawthorn and comparing the results of these two methods. Evaluation of phenotypic diversity with digital colorimetry can be a suitable alternative in comparison with the method of molecular markers due to its low cost and time saving. The method can be used to evaluate the center of diversity, origin and genetic reserve of a plant in a region.

Methodology

Sahand Protected Area is one of the important habitats and genetic reserves of hawthorn in East Azerbaijan province, between Tabriz city and Maragheh city, which is located at an altitude of 1500 to 3400 meters above sea level. This area is located at 46 degrees east longitude and 37 degrees north latitude with an area of sixty thousand hectares. 156 plant species have been identified in this habitat, 26 of which are endangered. Field studies have been carried out in the range of Hawthorn in the protected area of Sahand at an altitude of 1500 to 2200 meters above sea level. Sampling of hawthorn fruit from 21/07/1399 to 21/08/1399 from a height of 1500 meters to 2200 meters above sea level located at coordinates 37 degrees North and 46 degrees East in our area between Tabriz city and Maragheh city in the region The Sahand reserve was established in East Azarbaijan province with an area of sixty thousand hectares. The high dispersion of individual hawthorn trees in Sahand protected area and the lack of expected density in hawthorn trees caused the fruits of each tree to be considered as an independent population. From each population, fifteen fully colored fruit samples without damage and without crushing, and a total of nine hundred fruit samples from sixty separate populations were collected and selected using equipment including GPS, gardening shears and equipment for packing fruit samples. The fruits harvested from each tree were kept in separate semi-wet newspapers inside the refrigerator at a temperature of plus three to plus five degrees Celsius to remain healthy and not change their natural color until the time of photography and colorimetric tests. In photographing hawthorn fruits, the natural color of the fruits must be completely preserved, and after several tests on evaluating the exposure system for photographing the fruits, the best result is with a special system with exposure from below and imaging from above in JPG format. In order to compare the appearance of fruit size, shape and color, three parts were photographed, including the lateral part of fruit, the blossom and the junction of the fruit tail in all nine hundred fruits from sixty different populations. The digital color analysis computer software called Image pro plus has converted the color of the selected fruit samples into numerical data using the RGB model, and the numerical data has been extracted which contains the numerical average of the colors red with the symbol (R), green with the symbol (G)) and blue with symbol (B) were transferred to EXCEL software and then these data related to each fruit were normalized by the following formulas under EXCEL software, which in the formulas of normalized numbers, the numerical mean of red color with symbol (r), the normalized numbers of the numerical mean of the green color were shown with the symbol (g) and the normalized numbers of the numerical mean of the blue color were shown with the symbol (b).

$r = R / (R + G + B)$

$g = G / (R + G + B)$

$b = B / (R + G + B)$

Then, by six formulas, the following six numerical indices of each fruit related to red, green and blue colors were calculated under EXCEL software.

$I_1 = I_{GREEN} = g-r / g + r$ The first green indicator

$I_2 = I_{RED} = r-g / r + g$ The first red indicator

$I_3 = I_{BLUE} = b-r / b + r$ The first blue indicator

$I_4 = I_{RED} = r-b / r + b$ The second red indicator

$I_5 = I_{GREEN} = g-b / g + b$ The second green indicator

$I_6 = I_{BLUE} = b-g / b + g$ The second indicator is blue

The CMY model stands for three colors: cyan, magenta and yellow. Finally, by CMY method and with the following three formulas, three numerical indices of each fruit, which were related to yellow color index, turquoise color index and magenta color index, were calculated and extracted under EXCEL software and then statistically analyzed by SPSS statistical software.

$I_{yellow} = r + g / r + g + b$ Yellow indicator

$I_{Cyan} = r + g / r + g + b$ Turquoise color index

$I_{Magenta} = r + g / r + g + b$ Magenta color index

Conclusion

1- The first index or green color index or I_1: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_1 = I_{GREEN} = g-r / g + r}$ as a statistical solution. So that with increasing altitude, the amount of green color index or I_1 in hawthorn fruit decreases. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

2- The second index or red color index or I_2: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_2 = I_{RED} = r-g / r + g}$ as a statistical solution. As the altitude rises above sea level, the red color index or l_2 increases. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

3- The third index or blue color index or I_3: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_3 = I_{BLUE} = b-r / b}$ + r as a statistical solution. In general, with increasing altitude above sea level, the amount of blue color index or I_3 increases. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

4- The fourth index or red color index or I_4: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_4 = I_{RED} = r-b / r + b}$ as a statistical solution. As the altitude increases This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

5- The fifth index or the green color index or I_5: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_5 = I_{GREEN} = g-b / g + b}$ as a statistical solution. In general, with increasing altitude, the amount of green color index or l_5 in hawthorn fruit decreases. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

6- The sixth index or blue color index or I_6: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_6 = I_{BLUE} = b-g / b + g}$ as a statistical solution. In general, with increasing altitude, the amount of blue color index or l_6 in hawthorn fruit increases. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

7- Yellow color index: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_y = r + g / r + g + b}$ as a statistical solution. In general, with increasing altitude, the amount of yellow or I_y color index in hawthorn fruit decreases. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

8- Turquoise color index: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_{Cy} = r + g / r + g + b}$ as a statistical solution. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

9- Magenta color index: which is expressed by the formula: $\mathbf{I_{Mag} = r + g / r + g + b}$ as a statistical solution. In general, with increasing altitude, the amount of magenta color index in hawthorn fruit increases. This means that with increasing altitude, the color of fruits gradually changes from yellow to orange and then to red.

This research shows that by investigating the phototypic diversity of hawthorn plant in Sahand protected area using the method of evaluating the appearance of fruit color and also the

complementary evaluation of fruit color with two digital colorimetry models RGB and CMY in hawthorn and comparing the results of these two methods to the results Reliability was achieved in the field of investigating phenotypic diversity in hawthorn plant. Phenotypic diversity with digital colorimetry can be a suitable alternative in comparison with the method of molecular markers with low cost and time saving. From the indices L_1, L_2, L_3, L_4, L_5, L_6, L_y, L_{cy}, L_{mag} calculated with nine formulas in the research method section and then analyzed by SPSS software in the nine tables of the results section, it can be concluded that for evaluating The center of diversity, the origin and the genetic reserve of a plant in a region, RGB and CMY digital colorimetry models can be a suitable substitute for the molecular markers method.

Keywords
Sahand protected area; Hawthorn fruit; Digital calorimetry.