

ارزیابی تنوع مورفولوژیکی، فنولوژیکی و مولکولی جمعیت‌های ایرانی گونه بابونه زاگرسی (*Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut.)

مهدی متقی^{۱*}، پروین صالحی شانجانی^۲، علی اشرف جعفری^۳، مهدی میرزا^۴ و محمدرضا بی‌همتا^۵

۱- نویسنده مسئول، استادیار، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران، پست الکترونیک: m.motaghi@areeo.ac.ir

۲- دانشیار، بانک ژن منابع طبیعی ایران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- استاد، بخش تحقیقات مرتع، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۵- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۶

چکیده

در این مطالعه، صفات مورفولوژیک، فنولوژیک و مولکولی برای آنالیز تنوع در میان جمعیت‌های مختلف بابونه زاگرسی (*Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut.) شش استان مرکزی و غرب کشور، مورد استفاده قرار گرفتند. آنالیز تنوع صفات مورفولوژیک و فنولوژیک نشان داد که در میان جمعیت‌ها، همه صفات تحت ارزیابی دارای تفاوت معنی‌داری بودند. حداکثر ضرایب تنوع‌پذیری متعلق به درصد اسانس (۴۵/۷۶٪)، تعداد ساقه گلده (۳۸/۷۶٪) و قطر گل (۳۲/۸۶٪) بود. در آنالیز ISSR، ۶ آغازگر انتخابی، ۵۵ نوار تولید کردند که ۳۸ نوار (۶۹/۱٪) چندشکل بودند. دامنه فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌ها از ۰/۰۰۹ تا ۰/۴۳۹ بود. مطابق دندروگرام حاصل از UPGMA، در میزان شباهت ۰/۶۶، جمعیت‌ها به دو گروه اصلی تقسیم شدند. گروه‌بندی جمعیت‌ها براساس نشانگرهای مولکولی، مطابق گروه‌بندی جغرافیایی آنها بود. از میان جمعیت‌های مورد مطالعه، جمعیت ایلام برای مناطق گرمسیر با شرایط آبی مناسب، جمعیت‌های اردکان و خرم‌آباد برای بهره‌برداران تجاری و مراکز تحقیقاتی و جمعیت میبد برای کشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک قابل توصیه می‌باشند. دامنه وسیع تنوع ژنتیکی مشاهده شده در این مطالعه می‌تواند به‌عنوان یک منبع ژنی در دسترس برای اصلاح بابونه از طریق برنامه‌های گزینش و دورگ‌گیری مورد توجه قرار گیرد. برنامه‌های مناسب به‌منظور حفظ این تنوع، برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی آینده باید در نظر گرفته شوند.

واژه‌های کلیدی: *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut.، گزینش، تنوع، ISSR.

مقدمه

ایران برای جنس بابونه، ۳۹ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چندساله (۱۵ گونه انحصاری ایران) گزارش شده‌است (Rechinger, 1986). از گونه‌های متداول جنس بابونه در

جنس بابونه (*Anthemis*)، دومین جنس بزرگ زیر تیره Anthemideae و شامل گیاهان یک‌ساله و دائمی است. در

نظر کلیه صفات مورد بررسی تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین صفت ارتفاع بوته با صفاتی مانند طول برگ، طول دوره رویشی، تعداد شاخه گلده، وزن تر و خشک و صفت درصد اسانس با ارتفاع گیاه، طول برگ، طول دوره رویشی و زمان گلدهی، تعداد گل‌ها در هر بوته و وزن تر و خشک همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان دادند. Alizadeh و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی ۱۲ صفت مورفولوژیکی و فنولوژیکی بابونه زاگرسی بیان کردند که بین عملکرد اسانس با صفت تعداد گل در بوته و قطر عرضی و طولی تاج پوشش همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد.

با توجه به اینکه تعداد صفات مورفولوژیک محدود بوده و بروز این صفات تحت تأثیر سن گیاه و محیط قرار دارد، امروزه برای تعیین تنوع ژنتیکی گونه‌ها از روش‌های تکمیلی مانند نشانگرهای مولکولی استفاده می‌شود (Fares et al., 2009). از میان نشانگرهای مولکولی می‌توان به نشانگر ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) اشاره کرد. این نشانگرها نیمه تصادفی بوده و از تکرارپذیری و چندشکلی بالایی برخوردارند و در دامنه وسیعی از گیاهان کاربرد دارند (Lin et al., 2010؛ Denduangboripant et al., 2010). Eftekhari (۲۰۱۱) با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD و ISSR تنوع ژنتیکی قابل توجهی را میان ۱۸ نمونه بابونه گزارش کرد. Pirkhezri و همکاران (۲۰۱۰) تنوع ژنتیکی میان جمعیت‌های متفاوت *M. chamomilla* رشد یافته در جنوب غربی ایران را بر پایه نشانگر RAPD بررسی کردند. آغازگرهای انتخابی ۲۲۰ باند تولید کردند که ۲۰۵ باند چندشکل بود. دامنه شباهت میان جمعیت‌ها از ۰/۱۵ تا ۰/۷۸ بود که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالا بین نمونه‌های بابونه مورد مطالعه است.

با توجه به اینکه عمده برنامه‌های به‌نژادی قبلی در مراکز تحقیقاتی ایران، بر پایه خصوصیات مورفولوژیک، فنولوژیک و درصد اسانس بابونه زاگرسی بعمل آمده و تاکنون تحقیق مشخصی با استفاده از نشانگرهای مولکولی در این گونه انجام نشده است، این تحقیق به‌منظور ارزیابی و تعیین تنوع ژنتیکی موجود در بین جمعیت‌های این گونه با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR و خصوصیات مورفولوژیک انجام شد.

ایران، می‌توان به بابونه زرد (*A. tinctoria*) و بابونه زاگرسی (*A. haussknechtii*) اشاره کرد. بابونه زاگرسی گیاهی یک‌ساله است که پراکندگی آن عمدتاً در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی، کردستان، ایلام، همدان، لرستان، چهارمحال بختیاری، فارس و خوزستان گزارش شده است (Mozaffarian, 2007). در سالهای اخیر، در مورد ترکیب‌های اسانس و اثرات درمانی عصاره بابونه زاگرسی تحقیقات مختلفی انجام شده است. Salehi و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی ترکیب‌های اسانس بخش‌های هوایی این گونه، ۲۲ ترکیب (برابر با ۹۸٪ کل اسانس) را شناسایی کردند که جرماکرن دی (۱۷/۶٪)، ان هگزادکان (۱۳/۱٪) و اسپاتونول (۱۱/۵٪) ترکیب‌های اصلی اسانس بودند. Nazeri و همکاران (۲۰۱۶) نیز از تأثیر بازدارنده عصاره ریشه بابونه زاگرسی، به‌عنوان منبع سسکوئی‌ترین پارتنولید، بر رشد تومورهای سرطان سینه خبر داده‌اند.

با توجه به طبیعت وحشی و غیراهلی بابونه زاگرسی، شناسایی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های این گونه در ایران، اولین قدم در برنامه‌های به‌نژادی و شناسایی دقیق ژرم‌پلاسم آن است. از جمله روش‌های کلاسیک بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی گونه‌های گیاهی، استفاده از صفات مورفولوژیک آن است (Fares et al., 2009). مطالعات بسیاری بر روی ویژگی‌های مورفولوژیک گونه‌های بابونه انجام شده است. از جمله Pirkhezri و همکاران (۲۰۰۹) با ارزیابی ۱۶ صفت مورفولوژیکی و فنولوژیکی تعدادی از گونه‌های بابونه در دو جنس آنتیمیس و ماتریکاریا در ایران، از همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات قطر گل و وزن ۱۰۰ گل، قطر گل و عملکرد گل تر، ارتفاع بوته و طول و عرض برگ و در نهایت طول و عرض برگ خبر دادند. Mahdikhani و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی توده‌های بومی بابونه متعلق به گونه *Matricaria inodora* بیشترین میزان تنوع را برای صفات مورفولوژیک مانند تعداد گل در بوته و درصد اسانس و کمترین میزان تنوع را برای صفات فنولوژیک مانند روز تا شروع گلدهی و روز تا پایان گلدهی گزارش کردند. Eftekhari (۲۰۱۱) در بررسی مورفولوژیکی برخی توده‌های بابونه آلمانی (*Matricaria recutita*) و بابونه زرد، نشان داد که توده‌ها از

جدول ۱- مشخصات جمعیت‌های بابونه زاگرسی (*A. haussknechtii*) مورد بررسی

ردیف	محل جمع‌آوری	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع (متر از سطح دریا)
۱	یزد - اردکان	۵۳° ۵۹	۳۲° ۱۹	۱۴۸۶
۲	یزد - میبد	۵۴° ۰۰	۳۱° ۲۲	۱۰۳۴
۳	لرستان - خرم‌آباد	۴۷° ۵۱	۳۳° ۳۷	۱۳۵۰
۴	کردستان - بانه	۴۵° ۵۳	۳۵° ۵۹	۱۶۱۰
۵	همدان - اسدآباد	۴۸° ۲۸	۳۴° ۱۷	۲۱۱۴
۶	ایلام - ایوان	۴۶° ۱۷	۳۳° ۴۹	۱۱۴۰
۷	کرمانشاه - اسلام‌آباد	۴۶° ۳۰	۳۴° ۱۰	۱۳۳۵
۸	ایلام - ایلام	۴۷° ۰۰	۳۳° ۳۶	۱۴۲۷

مواد و روش‌ها

گونه‌های گیاهی

بذر جمعیت‌های مورد مطالعه در این تحقیق از بانک ژن مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تهیه شد. در جدول ۱، محل جمع‌آوری و مشخصات اقلیمی جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داده شده است.

در اواخر زمستان سال ۱۳۹۲، اقدام به کاشت بذرها در سبزی کاشت شد و بعد در اواسط بهار ۱۳۹۳، گیاهچه‌های جوان به ایستگاه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در شهر کرج (البرز) منتقل گردیدند. این منطقه دارای طول جغرافیایی ۳۱° ۵۱ و عرض جغرافیایی ۴۲° ۳۵ با ارتفاع ۱۲۹۱ متر از سطح دریا بوده، میانگین بارندگی سالیانه ۲۴۸ میلی‌متر و متوسط دما ۱۶/۲۱ درجه سانتی‌گراد با حداکثر مطلق ۴۴ و حداقل مطلق ۸- درجه بود. خاک ایستگاه دارای بافت لومی با اسیدیته ۷/۵-۸/۵ بوده، متوسط بارندگی سالیانه ۲۴۷/۳ میلی‌متر و پرباران‌ترین ماه سال اسفند است. متوسط رطوبت نسبی سالیانه ۴۰-۵۰٪ و اقلیم ایستگاه تحقیقاتی نیمه‌خشک فراسرد است. گیاهچه‌های جوان در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. فاصله روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر و فاصله بین ردیف‌ها ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. طی فصل رشد به دفعات لازم وجین دستی و مبارزه مکانیکی با علف‌های هرز انجام شد. آبیاری اولیه تا

استقرار اولیه هر ۲ روز یک‌بار و پس از آن تا زمان برداشت با توجه به شرایط آب و هوایی و نیاز گیاه به فاصله ۵ روز انجام شد.

ارزیابی‌های مورفولوژیک و فنولوژیک

صفات مورفولوژیک ارتفاع گیاه، پوشش تاجی، وزن تر و خشک، درصد ماده خشک، قطر ساقه، طول و عرض برگ، تعداد شاخه گل‌دهنده، قطر گل و بازده و عملکرد اسانس مورد ارزیابی قرار گرفتند، بدین طریق که از میان بوته‌های هر جمعیت، تعداد ۴ بوته گلدار از هر بلوک انتخاب و میانگین صفات اندازه‌گیری شده در هر بوته به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. صفات فنولوژیک زمان گلدهی و زمان برداشت گلها نیز به‌ترتیب براساس تعداد روز از تاریخ کاشت تا ظهور اولین گل در ۵۰٪ درصد بوته‌ها و تعداد روز از تاریخ کاشت تا زمان رسیدگی کامل تعیین شدند. بوته‌ها بلافاصله پس از برداشت توزین شده (وزن تر) و در آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت در آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا بتوان وزن خشک آنها را اندازه‌گیری کرد. پس از گل دادن ۵۰٪ از بوته‌های هر جمعیت، بخش‌های هوایی گیاه (برگ‌ها و سرشاخه‌ها) جمع‌آوری و در دمای محیط و در سایه خشک گردیده و پس از اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر به مدت سه ساعت و براساس فارماکوپه گیاهی ایران، درصد و عملکرد اسانس با

دستورالعمل مربوطه انجام شد. با توجه به وجود فنولها در گیاهان مورد آزمایش، اقدام به شستشوی DNAها با اتانول ۹۰٪ و بعد اتانول ۷۰٪ گردید. براساس نتایج روش اسپکتروفتومتری، DNA نمونهها تا غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر رقیق و برای انجام واکنش PCR مورد استفاده قرار گرفتند. برای انجام آزمایش، آغازگرهای ISSR (جدول ۲) و مسترمیکس مورد استفاده از شرکت تولیدی و تحقیقاتی سیناژن تهیه شد. واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر ۹۶ چاهکی مدل BIO-RAD آمریکا با برنامه‌های دمایی یک چرخه ۲ دقیقه‌ای در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و ۴۰ چرخه شامل یک دقیقه در ۹۲ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه در ۴۸ تا ۵۳ درجه سانتی‌گراد (برحسب دمای اتصال آغازگر) و دو دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحله بسط نهایی با ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. تفکیک محصولات واکنش با استفاده از ژل آگارز ۲٪ انجام گردید.

استفاده از روابط زیر مشخص گردید (Siddiqui et al., 2006).

$$\text{وزن اسانس (gr)} = \frac{\text{وزن خشک اولیه (gr)}}{\text{درصد اسانس}} \times 100$$

عملکرد بیوماس × درصد اسانس = عملکرد اسانس

مقادیر ضرایب همبستگی دوگانه (پیرسون) و جزئی میان صفات مورفولوژیک و فنولوژیک با استفاده از نرم‌افزار SPSS محاسبه گردید. داده‌های تحقیق توسط نرم‌افزار SAS مورد آنالیز واریانس قرار گرفتند و مقایسه میانگینها با استفاده از روش دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد.

ارزیابی‌های مولکولی

به‌منظور ارزیابی تنوع مولکولی جمعیت‌های مورد مطالعه، زمانی که گیاهچه‌های جوان وارد مرحله ۱۰ سانتی‌متری شدند، استخراج DNA از نمونه‌های برگ‌های تازه و جوان تک بوته‌های انتخابی با استفاده از کیت استخراج AccuPrep GMO (Bioneer, Cat No.K3031) و مطابق

جدول ۲- توالی و دمای اتصال آغازگرهای مورد استفاده

آغازگر	توالی	دمای اتصال (سانتی‌گراد)
ISSR-P _۵	5-(AC) _۸ G-3	۵۳
ISSR-P _{۱۲}	5-(GA) _۸ T-3	۴۸
ISSR-P _{۲۶}	5-CCA(CT) _۸ -3	۵۳
ISSR ۱-۳	5-(CT) _۸ TG-3	۵۱
ISSR ۱-۷	5-(CA) _۶ GT-3	۵۳
ISSR ۱-۱۹	5'-(AG) _۷ GT-3'	۵۲

محاسبه شد. برای محاسبه PIC از فرمول $PIC_i = 1 - p_i^2$ (Powell et al., 1996) استفاده شد که در آن p_i^2 برابر با فراوانی نام آلل است. شاخص نشانگر (MI) از حاصل ضرب PIC در تعداد نوارهای چندشکل و درصد چندشکلی هر آغازگر بدست آمد (Powell et al., 1996). دندروگرام روابط ژنتیکی به وسیله تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA با استفاده از ماتریس

نوارهای یک شکل که در تمام افراد تکثیر شده بودند، از تجزیه حذف شدند و الگوهای چندشکل براساس حضور و عدم حضور نوار به ترتیب با ۱ و صفر امتیازبندی شدند. به‌منظور بررسی کارایی آغازگرها در تمیز بین جمعیت‌ها، محتوای اطلاعات چندشکلی (Polymorphic information content, PIC) و شاخص نشانگر (Marker Index, MI)، هر آغازگر

اردکان (۹۸۳/۳۳ گرم در هکتار) و اسدآباد (۴۰۷/۶۷ گرم در هکتار)، ایلام (۸۵/۳۳ روز) و میبد (۶۰ روز)، خرم‌آباد (۰/۱۳۳) و بانه (۰/۰۳۷) و سرانجام بیشترین و کمترین مقادیر عملکرد اسانس به ترتیب متعلق به خرم‌آباد (۰/۹۴) و بانه (۰/۶۳) است.

مقادیر همبستگی دوگانه صفات فنوتیپی و فنولوژیکی در جدول ۵ نشان داده شده است. از میان همبستگی‌های مثبت و معنی‌دار می‌توان به همبستگی بین صفات ارتفاع بوته و پوشش تاجی گیاه (۰/۸۴)، ارتفاع بوته با طول و عرض برگ (به ترتیب ۰/۶۴ و ۰/۶۸)، پوشش تاجی گیاه و طول برگ (۰/۶۸)، پوشش تاجی گیاه و وزن خشک (۰/۷۲)، طول برگ و وزن تر (۰/۵۸)، وزن تر و وزن خشک (۰/۸۲)، زمان گلدهی و زمان برداشت (۰/۹۱)، عملکرد اسانس و وزن تر و خشک (به ترتیب ۰/۴۵ و ۰/۵۳) و درصد و عملکرد اسانس (۰/۷۷) اشاره کرد. با توجه به اینکه در همبستگی‌های دو متغیره احتمال دارد اثرات پیچیده صفات بر روی یکدیگر مانع از بدست آوردن ضریب همبستگی واقعی بین دو صفت (متغیر) شود، با روش همبستگی جزئی اثر سایر صفات حذف گردید تا مشخص شود آیا بین صفات مورد ارزیابی ارتباط واقعی وجود دارد یا خیر. از میان همبستگی‌های جزئی، رابطه میان صفات ارتفاع و پوشش تاجی گیاه (۰/۷۶)، پوشش تاجی گیاه و طول برگ (۰/۶۴)، پوشش تاجی گیاه و وزن خشک (۰/۵۲)، طول برگ و وزن تر (۰/۵۲)، وزن تر و وزن خشک (۰/۶۲)، زمان گلدهی و زمان برداشت (۰/۸۷) و درصد و عملکرد اسانس (۰/۵۲) مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۵).

تشابه جاکارد حاصل شد. آزمون مانتل برای ارزیابی مطابقت بین ماتریس‌های تشابه حاصل از داده‌های مورفولوژیک و مولکولی انجام گردید (Mantel, 1967). تجزیه و تحلیل‌های فوق با استفاده از نرم‌افزار NTSYS حاصل شد. برای تجزیه تابع تشخیص از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. همچنین به منظور مشخص‌سازی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها، با استفاده از نرم‌افزار GenAlex، اقدام به تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی به روش AMOVA گردید.

نتایج

داده‌های مورفولوژیک و فنولوژیک

نتایج تجزیه واریانس و مقادیر ضریب تغییرات صفات مورفولوژیک و فنولوژیک مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. بین جمعیت‌ها از نظر تمامی صفات اختلاف معنی‌دار وجود داشت که این اختلاف برای صفات عرض برگ و تعداد ساقه گلده در سطح ۵٪ و برای سایر صفات در سطح ۱٪ بود. بیشترین میزان تنوع فنوتیپی برای صفات درصد اسانس، تعداد ساقه گلده، قطر گل، وزن خشک، عملکرد اسانس و پهنای برگ به ترتیب ۴۵/۷۶، ۳۸/۷۶، ۲۸/۸۶، ۲۵/۳۲، ۲۴/۹۸ و ۲۴/۸۸ درصد و کمترین میزان برای طول برگ و صفات فنولوژیک زمان برداشت و زمان گلدهی به ترتیب ۱۱/۳۶، ۱۲/۴۱ و ۱۶/۲۰ درصد بود.

مقایسه میانگین صفات بین جمعیت‌ها (جدول ۴) نشان داد که بیشترین و کمترین مقادیر ارتفاع گیاه، وزن خشک سرشاخه، زمان برداشت و درصد اسانس به ترتیب مربوط به ایلام (۱۶/۳۷ سانتی‌متر) و اسدآباد (۱۰/۵۷ سانتی‌متر)،

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک و فنولوژیک جمعیت‌های بابونه زاگرسی

منبع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع گیاه	پوشش تاجی گیاه	طول برگ	عرض برگ	تعداد ساقه گلده	قطر گل	وزن تر	وزن خشک	زمان گلدهی	زمان برداشت	درصد اسانس	عملکرد اسانس
جمعیت	۷	۱۲/۶۰**	۳۳۹۰۷**	۶۴/۱۷**	۳۱/۲۳*	۳/۲۱*	۱۶۱/۴۳**	۲۲/۹۰**	۱/۴۸**	۲۲۱/۴۲**	۲۰۲/۶۴**	۰/۰۰۴**	۰/۰۷۱**
تکرار	۲	۰/۱۸	۹۴۷/۶	۸/۶۷	۶/۵	۰/۳۷	۳۸/۰۰**	۱۹/۳۴**	۰/۱۸	۱۳/۸۷*	۲۳/۶۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳
خطا	۱۴	۱/۹۷	۱۹۱۹	۱۳/۶۷	۷/۸۸	۰/۹۵	۲/۸۶	۱/۴۳	۰/۱۳	۳/۳۵۱	۲۳/۷۷	۰/۰۰۰۳	۰/۰۱۲
CV%		۱۶/۳۳	۱۹/۰۱	۱۱/۳۶	۲۴/۸۸	۳۸/۷۶	۲۸/۸۶	۱۹/۵۹	۲۵/۳۲	۱۶/۲۰	۱۲/۴۱	۴۵/۷۶	۲۴/۹۸

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک و فنولوژیک جمعیت‌های بابونه زاگرسی

جمعیت	ارتفاع گیاه	پوشش تاجی گیاه	طول برگ	عرض برگ	تعداد ساقه گلده	قطر گل	وزن تر	وزن خشک	زمان گلدهی	زمان برداشت	درصد اسانس	عملکرد اسانس
	سانتی متر	میلی متر	میلی متر	میلی متر	گلده	میلی متر	گرم در هکتار	گرم در هکتار	روز			گرم در هکتار
اردکان	۱۵/۲۷ab	۶۸۵/۸۰a	۴۳/۰۰b	۱۳/۰۰c	۳/۳۳abc	۲۴/۳۳c	۲۰/۶۷a	۹۸۳/۳۳a	۵۵/۶۷b	۷۶/۱۳a	۰/۱۲۳a	۰/۹۱a
میبد	۱۱/۷۷cd	۵۴۵/۴۸c	۵۰/۳۳a	۱۴/۶۷bc	۲/۶۷bc	۲۱/۳۳d	۱۴/۰۰def	۶۰۰d	۴۱/۰۰e	۶۰/۰۰b	۰/۰۸۳b	۰/۶۸abc
خرم‌آباد	۱۴/۲۳abc	۶۱۲/۴۷abc	۴۷/۳۳ab	۱۳/۶۷c	۲/۳۳c	۲۶/۶۷c	۱۶/۰۰cd	۸۶۶/۶۷ab	۶۷/۳۳a	۷۸/۰۰a	۰/۱۳۳a	۰/۹۴a
بانه	۱۵/۸۷ab	۶۴۸/۰۶ab	۴۷/۶۷ab	۱۶/۳۳abc	۴/۳۳ab	۲۷/۰۰c	۱۶/۵۰bc	۶۸۲cd	۴۶/۳۳d	۶۶/۳۳b	۰/۰۳۷d	۰/۶۳bc
اسدآباد	۱۰/۵۷d	۳۶۲/۱۲e	۴۰/۶۷b	۱۲/۶۷c	۲/۶۷bc	۱۸/۶۷d	۱۳/۱۷ef	۴۰۷/۶۷e	۵۷/۶۷b	۶۲/۳۳b	۰/۰۴۳dc	۰/۷۸b
ایوان	۱۳/۳۷bc	۵۸۵/۷۹bc	۴۲/۶۷b	۱۳/۰۰c	۲/۰۰c	۱۵/۳۳e	۱۲/۳۳f	۵۸۳/۳۳d	۵۸/۳۳b	۶۸/۵۵b	۰/۰۸b	۰/۷۲bc
اسلام‌آباد	۱۲/۶۰cd	۴۶۴/۴۲d	۵۱/۳۳a	۱۹/۶۷ab	۳/۶۷abc	۳۳/۰۰b	۱۸/۳۳b	۷۸۹/۳۳bc	۶۴/۸۴a	۷۷/۳۳a	۰/۱۱۷a	۰/۸۶ab
ایلام	۱۶/۳۷a	۶۲۲/۳۱abc	۵۳/۶۷a	۲۱/۰۰a	۵/۰۰a	۳۷/۶۷a	۱۸/۰۰b	۶۴۱/۶۷d	۶۷/۳۳a	۸۵/۳۳a	۰/۰۹b	۰/۸۳ab

جدول ۵- ضرایب همبستگی دو گانه و جزئی^۱ بین صفات مورفولوژیک و فنولوژیک جمعیت‌های بابونه زاگرسی

صفت	ارتفاع گیاه	پوشش تاجی گیاه	طول برگ	عرض برگ	تعداد ساقه گلده	قطر گل	وزن تر	وزن خشک	زمان گلدهی	زمان برداشت	درصد اسانس
پوشش تاجی گیاه	۰/۸۴** (۰/۷۶**)										
طول برگ	۰/۶۸** (۰/۶۴*)	۰/۶۴** (-۰/۲۹)									
عرض برگ	۰/۶۸** (۰/۱۶)	۰/۵۷** (۰/۱۲)	۰/۶۸** (۰/۳۵)								
تعداد ساقه گلده	۰/۳۹ (-۰/۳۶)	۰/۱۸ (۰/۳۱)	۰/۱۸ (-۰/۵۷*)	۰/۵۵** (۰/۲۸)							
قطر گل	۰/۶۸** (۰/۱۶)	۰/۵۲** (-۰/۰۸)	۰/۶۵** (۰/۳۶)	۰/۷۷** (۰/۳۲)	۰/۶۲** (۰/۳۸)						
وزن تر	۰/۶۴** (۰/۳۴)	۰/۴۹* (-۰/۱۰)	۰/۵۸** (۰/۵۲*)	۰/۷۷** (۰/۲۸)	۰/۵۵** (۰/۴۲)	۰/۹۴** (۰/۳۶)					
وزن خشک	۰/۷۵** (۰/۲۶)	۰/۷۲** (۰/۵۲*)	۰/۶۴** (۰/۳۲)	۰/۶۹** (۰/۲۳)	۰/۴۴* (-۰/۱۸)	۰/۸۲** (۰/۶۲*)	۰/۸۲** (۰/۴۸)				
زمان گلدهی	۰/۰۶ (۰/۲۴)	-۰/۱۵ (-۰/۱۳)	-۰/۰۹ (-۰/۰۵)	۰/۲۸ (۰/۰۶)	۰/۲۴ (-۰/۰۸)	۰/۱۴ (۰/۳۲)	۰/۲۰ (-۰/۰۳)	-۰/۰۳ (-۰/۱۰)			
زمان برداشت	۰/۰۱ (-۰/۴۳)	-۰/۲۰ (۰/۰۸)	-۰/۰۲ (-۰/۰۵)	۰/۲۹ (۰/۰۱)	۰/۳۲ (-۰/۰۹)	۰/۱۵ (۰/۱۴)	۰/۲۳ (۰/۲۵)	۰/۴۷* (۰/۴۵)	۰/۹۱** (۰/۸۷**)		
درصد اسانس	-۰/۰۵ (۰/۲۵)	-۰/۲۶ (-۰/۰۹)	۰/۱۶ (۰/۰۱)	۰/۳۴ (۰/۱۰)	۰/۲۳ (۰/۱۸)	۰/۲۷ (-۰/۱۸)	۰/۰۲ (۰/۰۳)	-۰/۱۰ (-۰/۵۲*)	۰/۱۳ (۰/۲۶)	۰/۱۸ (-۰/۱۰)	
عملکرد اسانس	۰/۳۷ (۰/۲۳)	۰/۴۵* (۰/۰۵)	۰/۱۵ (-۰/۱۳)	-۰/۰۴ (-۰/۰۵)	-۰/۱۰ (-۰/۱۸)	۰/۲۹ (۰/۰۲)	۰/۴۵* (-۰/۰۳)	۰/۵۳** (۰/۱۸)	۰/۶۳** (۰/۴۶)	۰/۵۳** (۰/۴۲)	۰/۷۷** (۰/۵۲*)

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

۱: اعداد داخل پرانتز ضرایب همبستگی جزئی را نشان می‌دهند.

داده‌های مولکولی

در مجموع ۵۵ نوار تولید شد که از میان آنها ۳۸ نوار چندشکل بودند. بیشترین تعداد نوار چندشکل مربوط به آغازگر P_{۱۲} با ۱۰ نوار چندشکل و کمترین تعداد مربوط به آغازگر ۱-۱۹ با ۴ نوار چندشکل بود (جدول ۶). میانگین تعداد نوارهای چندشکل به ازای هر واحد سنجش برابر با ۶/۳۳ نوار بود. در مورد نشانگرهای ISSR هر واحد سنجش معادل یک آغازگر است. بیشترین مقدار PIC، ۰/۳۹۴ و مربوط به آغازگر ۱-۷ و کمترین میزان آن، ۰/۱۲۶ و مربوط به آغازگر ۳-۱ و میانگین PIC محاسبه شده در این تحقیق ۰/۲۷۳ بود. شاخص نشانگر (MI) براساس تعداد نوارهای چندشکل برای هر آغازگر محاسبه شد که از ۰/۳۹ تا ۲/۴۷ متغیر بود و میانگین آن ۱/۳۱ بدست آمد.

ضرایب فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها در جدول ۷ نشان داده شده است. فاصله ژنتیکی بین ۰/۰۰۹ تا ۰/۴۳۹ (میانگین ۰/۲۲۴) دو جمعیت میبد و اردکان دارای کمترین فاصله

ژنتیکی به میزان ۰/۰۰۹ و دو جمعیت بانه و میبد دارای بیشترین فاصله ژنتیکی به میزان ۰/۴۳۹ در میان جمعیت‌ها بودند. گروه‌بندی براساس ضریب تشابه با ترسیم خط برش در فاصله ۰/۶۶، جمعیت‌های مورد مطالعه را در دو گروه اصلی جای داد (شکل ۱). گروه اول به دو زیرگروه الف و ب قابل تقسیم است که در زیرگروه الف: جمعیت‌های خرم‌آباد، اسلام‌آباد، ایلام و ایوان و در زیرگروه ب: نیز جمعیت‌های بانه و اسدآباد قرار گرفتند. جمعیت‌های میبد و اردکان نیز در گروه دوم جای گرفتند. صحت گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای، توسط تابع تشخیص کانونی به روش خطی فیشر ۸۸/۶٪ برآورد شد که بر این اساس می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تابع تشخیص تقسیم جمعیت‌ها به دو گروه اصلی به‌وسیله تجزیه خوشه‌ای را تأیید می‌کند. جدول ۸، نتایج واریانس مولکولی را نشان می‌دهد که در آن تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها معنی‌دار بود و ۵۵٪ از کل تنوع در درون جمعیت‌ها و باقی‌مانده آن در بین جمعیت‌ها تقسیم شده است.

جدول ۶- کارایی و تعداد نشانگرهای چندشکل تولید شده توسط آغازگرهای ISSR

آغازگر	تعداد نوارهای یک شکل	تعداد نوارهای چندشکل	تعداد کل نوارها	درصد چندشکلی	PIC	MI
ISSR-P _۵	۲	۹	۱۱	۸۱/۸۱	۰/۳۳۵	۲/۴۷
ISSR-P _{۱۲}	۳	۱۰	۱۳	۷۶/۹۲	۰/۲۷۸	۲/۱۴
ISSR-P _{۲۶}	۴	۵	۹	۵۵/۵۶	۰/۲۵۹	۰/۷۲
ISSR ۱-۳	۳	۵	۸	۶۲/۵۰	۰/۱۲۶	۰/۳۹
ISSR ۱-۷	۱	۵	۶	۸۳/۳۳	۰/۳۹۴	۱/۶۴
ISSR ۱-۱۹	۴	۴	۸	۵۰	۰/۲۴۸	۰/۵۰
میانگین	۲/۸۳	۶/۳۳	۹/۱۷	۶۸/۳۶	۰/۲۷۳	۱/۳۱

بحث

داده‌های مورفولوژیک و فنولوژیک

در این تحقیق تنوع فنوتیپی برای بیشتر صفات مورفولوژیک بالا و برای صفات فنولوژیکی پایین بود. نتایج مشابهی توسط Mahdikhani و همکاران (۲۰۰۷) و Kohanmo و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. صفات

با تنوع زیاد قابلیت بالایی برای بکارگیری در اهداف اصلاحی دارند. بالا بودن میزان تنوع ممکن است به علت اختلافات جمعیتی افراد یا به علت اختلافات شرایط محیطی و یا حتی اثرات متقابل جمعیت و محیط باشد، پایین بودن تنوع صفات فنولوژیک، نشان‌دهنده عدم تأثیر یا تأثیر اندک محیط در تظاهر این صفات است (Martinez et al., 2003).

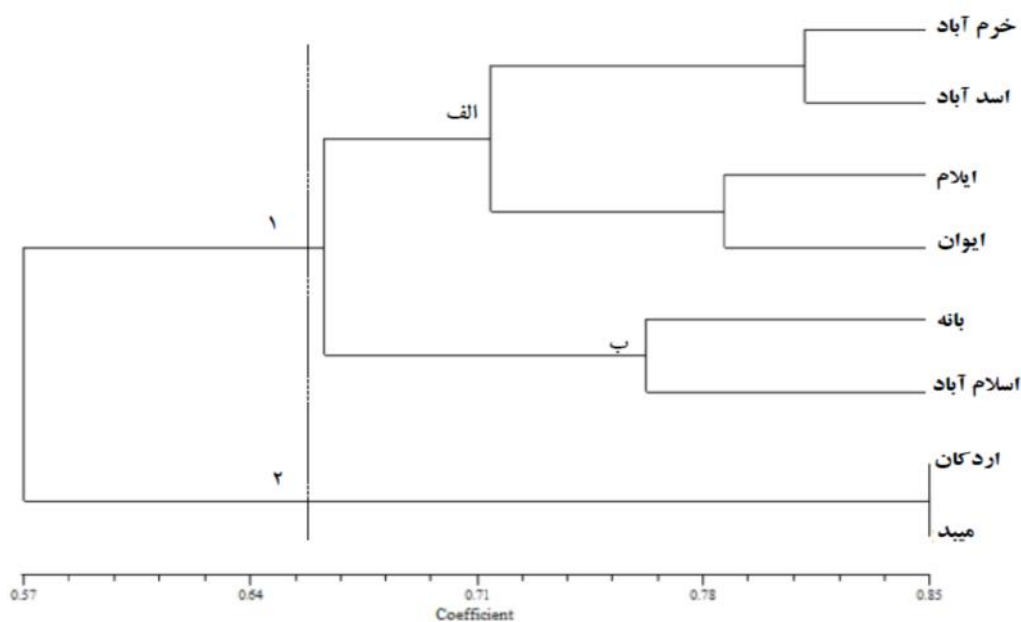
جدول ۷- ماتریس فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های بابونه زاگرسی

ایلام	اسلام‌آباد	ایوان	اسدآباد	بانه	خرم‌آباد	میبد	جمعیت
۰/۲۳۲	۰/۱۸۳	۰/۲۲۴	۰/۲۴۴	۰/۴۲۳	۰/۳۰۷	۰/۰۰۹	اردکان
۰/۲۴۴	۰/۱۸۳	۰/۲۲۹	۰/۲۵۶	۰/۴۳۹	۰/۳۱۵		میبد
۰/۰۹۳	۰/۰۴۶	۰/۰۷۴	۰/۱۶۹	۰/۲۱۶			خرم‌آباد
۰/۱۴۲	۰/۲۰۶	۰/۱۴۴	۰/۰۶۶				بانه
۰/۰۹۲	۰/۱۳۶	۰/۱۱۷					اسدآباد
۰/۰۳۷	۰/۰۷۲						ایوان
۰/۰۹۰							اسلام‌آباد

جدول ۸- نتایج تجزیه واریانس مولکولی برای جمعیت‌های بابونه زاگرسی

براساس داده‌های حاصل از کاربرد نشانگرهای ISSR

درصد واریانس	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
۴۵	۳۱/۹۳**	۲۲۳/۵	۷	بین جمعیت‌ها
۵۵		۲۳۴/۰	۵۶	درون جمعیت‌ها
۱۰۰		۴۵۷/۵	۶۳	کل



شکل ۱- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی ۸ جمعیت بابونه زاگرسی با استفاده از الگوریتم UPGMA

مقادیر بالای ارتفاع و پوشش تاجی نیز برخوردار بودند. از نتایج ارتفاع زیاد بوته، تشکیل برگ‌های جدید با قابلیت

بالاترین مقادیر وزن خشک سرشاخه مربوط به جمعیت‌های اردکان، خرم‌آباد و بانه بود. این جمعیت‌ها از

برداشت عملکرد اسانس مطلوبی را عرضه کند. جمعیت‌های اردکان و خرم‌آباد نیز به دلیل داشتن مقادیر بالای وزن خشک و درصد و عملکرد اسانس برای بهره‌برداران تجاری و مراکز تحقیقاتی که به امر کشت و اهلی کردن گیاهان دارویی می‌پردازند قابل توصیه است. جمعیت میبد نیز با توجه به دوره زمانی کم تا هنگام گلدهی و برداشت و در نتیجه نیاز به دوره‌های آبیاری کمتر، برای کشت در مناطق خشک و نیمه‌خشک مناسب است. Farhoudi و همکاران (۲۰۱۵) از همبستگی مثبت و به شدت معنی‌دار میان صفات درصد اسانس و عملکرد اسانس با صفت درصد کامازولن (به‌عنوان یکی از مهمترین ترکیب‌های اسانس بابونه) خبر داده‌اند، بنابراین می‌توان انتظار داشت جمعیت‌هایی مانند اردکان و خرم‌آباد که از مقادیر بالای درصد و عملکرد اسانس برخوردارند، از مقادیر بالای کامازولن نیز بهره‌مند باشند. البته اظهار نظر قطعی در این مورد نیازمند تحقیقات بیشتر است.

وجود همبستگی دوگانه میان برخی صفات مورفولوژیک و فنولوژیک در گونه‌های بابونه پیش از این گزارش شده است. همچنانکه Alizadeh و همکاران (۲۰۱۵) همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات روز تا گلدهی و روز تا برداشت، وزن خشک و وزن تر، ارتفاع بوته و سطح تاج پوشش (کانوبی) و عملکرد اسانس و وزن تر و خشک سرشاخه، Pirkhezri و همکاران (۲۰۰۹) ارتباط مثبت و معنی‌دار بین صفات طول برگ با عرض برگ و طول و عرض برگ با ارتفاع بوته و Farhoudi و همکاران (۲۰۱۵) نیز همبستگی مثبت و معنی‌دار بین درصد و عملکرد اسانس را بیان کرده‌اند. در این تحقیق نیز همبستگی مستقیم و معنی‌دار بین صفات یادشده و همچنین برخی دیگر از صفات مشاهده شد. ارتباط مستقیم و به شدت معنی‌دار بین صفات فنولوژیک زمان گلدهی و زمان برداشت در دو حالت همبستگی دوگانه و جزئی دلالت بر آن دارد که در برنامه‌های اصلاحی برای افزایش یا کاهش طول دوره رشد، می‌توان با بررسی تعداد روز تا گلدهی، تخمین مناسب و قابل قبولی از طول دوره رشد گیاه داشت و انتخاب را زودتر

بالای جذب نور خورشید بر فراز برگ‌های قدیمی است که این امر در کنار پوشش تاجی زیاد بوته، شرایط مناسبی را برای جذب بهینه نور خورشید و در نتیجه بهبود فتوسنتز و تولید ماده خشک فراهم می‌سازد (Taiz & Zeiger, 2010). در حالی که جمعیت ایلام از بالاترین میزان صفت روز تا برداشت برخوردار است و از نظر عملکرد اسانس در رتبه چهارم در بین جمعیت‌ها قرار می‌گیرد. با توجه به اینکه تنش محیطی (از جمله تنش گرما) سبب می‌شود که گیاه به‌منظور مقابله با شرایط تنش، اقدام به مصرف ماده خشک تولیدی نماید (Taiz & Zeiger, 2010)، بنابراین به نظر می‌رسد که طولانی بودن دوره رشد جمعیت ایلام و همزمانی دوره پایانی رشد گیاه با گرمای تابستان، سبب کاهش مقدار ماده خشک این جمعیت گردیده، به طوری که با وجود بالا بودن درصد اسانس، این جمعیت از عملکرد اسانس نسبتاً پایینی برخوردار است، در مقابل جمعیت اردکان به سبب زودرس بودن و در نتیجه حفظ ماده خشک تولیدی (این جمعیت بالاترین مقدار ماده خشک تولیدی را در بین جمعیت‌ها به خود اختصاص داده است)، از عملکرد اسانس قابل توجهی با وجود پایین بودن درصد اسانس برخوردار است. با توجه به اینکه مشخص شده است کاربرد کودهای اوره و فسفات در مقادیر بهینه، از طریق افزایش عملکرد گل، موجبات افزایش عملکرد اسانس را فراهم می‌آورد (Dadkhah et al., 2012)، می‌توان با کاربرد کودهای یادشده مقدار عملکرد اسانس را در جمعیت‌های میبد، بانه و ایوان که از مقادیر کم این صفت برخوردارند، تا حدودی افزایش داد.

از میان جمعیت‌های مورد مطالعه، جمعیت ایلام بدلیل دوره زمانی قابل توجه از هنگام کاشت تا زمان گلدهی و برداشت، برای مناطق گرمسیر که فصل رشد طولانی دارند قابل توصیه است. همچنین با توجه به اینکه طولانی شدن دوره رشد بابونه، باعث تداوم گلدهی و در نتیجه فراهم شدن امکان برداشت چندین نوبت گل می‌شود (Gasic et al., 1991)، در صورت فراهم شدن رطوبت کافی برای جمعیت ایلام در فصل تابستان، می‌توان انتظار داشت که این جمعیت با وجود عملکرد اسانس متوسط، بتواند در مجموع دوره‌های

با توجه به سیستم پراکنش دانه گرده در گیاهان جنس بابونه (*Anthemidae*) که عمدتاً از طریق حشرات و در بعضی از گونه‌ها توسط باد انجام می‌شود (Mozaffarian, 2007) و فاصله جغرافیایی قابل توجه میان رویشگاه‌های مرکز کشور و دامنه‌های رشته کوه زاگرس، امکان تبادل ژنتیکی و مهاجرت ژن بین این جمعیت‌ها در مناطق مرکزی و غربی کشور اندک است. این امر سبب تفکیک جمعیت‌های متعلق به هر اقلیم در گروه‌های مجزا شده است، به طوری که جمعیت‌های خرم‌آباد، اسلام‌آباد، ایلام و ایوان به همراه جمعیت‌های بانه و اسدآباد در گروه اول و جمعیت‌های میبد و اردکان در گروه دوم قرار گرفته‌اند. چون این جمعیت‌ها در هر گروه از تفاوت ژنتیکی قابل توجهی با اعضای گروه دیگر برخوردارند، بنابراین می‌توان از طریق تلاقی اعضای یک گروه با اعضای گروه دیگر به نتایج برتر دست یافت. در این تحقیق، جمعیت‌های بانه و میبد با بیشترین فاصله ژنتیکی (۰/۴۳۹) در میان جمعیت‌های مورد مطالعه، متمایزترین جمعیت‌ها بودند. بنابراین می‌توان این دو جمعیت را به عنوان والد در برنامه‌های دورگ‌گیری برای اصلاح بابونه زاگرسی و بدست آوردن حداکثر هتروزیس استفاده کرد.

ارتباط میان تنوع ژنتیکی و توزیع جغرافیایی در برخی گونه‌های معطر زیر تیره *Anthemidae* از جمله بومادران پیش از این گزارش شده است (Rahimmalek *et al.*, 2009). در این تحقیق نیز الگوی تنوع ژنتیکی بر پایه داده‌های مولکولی مطابقت خوبی با توزیع جغرافیایی جمعیت‌ها نشان داد که این امر نشان‌دهنده کارایی مطلوب نشانگرهای ISSR در تمایز بین جمعیت‌های متعلق به نواحی مختلف است. همچنین ضریب همبستگی کوفنتیک برای ضریب تشابه جاکارد، ۰/۸ بود که نشان‌دهنده برازش خوب بین دندروگرام داده‌های مولکولی و ماتریس تشابه است. نتایج آزمون منتل برای تشخیص همبستگی بین ماتریس‌های تشابه حاصل از نشانگرهای مولکولی و فنوتیپی نشان داد که بین نشانگر ISSR و داده‌های

انجام داد. همچنین می‌توان با استفاده از صفاتی مانند تاج پوشش گیاه، عملکرد ماده تر و خشک، زمان گلدهی، زمان برداشت و درصد اسانس به عنوان معیار انتخاب، عملکرد اسانس را افزایش داد. در این میان با توجه به مقادیر مثبت و نسبتاً بالای ضریب همبستگی جزئی میان صفت عملکرد اسانس با صفات درصد اسانس و زمان‌های گلدهی و برداشت که نشانگر اثر مستقیم و بدون واسطه این صفات بر مقدار عملکرد اسانس است، به نظر می‌رسد که با گزینش و یا بهره‌گیری از جمعیت‌های با مقادیر بالای صفات یادشده برای دورگ‌گیری، می‌توان با ضریب اطمینان بالاتری به ارقام اصلاحی با عملکرد بالای اسانس دست یافت.

داده‌های مولکولی

میانگین درصد چندشکلی مشاهده شده برابر با ۶۸/۳۶٪ بود که نشان‌دهنده قابل قبول بودن نسبی میزان تنوع ژنتیکی در مجموعه مورد مطالعه است. شاخص PIC توان تمایز هر آغازگر را از طریق تعداد آلل‌ها در یک مکان ژنی و فراوانی نسبی آلل‌ها تعیین می‌کند (Muminovi *et al.*, 2004). بیشترین میزان شاخص PIC برای آغازگر ۷-۱ و پس از آن P_۵ بود. این امر نشان می‌دهد که این دو آغازگر بهتر از سایر آغازگرها توانسته‌اند فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها را نشان داده و از توان تفکیک بالایی برخوردارند. شاخص نشانگر (MI) علاوه بر مزایای شاخص PIC، تعداد نوارهای چندشکل و نسبت چندشکلی را نیز در نظر گرفته و قابلیت هر آغازگر را برای تولید نوار چندشکل بیشتر نشان می‌دهد (Powell *et al.*, 1996). بیشترین مقدار شاخص نشانگر مربوط به آغازگر P_۵ بود که نشان‌دهنده کارایی بالای این آغازگر در تولید نوارهای چندشکل بر اثر تکثیر نواحی مختلف ژنومی است. بالا بودن میزان شاخص نشانگر در کنار مقدار زیاد شاخص PIC آغازگر P_۵، نشان‌دهنده سودمندی قابل توجه این آغازگر در بررسی تنوع ژنتیکی بابونه زاگرسی بود، بنابراین در مطالعات آینده می‌توان از آن برای تجزیه مجموعه ژرم‌پلاسم جمعیت‌های بابونه بهره برد.

منتشر شده در مورد خطر انقراض جهانی حدود یک چهارم از گونه‌های گیاهان دارویی به علت برداشت بی‌رویه یا نابودی مراتع و بیشه‌زارها (Roberson, 2008)، برنامه‌ریزی به منظور حفظ تنوع جمعیت‌های گونه بابونه زاگرسی در زیستگاه‌های طبیعی برای استفاده در برنامه‌های اصلاحی آینده، لازم به نظر می‌رسد.

منابع مورد استفاده

- Alizadeh, M.A., Adeli, N., Mohammadi, M. and Jafari, A.A., 2015. Evaluation of morphological, physiological traits and essential oil yield in some chamomile populations of *Anthemis haussknechtii* species. Applied Field Crops Research (Pajouhesh & Sazandegi), 28(106): 185-192.
- Celebi, A., Texen, M., Acik, L. and Aytac, Z., 2006. Taxonomic relationships in genus *Fritillaria* (Liliaceae): Evidence from RAPD-PCR and SDS PAGE of seed proteins. Acta Botanica Hungarica, 50: 325-343.
- Dadkhah, A., Amini Dehghi, M. and Kafi, M., 2012. Investigating the effect of different levels of nitrogen and phosphorus fertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile. Iranian Journal of Field Crops Research, 10(2): 321-326.
- Denduangboripant, J., Sornsuda, S. and Wilasinee, S., 2010. Determination of local tobacco cultivars using ISSR molecular marker. Chiang Mai Journal of Science, 37(2): 293-303.
- Eftekhari, M., 2011. Study of Genetic and Morphological Diversity of Some Chamomile Masses. M.Sc. thesis, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources of the Tehran University, 175p.
- Endler, J.A., 1977. Geographical Variation, Speciation and Clines. Princeton, NJ, USA: Princeton University Press, 252p.
- Fares, K., Guasmi, F., Touil, L., Triki, T. and Ferchichi, A., 2009. Genetic diversity of *Pistachio* tree using Inter-Simple Sequence Markers (ISSR) supported by morphological and chemical markers. Biotechnology, 8(1): 24-34.
- Farhoudi, R., Fateh, E. and Rahnama-Ghahfarokhi, A., 2015. The effect of sowing date and different urea fertilizer levels on quality and quantity of chamomile (*Matricaria recutita*, Perso genotype) in Shoushtar climate condition. Iranian Journal of Field Crops Research, 13(2): 248-255.
- Gasic, O., Lukic, V. and Adomovic, O., 1991. The Influence of sowing and harvest time on the

مورفولوژیک همبستگی معنی‌دار وجود ندارد ($r=0/18$). با توجه به اینکه داده‌های مولکولی تمام سطح ژنوم و داده‌های فنوتیپی تنها بخش‌های رمزکننده ژنوم را پوشش داده و به شدت تحت تأثیر محیط می‌باشند، عدم ارتباط معنی‌دار میان داده‌های فنوتیپی و مولکولی، قابل توجیه است. البته عدم تطابق نتایج حاصل از داده‌های مورفولوژیک و مولکولی توسط Roldan-Ruiz و همکاران (۲۰۰۱) و Celebi و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش شده است.

در گیاهان دارویی سنتی، مانع عمده در دستیابی به عملکرد اسانس بالا، فقدان تنوع ژنتیکی است. بنابراین، آگاهی از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های طبیعی، امکان انتخاب مؤثر جمعیت‌ها به منظور بهبود عملکرد اسانس را فراهم می‌کند (Rahimmalek et al., 2009). مطالعه تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌های این تحقیق نشان داد که تنوع خوبی در بین و درون جمعیت‌ها وجود دارد، به طوری که امکان استفاده از آنها در تلاقی‌ها برای بهره‌برداری از حداکثر هتروزیس و تولید نسل‌های در حال تفرق برای گزینش جمعیت‌های برتر میسر است. با توجه به اینکه در گونه‌های دگر بارور، سطح پایینی از درجه تمایز ژنی دیده می‌شود و بیشترین مقدار تنوع مربوط به درون جمعیت‌هاست (Hamrick & Godt, 1997)، اختصاص بخش عمده تنوع به درون جمعیت‌ها در گونه بابونه زاگرسی قابل انتظار بود. البته وجود تغییرات ژنتیکی درون جمعیتی را می‌توان به عنوان یک مزیت برای گونه‌ها در شرایط محیطی بی‌ثبات دانست (Endler, 1997). همچنین سطح بالای تنوع ژنتیکی درون جمعیتی، امکان گزینش والدین برتر را از میان افراد هر جمعیت میسر می‌سازد.

در حالی که عمده برنامه‌های اصلاحی مراکز تحقیقاتی در زمینه گونه بابونه زاگرسی بر پایه خصوصیات مورفولوژیک انجام شده است، این تحقیق اهمیت مطالعات مولکولی همراه با داده‌های مورفولوژیک را در آشکارسازی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها برای انتخاب والدین مناسب در برنامه‌های دورگ‌گیری نشان داد. با توجه به تنوع ژنتیکی قابل توجه میان جمعیت‌های مورد ارزیابی و گزارش‌های

- of parthenolide, on breast cancer cell line. *Journal of Medicinal Plants and by Products*, 5(2): 205-210.
- Pirkhezri, M., Hassani, M.E. and Tabatabai, M.F. 2009. Morphological evaluation of some chamomile species in two genera, *Anthemis* and *Matricaria* in Iran (*Matricaria* spp., *Anthemis* spp.). *Journal of Horticultural Sciences*, 23(2): 119-130.
 - Pirkhezri, M., Hassani, M.E. and Hadian, J., 2010. Genetic diversity in different population of *Matricaria chamomilla* L. growing in southwest of Iran, based on morphological and RAPD markers. *Research Journal of Medicinal Plant*, 4(1): 1-13.
 - Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalski, A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*, 2: 225-238.
 - Rechinger, K.H., 1986. *Flora Iranica* (No. 158). Akademische Druck- U. Vernagsanstalt, Graz-Austria.
 - Rahimmalek, M., Sayed, T.B.E., Arzani, A. and Etemadi, N., 2009. Assessment of genetic diversity among and within *Achillea* species using amplified fragment length polymorphism (AFLP). *Biochemistry Systematic Ecology*, 37: 354-361.
 - Roberson, E., 2008. *Medicinal plants at risk*. Native Plant Conservation Campaign, Tucson, 19p.
 - Roldan-Ruiz, F.A., Galliland, T.J., Dubreuil, C., Dillman, C. and Lallemand, J., 2001. A comparative study of molecular and morphological methods of describing relationships between perennial ryegrass (*Lilium perenne* L.) varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 1161-1168.
 - Salehi, P., Sonboli, A., Barami, Z. and Mazraati, F., 2008. Chemical constituent of the essential oil and antioxidant activity of various extracts of *Anthemis haussknechtii* (Asteraceae) from Iran. *Planta Medica*, 74(11): 1345-1351.
 - Siddiqui, M.H., Oad, F.C. and Jmaro, G.H., 2006. Emergence and nitrogen use efficiency of maize under different tillage operation and fertility levels. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5(3): 508-510.
 - Taiz, L. and Zeiger, E., 2010. *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, 782p.
 - essential oil of *Matricaria recuita* L. Rauschert. *Journal of Essential Oil Research*, 3(5): 295-302.
 - Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W., 1997. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species: 102-118. In: Silvertown, J., (Ed.). *Plant Life Histories, Ecology, Phylogeny and Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 307p.
 - Kohanmo, M.A., Aghaalkhani, M., Rezazadeh, Sh. and Rejali, F., 2010. Investigation on the possibility of growth and comparison of some of the agronomical and phytochemical characteristics of Chamomile population of three natural habitats of Iran in Bushehr province. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 11(2): 87-98.
 - Lin, X.C., You, Y.F., Liu, J., Peng, J.S., Liao, G.L. and Fang, W., 2010. Crossbreeding of *Phyllostachys* species (Poaceae) and identification of their hybrids using ISSR markers. *Genetics and Molecular Research*, 9(3): 1398-1404.
 - Mahdikhani, H., Soloki, M., Zeinali, M. and Imamjomeh, E., 2007. Genetic variation of *Matricaria chamomilla* on the basis of morphological traits. *Third Conference of Medicinal Plants*, Shahed University, Tehran, 26-27 January: 17.
 - Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalised regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220.
 - Martinez, L., Cavagnaro, P. and Masuelli, R., 2003. Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. *Electronic Journal Biotechnology*, 6(3): 241-250.
 - Mozaffarian, V., 2007. *Flora of Iran* (No. 59). Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran.
 - Muminovi, J., Melchinger, A.E. and Lübberstedt, T., 2004. Genetic diversity in corn salad (*Valerianella locusta* L.) and related species determined by AFLP markers. *Plant Breeding*, 123: 460-466.
 - Nazeri, S., Jafari, N., Rabiei, Z., Tahmasebi Enferadi, S. and Behroozi, R., 2016. Growth inhibitory effect of *Anthemis haussknechtii* root extract, as a source

Morphological, phonological and molecular diversity in Iranian populations of *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut.

M. Mottaghi^{1*}, P. Salehi Shanjani², A.A. Jafari³, M. Mirza⁴ and M.R. Bihamta⁵

1*- Corresponding author, Researcher, Seed and Plant Improvement Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Hamedan, Iran, E-mail: m.motaghi@areeo.ac.ir

2- Natural Resources Gene Bank, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

3- Department of Rangeland Research, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

4- Department of Medicinal Plants Research, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

5- Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources University of Tehran, Karaj, Iran

Received: September 2017

Revised: March 2018

Accepted: March 2018

Abstract

Molecular, morphological and phenological markers were used to detect genetic diversity in several populations of *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut. growing in six different provinces in center and west of Iran. Variance analysis of morphological and phenological traits showed that all traits were significantly different among populations. Essential oil percentage, number of flowering stems and flower diameter showed the highest coefficient of variation (45.76, 38.76 and 32.86%, respectively). Six ISSR primers revealed 55 polymorphic bands, of which 38 (69.1%) were polymorphic. The ranges of distance between populations were varied from 0.009 to 0.439. According to the derived dendrogram from UPGMA, at a similarity level of 0.66, the populations were divided into two main groups. Grouping populations based on molecular markers was in accordance with geographical grouping. Among the populations, Ilam population is recommended for tropical areas with proper irrigation conditions, Ardakan and Khorramabad populations for commercial operators and research centers and Maybod population for cultivation in arid and semi-arid regions. Wide domain of genetic variation in this study could be considered as an available gene pool for *A. haussknechtii* improvement through selection and hybridization programs. Therefore, conservation strategies should be provided to maintain such diversity to apply in future breeding programs.

Keywords: *Anthemis haussknechtii* Boiss. & Reut., selection, diversity, ISSR.