

تجزیه ژنتیکی برخی صفات کمی آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak) در شرایط تنش شوری از طریق آزمون پلی کراس

امیرعلی شایان^۱، مجید شکرپور^{۲*}، وحیده ناظری^۳، مصباح بابالار^۳ و علی اشرف مهرابی^۴

۱- دانشجوی دکترا، گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

پست الکترونیک: shokrpour@ut.ac.ir

۳- استاد، گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴- دانشیار، بخش زیست فناوری مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۱

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۴۰۱

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۱

چکیده

توسعه کشت آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak) سازگار به شرایط محیطی خاص از طریق اصلاح جمعیت، نیازمند ایجاد یک خزانه ژنتیکی غنی از ژنوتیپ‌های برتر و بهره‌برداری از این تنوع برای شناسایی ژنوتیپ‌های با ترکیب‌پذیری بالا می‌باشد. در این پژوهش، به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی و میزان ترکیب‌پذیری اکوتیپ‌های مختلف آویشن دنايي در شرایط شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. فاکتورها شامل تنش شوری (۰ و ۹۰ میلی‌مولار نمک NaCl) و اکوتیپ (۱۲ خانواده ناتنی حاصل از تلاقی پلی‌کراس بین ۱۲ اکوتیپ آویشن دنايي) بودند. شوری سبب کاهش معنی‌دار همه صفات (بجز مقادیر پرولین و کاروتنوئید) نسبت به شاهد گردید. اکوتیپ‌ها از نظر طول و عرض برگ، طول شاخه‌های جانبی، وزن خشک اندام‌های هوایی، میزان اسانس و پرولین اختلاف معنی‌دار داشتند. درصد اسانس و عرض برگ دارای بیشترین ضریب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی بودند. وراثت‌پذیری عمومی صفات مورد مطالعه از ۴/۶۱٪ (طول برگ) تا ۸۱/۰۷٪ (عرض برگ) متغیر بود. بیشترین میزان وراثت‌پذیری به عرض برگ، میزان اسانس و وزن خشک اندام‌های هوایی اختصاص داشت. با توجه به میزان بالای ضریب تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی، وراثت‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی میزان اسانس و وزن خشک اندام‌های هوایی، از این صفات می‌توان به‌عنوان مهم‌ترین معیارهای انتخاب والدین در برنامه‌های اصلاحی آویشن دنايي نام برد. نتایج نشان داد که اکوتیپ‌های ملایر ۲، زاغه، اراک و ایلام دارای ترکیب‌پذیری بالایی از نظر صفت میزان اسانس بودند. با توجه به تنوع ژنتیکی کافی مشاهده شده میان اکوتیپ‌های مطالعه شده و ترکیب‌پذیری مناسب آنها، راهبرد اصلاح جمعیت با تولید ارقام ساختگی (ترکیبی) را می‌توان برای به‌نژادی این گونه در شرایط نرمال (بدون تنش) و شوری توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: آویشن دنايي (*Thymus daenensis* Celak)، تنش شوری، ترکیب‌پذیری عمومی، خانواده ناتنی، رقم سنتتیک.

مقدمه

تنش شوری، یکی از مهمترین عوامل محدودکننده در تولید محصولات کشاورزی به ویژه در نواحی نیمه خشک و خشک جهان است. براساس آمار سازمان خواربار جهانی، شوری خاک سالیانه سبب از دست رفتن بیش از ۱/۵ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی، کاهش قابلیت تولیدات کشاورزی به میزان ۴۶ میلیون هکتار در سال و متضرر شدن کشاورزان به میزان ۳۱ میلیون دلار در سال می‌گردد (FAO, 2021). متأسفانه روند شوری اراضی تحت کشت به سرعت در حال افزایش است و سبب کاهش تولیدات کشاورزی و عدم ثبات و امنیت غذایی در جهان می‌گردد. در نواحی نیمه خشک و خشک، معمولاً میزان بارش سالیانه کمتر از ۲۵۴ میلی‌متر و میزان تبخیر در حدود ۱۰۰۰ میلی‌لیتر است؛ همین عامل باعث عدم شستشوی خاک از یون‌هایی از قبیل سدیم و کلر شده و تجمع این یونها در ریزوسفر (محیط اطراف ریشه) سبب شور شدن خاک و آب آبیاری می‌گردد (Siringam et al., 2011).

در شرایط تنش شوری، یون‌های سدیم و کلر موجود در محیط ریزوسفر، جذب سلول‌های گیاهی شده و با ایجاد عدم تعادل یونی، سمیت یونی و فشار اسمزی، کم آبی فیزیولوژی را به همراه دارد (Santos, 2004). در این شرایط تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژی و مورفولوژی در گیاهان نیز اتفاق می‌افتد (Acosta-Motos et al., 2017). در گیاهان دارویی، پاسخ به شوری بر حسب سطح تنش (ملایم، متوسط و شدید)، گونه گیاهی و زمان مواجه شدن با تنش، متفاوت است، به طوری که بیشتر گیاهان در سطح بالاتر از ۱۰۰ میلی‌مولار، عوارض تنش شوری را از خود بروز می‌دهند (Aziz et al., 2008). زمان قرار گرفتن گیاه در معرض تنش شوری نیز اهمیت فراوانی در میزان صدمات حاصل از تنش دارد، به طوری که مواجه گیاهان با شوری در مراحل خاصی مانند جوانه‌زنی و گلدهی، منجر به تنش بیشتر آنها در مقایسه با سایر مراحل رشد می‌گردد (Khoshokhan et al., 2014). واکنش گیاهان به سطح تنش شوری نیز حائز اهمیت است، به طوری که اثر تنش

ملایم بر گیاهان دارویی به‌عنوان نوعی محرک (Elicitor) برای افزایش مواد مؤثره (متابولیت‌های ثانوی) عمل می‌کند، در حالی که در تنش شدید عملکرد آنها محدود خواهد شد (Munns & Gilliam, 2015).

یکی از مهمترین گیاهان دارویی و بومی ایران، آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak subsp.) از جنس آویشن (*Thymus*) و از تیره نعناعیان (Lamiaceae) است (Emami Bistgani et al., 2019). ترکیب شیمیایی اسانس این گیاه غنی از متابولیت‌های تیمول و کارواکرول است. این دو متابولیت از ارزش دارویی فراوانی برخوردار هستند و در طب سنتی نیز کاربرد گسترده‌ای در درمان برخی بیماری‌ها دارند (Ghasemi et al., 2013; Pirbalouti et al., 2018; Tohidi et al., 2018). نتایج پژوهش‌های قبلی نشان داده است که میزان تیمول و کارواکرول در این گونه به مراتب بیشتر از سایر گونه‌ها به ویژه گونه‌های اهلی و اصلاح شده آویشن باغی است (Mohammadi et al., 2020; Rustaiee et al., 2013).

رویشگاه طبیعی این گیاه عمدتاً نواحی نیمه خشک و خشک ایران، از قبیل ارتفاعات بلند دامنه کوه‌های زاگرس و برخی مناطق البرز می‌باشد. تنوع بالای این گونه در رویشگاه‌های طبیعی منجر به سازگاری مناسب آن با شرایط محیطی این نواحی شده است (Rahimmalek et al., 2009). آویشن دناپی، به دلایل مختلف مانند برداشت‌های بی‌رویه برای مصارف طب سنتی، تولید کم زیست‌توده در رویشگاه‌های طبیعی، چرای دام‌ها و تغییرات اقلیمی در معرض محدود شدن رویشگاه‌ها و در شرایط تداوم عوامل مورد اشاره در معرض انقراض قرار خواهد گرفت. با توجه به ارزش بالای دارویی اسانس آویشن دناپی و توان سازگاری آن با بیشتر مناطق ایران، از این گیاه به‌عنوان یک خزانه ژنی ارزشمند در اصلاح آویشن باغی و نیز به‌عنوان یک کاندید مناسب برای توسعه یک رقم اهلی شده برای کشت و تولید یاد شده است (Jamzad, 2010). در راستای تجاری‌سازی گیاهان دارویی و تولید ارقامی با کمیت و کیفیت بالای مواد مؤثره و برخورداری گیاه از ویژگی‌هایی

گزینش می‌گردد (Falconer & Mackay, 1996). تنوع ژنتیکی در آویشن به دلایل ژنتیکی (مانند دگرگشتی و تنوع جنسی) و محیطی (سن جمعیت، نوع آب و هوا، حاصلخیزی خاک و تراکم بوته‌ها) چشمگیر است. دگرگشتی شدید در این گیاه به علل مختلف از جمله پدیده ماده-دوجنسی (Gynodioecious) است، به طوری که جنسیت بوته‌ها در یک جمعیت آویشن به طور مجزا به شکل هرمافرودیت و یا ماده می‌باشد. این عامل به همراه پدیده آمادگی زود هنگام (Protandry) دانه‌های گرده نسبت به اندام مادگی برای لقاح (Protandry) در بوته‌های هرمافرودیت میزان خودگرده‌افشانی را کاهش می‌دهد (Thompson, 2002).

اصلاح جمعیت‌های ناهمگن و تولید ارقام سنتتیک از روش‌های به‌نژادی گیاهان دگرگرده‌افشان با تولیدمثل جنسی است. از مراحل مهم تولید ارقام سنتتیک، انتخاب والدین یا اکوتیپ‌های مناسب از میان جمعیت‌های برتر است. روش‌های ارزیابی والدین شامل ارزیابی خود والدین، نتاج حاصل از خودباروری آنها و یا برآورد ترکیب عمومی آنها به کمک آزمون پلی‌کراس و یا تاپ‌کراس است که روش پلی‌کراس روشی مرسوم می‌باشد (Monirifar, 2010). در این روش، انتخاب والدین مناسب مبتنی بر قابلیت آنها در ترکیب با والد و یا والد‌های دیگر از نظر یک صفت خاص است که در واقع نمایانگر عمل افزایشی زن‌ها می‌باشد (Aastveit & Aastveit, 1990).

معمولاً از آزمون پلی‌کراس برای سنجش توان ترکیب‌پذیری عمومی ژنوتیپ‌ها استفاده می‌شود و نتیجه این فعالیت‌ها معرفی والدین یا ژنوتیپ‌های برتر از نظر ترکیب‌پذیری عمومی است و از این ژنوتیپ‌ها برای ایجاد یک خزانه ژنی جدید و یا تولید ارقام سنتتیک استفاده می‌شود (Wricke & Weber, 1986). تاکنون در برنامه‌های اصلاحی از آزمون پلی‌کراس برای معرفی ارقام سنتتیک در گیاهان دارویی مختلف از قبیل درمنه شرقی (*Artemisia scoparia*)، مریم‌گلی (*Salvia miltiorrhiza*)، دم‌شیر (*Leonurus japonicus*)، زیره (*Carum carvi*) (Heuberger, 2010) و اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) (Hassiotisa et al., 2010) استفاده شده است.

مانند امکان برداشت مکانیزه، جوانه‌زنی یکنواخت و تحمل تنش‌های محیطی ضروریست (Bernath, 2002).

پاسخ گیاهان دارویی به شرایط شوری برحسب مراحل رشد و عملکرد متفاوت است. در مقایسه با سایر مراحل رشد، اثر مخرب تنش شوری در مراحل جوانه‌زنی و گلدهی گیاهان بیشتر است (Charles et al., 1990). نتایج پژوهش‌های قبلی نشان داد که شوری باعث کاهش صفات رشد از قبیل وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، تعداد شاخه‌های جانبی، طول شاخه‌های جانبی، تعداد برگ‌ها و طول برگ‌ها می‌گردد. اما در شرایط شوری ملایم درصد اسانس و برخی ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس افزایش می‌یابد و در تنش شدید (بالتر از ۱۰۰ میلی‌مولار) کاهش عملکرد اسانس را به دنبال دارد (Babaie et al., 2010؛ Khoshokhan et al., 2014؛ Hosseini et al., 2015؛ Emami Bistgani, et al., 2019).

برای بهبود ژنتیکی تحمل شوری و تسهیل در گزینش صفات در راستای طراحی یک برنامه اصلاحی کارآمد، کسب اطلاعات در مورد سازوکارهای دخیل در تحمل تنش شوری و کنترل ژنتیکی آنها حیاتی است (Ashraf, 1994). اگرچه شناسایی شاخص گزینش برای تحمل تنش شوری مشکل است، ولی می‌توان با بکارگیری تکنیک‌های غربالگری سریع مبتنی بر صفاتی با وراثت‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی بالا، گزینش گیاهان متحمل به تنش شوری را تسهیل کرد. مقایسه قابلیت عملکرد ژنوتیپ‌ها در شرایط عدم تنش و تنش نیز یک روش مناسب دیگر برای شناسایی و گزینش تحمل به شوری است (Rosielle & Hamblin, 1981).

در برنامه‌های به‌نژادی، گزینش ژنوتیپ‌های مناسب نیازمند کسب اطلاع از وضعیت ژنتیکی کمی از جمعیت‌های پایه می‌باشد. به عبارت دیگر، لازم است اطلاعاتی در مورد ریخته ژنتیکی، وراثت‌پذیری، اثر متقابل ژنوتیپ و محیط و پیش‌بینی بازده ژنتیکی مورد انتظار به وسیله گزینش بدست آید (Monirifar, 2010). وراثت‌پذیری به همراه پیشرفت ژنتیکی بالا نشان‌دهنده سهم زیاد ژن‌های افزایشی در کنترل صفات است که منجر به تسهیل بهبود صفات از طریق

روز/شب)، هفته‌ای دو بار با محلول غذایی پایه (Babalar *et al.*, 2010) تغذیه شدند و عملیات داشت گیاهان به‌طور یکسان انجام شد. این پژوهش به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و سه نمونه در هر تکرار اجرا گردید. عامل‌های آزمایش فاکتوریل شامل خانواده‌های ناتنی (۱۲ اکوتیپ آویشن دناپی) و تنش شوری بود. عامل تنش شوری در دو سطح صفر و ۹۰ میلی‌مولار نمک (NaCl) در نظر گرفته شد و پس از چهار هفته از رشد و سرزنی بوته‌ها برای یکسان‌سازی اندازه آنها تنش شوری اعمال گردید.

بدین ترتیب گیاهان هفته‌ای دو بار با محلول غذایی پایه و نیز محلول غذایی حاوی ۹۰ میلی‌مولار نمک به‌ترتیب برای اعمال سطوح شاهد و شوری آبیاری شدند. برای حذف اثر تجمعی نمک در محیط کشت، هفته‌ای یک‌بار گلدان‌ها با آب شهری شستشو داده شدند. پس از رسیدن به مرحله حداکثر گلدهی، صفات تعداد برگ، طول برگ، تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد میانگره، طول میانگره، وزن خشک اندام‌های هوایی، مقدار پرولین (Bates *et al.*, 1973)، مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئید (Mousa *et al.*, 2007) و درصد اسانس اندازه‌گیری شد.

برای استخراج اسانس و سنجش درصد و عملکرد اسانس، ابتدا بخش‌های هوایی گیاهان از هر گلدان برداشت شد و بعد در سایه و در دمای اتاق (حدود ۲۵ درجه سلسیوس) و در شرایط سایه خشک گردید، پس از توزین و بودردن آنها به کمک دستگاه خردکننده الکتریکی، استخراج اسانس آنها با استفاده از روش تقطیر با آب با استفاده از دستگاه کلونجر براساس فارماکوپه بریتانیا (Pharmacopoeia, 1988) به مدت سه ساعت انجام شد. اسانس حاصل توسط سولفات سدیم رطوبت‌زدایی گردید و میزان اسانس آن اندازه‌گیری شد. محتوای اسانس برحسب میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم ماده خشک براساس میانگین وزن خشک سه بوته در هر گلدان (عملکرد ماده خشک در هر بوته) محاسبه و گزارش گردید (Jaimand & Rezaee, 2004).

در این راستا، Mohammadi و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی میزان ترکیب‌پذیری عمومی برخی صفات کمی و کیفی در جمعیت‌های مختلف آویشن دناپی در شرایط بدون تنش، گزارش کردند که اکوتیپ‌های ایلام، ملایر ۲، مرکزی ۱ و مرکزی ۲ برای تولید ارقام سینتتیک و یا خزانه ژنتیکی جدید مناسب هستند.

تاکنون مطالعات اندکی در مورد بررسی میزان تنوع ژنتیکی و فنوتیپی، وراثت‌پذیری و ترکیب‌پذیری عمومی آویشن دناپی در شرایط تنش شوری انجام شده است. هدف از این پژوهش برآورد پارامترهای ژنتیکی و ترکیب‌پذیری صفات مختلف اکوتیپ‌های مختلف آویشن دناپی در شرایط تنش شوری برای شناسایی جمعیت‌های برتر و ایجاد خزانه ژنتیکی و معرفی یک رقم سنتتیک بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش، خانواده‌های ناتنی حاصل از تلاقی پلی‌کراس بین ۱۲ اکوتیپ آویشن دناپی بود. تلاقی‌های پلی‌کراس بین والدین و تولید خانواده‌ها در ایستگاه تحقیقات باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شده است. مشخصات اکوتیپ‌های والدینی در جدول ۱ آمده است. برای انجام آزمون پلی‌کراس تعداد ۹ ژنوتیپ از هر خانواده (در مجموع $9 \times 12 = 108$) و تعداد ۶ قلمه سالم و یکنواخت از هر ژنوتیپ تهیه و در یک بستر حاوی ماسه در گلخانه واحد زیست‌فناوری گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی ایلام کشت شد. به منظور ریشه‌دار شدن قلمه‌ها، از محلول ریشه‌زای حاوی IBA به غلظت ۵۰۰ ppm به مدت ۳ دقیقه استفاده گردید (Iapichino *et al.*, 2006). پس از ریشه‌دار شدن و رشد کافی، گیاهچه‌های یکنواخت به گلدان‌های پلاستیکی (به حجم ۵ لیتر و قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر) حاوی مخلوطی از پرلایت، کوکوبیت و خاک زراعی (۱:۱:۱) منتقل شدند.

گیاهان در گلخانه با شرایط محیطی یکسان (دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری به نسبت ۸/۱۶ ساعت

جدول ۱- اکوتیپ‌های آویشن دناپی مورد استفاده در مطالعه

Table 1. *Thymus daenensis* ecotypes used in study

Ecotype No.	Ecotype name	Collection place*
1	Khanemiran	Markazi
2	Lorestan	Lorestan
3	Isfahan 1	Isfahan
4	Ilam	Ilam
5	Malayer 1	Hamadan
6	Arak	Markazi
7	Zagheh	Lorestan
8	Malayer 2	Hamadan
9	Fars	Fars
10	Isfahan 2	Isfahan
11	Markazi 1	Markazi
12	Markazi 2	Markazi

*Thyme collection of Horticulture Department, Agriculture College, Tehran University.

میانگین هر صفت محاسبه شدند (Lothrop *et al.*, 1985).
 MSg میانگین مربعات ژنوتیپ‌ها (تیمار)، PCV ضریب تغییرات فنوتیپی و GCV ضریب تغییرات ژنوتیپی می‌باشد. برآورد وراثت‌پذیری خصوصی (h^2) بازده ژنتیکی (ΔG) صفات از طریق فرمول‌های زیر محاسبه شد. در این فرمول، σ_A^2 یا V_A واریانس ژنتیکی افزایشی، برآوردی از واریانس ترکیب‌پذیری عمومی (واریانس ژنتیکی)، برآورد واریانس خطا در جدول تجزیه واریانس، h^2 وراثت‌پذیری خصوصی، k شدت گزینش در سطح ۵٪ و جذر واریانس فنوتیپی صفت می‌باشد (Nguyen & Sleeper, 1983).

$$h^2 = \frac{\sigma^2 A}{\sigma^2 P} = \frac{4\sigma^2 gca}{\frac{\sigma^2 e}{r} + 4\sigma^2 gca}$$

$$\Delta G = k h^2 \sigma_p$$

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این آزمایش و محاسبات مربوطه با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS ver 9.1 انجام شد.

پس از بررسی مقدماتی داده‌ها و نحوه پراکنش داده‌ها، همگنی واریانس تیمارهای آزمایشی به وسیله آزمون لون و نرمال بودن پراکنش داده‌ها به وسیله آزمون کولموگروف-اسمیرنوف با استفاده از SPSS ver 26 انجام شد. پس از تأیید مفروضات تجزیه واریانس، تجزیه داده‌ها براساس طرح آزمایشی مربوطه انجام گردید.

$$V_G = (MSg - Mse)/r$$

$$V_P = V_G + V_E$$

$$PCV = \frac{\sqrt{V_P}}{\bar{x}} \times 100$$

$$GCV = \frac{\sqrt{V_G}}{\bar{x}} \times 100$$

میزان ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) برای صفات مختلف از اختلاف بین میانگین هر توده و میانگین کل محاسبه شد. اجزای واریانس ژنتیکی از طریق امید ریاضی میانگین مربعات برآورد گردید. ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنتیکی به ترتیب به صورت نسبت انحراف معیار فنوتیپی و ژنتیکی به

جدول ۲- تجزیه واریانس برخی صفات خانواده‌های ناتنی آویشن دنايي در شرایط تنش شوری

Table 2. ANOVA of some traits in half-sib families of *Thymus daenensis* under salinity stress conditions

M.S.

S.O.V.	d.f.	Leaf number	Leaf length	Leaf width	Internode number	Internode length	Lateral branches number	Lateral branches length	Aerial parts dry weight	Essential oil content	Proline	Total chlorophyll	Carotenoids
Block	2	122.82*	0.38 ^{n.s.}	0.89**	33.77 ^{n.s.}	0.53 ^{n.s.}	29.64*	24.87*	27.76**	3.01 ^{n.s.}	40.40**	0.14 ^{n.s.}	0.00 ^{n.s.}
Salinity stress (S)	1	4294.53**	117.26**	7.76**	1091.11**	128.11**	610.01**	250.59**	21.59**	7.29**	335.67**	3.01**	0.14**
Family (F)	11	37.86 ^{n.s.}	1.85*	0.54**	21.75 ^{n.s.}	0.07 ^{n.s.}	12.13 ^{n.s.}	15.28*	2.34**	4.26*	7.96**	0.20 ^{n.s.}	0.01 ^{n.s.}
S*F	11	55.18 ^{n.s.}	1.78 ^{n.s.}	0.12 ^{n.s.}	12.64 ^{n.s.}	0.03 ^{n.s.}	2.88 ^{n.s.}	4.57 ^{n.s.}	0.77 ^{n.s.}	1.47 ^{n.s.}	2.04 ^{n.s.}	0.02 ^{n.s.}	0.00 ^{n.s.}
Experimental error	46	32.23	0.92	0.07	15.39	0.04	6.11	7.07	0.76	1.40	2.62	0.12	0.00
C.V. (%)	%	9.85	11.95	13.14	14.20	12.61	16.60	17.68	18.62	35.01	9.27	16.37	14.98

n.s., *, and **: non-significant, significant at 5 and 1% of probability levels, respectively.

نتایج

تجزیه واریانس داده‌های ۱۲ خانواده ناتنی آویشن دناپی (جدول ۲) نشان داد که سطوح تنش شوری اثر معنی‌داری در سطح احتمال $\alpha=0.01$ بر تمام صفات مورد مطالعه داشت. شوری سبب کاهش همه صفات (بجز پرولین و کاروتنوئید) گردید و بیشترین افت ناشی از تنش شوری در صفات طول میانگه (۳۸/۹۰-٪)، تعداد شاخه‌های جانبی (۲۹/۳۹-٪) و طول برگ (۲۸/۲۷-٪) مشاهده شد (جدول ۳). در مقایسه با سایر صفات مورد مطالعه (بجز پرولین و کاروتنوئید)، میزان کلروفیل کل و میزان اسانس پاسخ ملایم‌تری به تنش شوری داشتند، به طوری که در مقایسه با شرایط عدم تنش، میزان افت در این صفات به ترتیب ۱۷/۲۴-٪ و ۱۹/۴۹-٪ مشاهده گردید. تنش شوری همچنین سبب افزایش میزان پرولین (۲۸/۱۵-٪) و کاروتنوئید (۲۳/۶۸-٪) در مقایسه با شرایط عدم تنش گردید. نتایج همچنین نشان داد که خانواده‌ها از

نظر طول برگ و طول شاخه و درصد اسانس در سطح احتمال $\alpha=0.05$ و عرض برگ، وزن اندام‌های هوایی و پرولین در سطح احتمال $\alpha=0.01$ اختلاف معنی‌داری با هم داشتند. اثر متقابل بین عامل شوری (S) و خانواده (F) معنی‌دار نبود (جدول ۲).

پارامترهای ژنتیکی تغییرپذیری ژنوتیپی و فنوتیپی و وراثت‌پذیری برای صفات متفاوت در جدول ۴ نمایش داده شده است. واریانس فنوتیپی برای کلیه صفات بیشتر از واریانس ژنوتیپی بود و دامنه تغییرات واریانس فنوتیپی از ۴۱/۹۲ (تعداد برگ) تا ۰/۰۱ (کاروتنوئید) نوسان داشت. اما بیشترین واریانس ژنوتیپی به تعداد میانگه (۱۰/۸۴) و کمترین آن به کاروتنوئید (۰/۰۰۴) اختصاص داشت. در مقایسه با سایر صفات مورد مطالعه، اختلاف میزان واریانس فنوتیپی (۰/۳۸) و ژنوتیپی (۰/۳۱) در صفت عرض برگ ناچیز بود. در مورد میزان اسانس در اکوتیپ‌های آویشن دناپی، میزان واریانس فنوتیپی و ژنوتیپی به ترتیب ۳/۳۵ و ۱/۹۵ مشاهده شد.

جدول ۳- آماره‌های توصیفی برخی صفات خانواده‌های ناتنی آویشن دناپی در شرایط عدم تنش و تنش شوری

Table 3. Descriptive statistics of some traits in half-sib families of *Thymus daenensis* under non-stress and salinity stress conditions

Traits	Mean + S.E.			Range	
	Non-stress	Salinity stress	Reduction (%)	Non-stress	Salinity stress
Leaf number	65.59 ± 6.50	49.11 ± 6.32	-25.12**	53.33-78.00	34.66-61.00
Leaf length (mm)	9.34 ± 1.23	6.70 ± 0.92	-28.27**	6.87-12.43	4.73-8.70
Leaf width (mm)	2.37 ± 0.46	1.71 ± 0.38	-27.95**	1.47-3.49	1.15-2.57
Internode number	31.65±4.40	23.31 ± 3.73	-26.34**	23.00-45.67	16.00-34.67
Internode length (mm)	7.05 ± 1.38	4.31 ± 1.00	-38.90**	4.20-9.70	2.70-6.80
Lateral branches number	16.81 ± 3.26	11.87 ± 2.18	-29.39**	7.33-23.00	9.50-25.00
Lateral branches length (cm)	17.63 ± 3.01	13.11 ± 2.88	-25.64**	12.00-24.00	5.00-16.33
Aerial parts dry weight (g)	5.20 ± 1.50	4.12 ± 1.21	-20.86**	2.48-9.12	1.70-6.54
Essential oil content (%)	3.54 ± 1.41	2.85 ± 1.43	-19.49**	0.81-6.36	1.09-6.47
Total chlorophyll (mg.g ⁻¹ leaf dry weight)	2.32 ± 0.31	1.92 ± 0.39	-17.24**	1.63-2.86	1.03-2.82
Proline (μmol.mg ⁻¹ leaf dry weight)	15.31 ± 1.82	19.62 ± 2.45	28.15**	11.51-20.78	15.67-25.16
Carotenoids (mg.g ⁻¹ leaf dry weight)	0.38 ± 0.06	0.47 ± 0.07	23.68**	0.29-0.50	0.34-0.62

** : significant change at 1% probability level.

خشک بود. از نظر این صفت، بیشترین میزان ترکیب پذیری در اکوتیپ‌های ملایر ۲ (۰/۰۵)، زاغه (۰/۰۲)، ایلام (۰/۰۱) و اراک (۰/۰۱) و کمترین آن در اکوتیپ اصفهان ۲ (۰/۰۲-) مشاهده شد. در این راستا، عرض برگ نیز دارای تنوع ژنتیکی و فنوتیپی بالایی بوده و میانگین این صفت در میان اکوتیپ‌های نانتی آویشن دنایی ۲/۰۴ میلی‌متر بود و اکوتیپ‌های مرکزی ۲ (۰/۶۸)، زاغه (۰/۴۴) و ملایر ۲ (۰/۰۶) دارای بیشترین میزان ترکیب‌پذیری و اکوتیپ‌های اصفهان ۱ (۰/۵۲-) و ایلام (۰/۲۱-) کمترین ترکیب‌پذیری را نشان دادند.

براساس یافته‌های این پژوهش، میانگین وزن خشک اندام هوایی در اکوتیپ‌های آویشن دنایی ۴/۶۸ گرم بود که بالاترین ترکیب‌پذیری از نظر این صفت به اکوتیپ‌های اراک (۱/۲۲)، ملایر ۲ (۰/۸۰) و زاغه (۰/۶۰) اختصاص داشت، در حالی که کمترین آن در اکوتیپ‌های لرستان (۰/۶۲-)، خانه‌میران (۰/۶۱-) و اصفهان ۲ (۰/۵۳-) به دست آمد. همچنین میانگین تعداد برگ در بین اکوتیپ‌های آویشن دنایی ۵۷/۳۵ بود که بیشترین مقدار ترکیب‌پذیری عمومی در اکوتیپ‌های زاغه (۵/۴۸)، فارس (۲/۷۶) و اصفهان ۲ (۱/۹۳) مشاهده شد و اکوتیپ‌های ایلام، ملایر ۲ و مرکزی ۱ کمترین میزان ترکیب‌پذیری را نشان دادند. میانگین طول برگ در بین اکوتیپ‌های مورد مطالعه ۷/۹۸ میلی‌متر بود و بالاترین میزان ترکیب‌پذیری عمومی در اکوتیپ‌های لرستان (۰/۶۸) و ملایر ۱ (۰/۶۳) و کمترین میزان آن در اکوتیپ‌های اصفهان ۲ (۰/۹۶-) و ایلام (۰/۷۷-) مشاهده شد.

در مورد صفت پرولین، میانگین کل اکوتیپ‌ها ۱۷/۴۶ بود که اکوتیپ‌های اراک (۲/۱۰)، زاغه (۱/۹۱) و ملایر ۱ (۱/۳۲) بیشترین میزان ترکیب‌پذیری عمومی را نشان دادند ولی اکوتیپ‌های اصفهان ۱ (۱/۹۲-)، مرکزی ۱ (۰/۸۳-) و اصفهان ۲ (۰/۷۳-) کمترین میزان ترکیب‌پذیری را داشتند. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که میانگین کلروفیل کل در همه اکوتیپ‌های آویشن دنایی ۲/۱۳ بود که بیشترین میزان ترکیب‌پذیری آن به اکوتیپ‌های مرکزی ۱ (۰/۳۳) و اصفهان ۲ (۰/۲۷) و کمترین به لرستان (۰/۲۸-) و ملایر ۱ (۰/۱۵-) اختصاص داشت.

نتایج جدول ۴ نیز نشان داد که بیشترین میزان ضریب تنوع فنوتیپی به میزان اسانس (۵۷/۱۹٪) و کمترین آن به تعداد برگ (۱۱/۲۹٪) اختصاص داشت. به علاوه، میزان ضریب تنوع ژنتیکی صفات مورد مطالعه از ۴۳/۵۲٪ (میزان اسانس) تا ۲/۶۳٪ (طول برگ) متغیر بود. به طور کلی، میزان تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی صفات عرض برگ و میزان اسانس نسبت به سایر صفات بالاتر بود. براساس نتایج بدست آمده میزان وراثت‌پذیری خصوصی از ۴/۶۱٪ (طول برگ) تا ۸۱/۰۷٪ (عرض برگ) متغیر بود. به علاوه، میزان وراثت‌پذیری صفات کلروفیل کل (۶۰/۹۱٪)، میزان اسانس (۵۸/۸۸٪)، وزن خشک اندام‌های هوایی (۵۵/۷۰٪) و طول شاخه‌های جانبی (۵۱/۶۶٪) در سطح بالایی بود ولی میزان آن در مقدار پرولین (۹/۰۹٪) و تعداد برگ (۱۱/۲۶٪) در سطح پایینی مشاهده شد. نتایج این آزمایش نشان داد که بیشترین میزان پیشرفت ژنتیکی به صفات تعداد میانگره (۷/۹۵)، تعداد شاخه جانبی (۶/۱۴) و طول شاخه جانبی (۶/۴۴) اختصاص داشت و کمترین مقدار آن در صفات پرولین (۰/۱۵)، طول برگ (۰/۱۶) و کاروتنوئید (۰/۱۶) مشاهده گردید. در این پژوهش، مقدار پیشرفت ژنتیکی صفت میزان اسانس ۳/۶۵ بود.

نتایج همبستگی صفات نشان داد (جدول ۵) که بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات تعداد برگ و تعداد میانگره (**۰/۸۷)، طول میانگره و تعداد شاخه جانبی (**۰/۷۶) و تعداد برگ و تعداد شاخه جانبی (**۰/۷۵) مشاهده شد. همچنین، ارتباط مثبت و معنی‌داری بین میزان اسانس و وزن خشک اندام هوایی (**۰/۵۴) و میزان اسانس و طول برگ (**۰/۴۶) بدست آمد. همچنین، ارتباط معنی‌دار و منفی بین پرولین و طول برگ (**۰/۴۹-)، پرولین و طول میانگره (**۰/۴۶-) مشاهده شد. پایین‌ترین میزان همبستگی بین مقادیر پرولین و وزن خشک اندام هوایی (۰/۱۲)، مقدار پرولین و طول شاخه جانبی (۰/۱۶-) و میزان اسانس و کاروتنوئید (۰/۱۹-) حاصل گردید.

مقادیر ترکیب‌پذیری عمومی (GCA) صفات مختلف در جدول ۶ نشان داده شده است. میانگین میزان اسانس در اکوتیپ‌های آویشن دنایی ۰/۰۴ میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم ماده

جدول ۴- پارامترهای ژنتیکی برخی صفات خانواده‌های ناتنی آویشن دنايي

Table 4. Genetic parameters of some traits in half-sib families of *Thymus daenensis*

Traits	Variance components		C.V. (%)		h ²	ΔG (5%)
	Phenotypic	Genotypic	Phenotypic	Genotypic		
Leaf number	41.92	4.72	11.29	3.79	11.26	2.65
Leaf length (mm)	0.95	0.044	12.24	2.63	4.61	0.16
Leaf width (mm)	0.38	0.304	30.08	27.08	81.07	1.71
Internode number	27.67	10.84	19.14	11.98	39.18	7.95
Internode length (mm)	2.24	0.944	26.36	17.10	42.07	2.31
Lateral branches number	12.06	6.04	23.43	16.58	50.08	6.14
Lateral branches length (cm)	14.48	7.48	25.33	18.21	51.66	6.44
Aerial parts dry weight (g)	1.70	0.948	27.89	20.81	55.70	2.79
Essential oil content (%)	3.35	1.95	57.19	43.52	58.18	3.65
Proline (μmol.mg ⁻¹ leaf dry weight)	0.13	0.012	23.02	16.28	9.09	0.15
Total chlorophyll (mg.g ⁻¹ leaf dry weight)	6.83	4.16	14.97	11.68	60.91	6.04
Carotenoids (mg.g ⁻¹ leaf dry weight)	0.01	0.004	21.25	15.03	50.00	0.16

h²: narrow-sense heritability; ΔG: genetic advance.

جدول ۵- ضرایب همبستگی پیرسون برخی صفات خانواده‌های ناتنی آویشن دنايي

Table 5. Pearson correlation coefficients of some traits in half-sib families of *Thymus daenensis*

Traits	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Leaf number	1											
2. Leaf length	0.67**											
3. Leaf width	0.58**	0.65**										
4. Internode number	0.87**	0.57**	0.48**									
5. Internode length	0.67**	0.67**	0.65**	0.63**								
6. Lateral branches number	0.75**	0.65**	0.49**	0.72**	0.76**							
7. Lateral branches length	0.41**	0.49**	0.33	0.38	0.51**	0.48**						
8. Aerial parts dry weight	0.41**	0.32	0.45**	0.36	0.31	0.30	0.49**					
9. Essential oil content	0.37	0.46**	0.37	0.25	0.34	0.318	0.43**	0.54**				
10. Total chlorophyll	0.41**	0.24	0.39	0.38	0.32	0.29	0.24	0.32	0.17			
11. Proline	-0.46**	-0.49**	-0.37	-0.38	-0.46**	-0.38	-0.16	0.12	-0.18	-0.43**		
12. Carotenoids	-0.53**	-0.47**	-0.24	-0.61**	-0.54**	-0.57**	-0.34	-0.32	-0.19	-0.25	0.25	1

**: significant at 1% probability level.

جدول ۶- ترکیب‌پذیری عمومی برخی صفات خانواده‌های ناتنی آویشن دناپی

Table 6. General combinability of some traits in half-sib families of *Thymus daenensis*

Traits	Ecotypes												
	Mean	Khanemiran	Lorestan	Isfahan1	Ilam	Malayer1	Arak	Zagha	Malayer2	Fars	Isfahan2	Markazi1	Markazi2
Leaf number	57.35	-0.57	-0.41	2.43	-3.96	-1.19	0.98	5.48	-3.74	2.76	1.93	-3.07	1.21
Leaf length	7.98	0.46	0.68	-0.17	-0.77	0.63	-0.13	-0.45	-0.08	0.42	-0.96	-0.61	0.46
Leaf width	2.04	-0.02	0.02	-0.52	-0.21	0.07	-0.06	0.44	0.06	-0.13	-0.09	-0.09	0.68
Internode number	27.48	0.18	0.07	3.18	-2.87	-1.43	0.24	2.43	-1.76	3.18	-1.29	-1.54	0.40
Internode length	5.68	1.05	1.27	-0.10	-0.45	0.31	0.23	-0.45	-0.08	0.01	-0.50	-0.99	-0.44
Lateral branches number	14.82	2.79	0.81	0.85	-1.32	1.09	-0.15	1.47	-2.60	0.24	-1.44	-0.49	-0.76
Lateral branches length	15.02	-1.44	0.48	0.37	-1.72	3.20	2.73	-1.15	0.42	-1.44	-0.55	-0.27	-1.02
Aerial parts dry weight	4.68	-0.61	-0.62	-0.50	-0.38	0.42	1.22	0.60	0.80	0.15	-0.53	-0.08	-0.25
Essential oil content	0.04	-0.01	-0.01	-0.01	0.01	0.00	0.01	0.02	0.05	0.00	-0.02	-0.01	-0.01
Proline	17.46	0.42	-0.59	-0.72	-1.24	1.32	2.10	1.91	-0.19	0.28	-1.92	-0.71	-0.02
Total chlorophyll	2.13	0.00	-0.28	-0.06	-0.06	-0.17	-0.15	-0.11	-0.05	0.12	0.27	0.33	0.12
Carotenoids	0.42	-0.02	-0.03	-0.01	-0.01	-0.02	-0.05	0.02	0.03	0.00	0.06	0.01	0.04

بحث

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) حکایت از عدم وجود اثر متقابل خانواده و تنش بود، به عبارت دیگر پاسخ خانواده‌های ناتنی اکوتیپ‌های آویشن دناپی به سطوح تنش شوری از روند یکسانی برخوردار بودند. در شرایط تنش شوری همه صفات مورد مطالعه (بجز مقدار پرولین و کاروتنوئید) کاهش معنی‌داری نشان دادند. در این مورد، بیشترین میزان کاهش در شرایط تنش شوری به طول میانگرمه (۳۸/۹۰-٪) و تعداد شاخه جانبی (۲۹/۳۹-٪) اختصاص داشت که از صفات ذکر شده می‌توان به‌عنوان شاخص‌های ریختی پاسخ گیاهان آویشن دناپی به تنش شوری نام برد. پاسخ خانواده‌های آویشن دناپی به شوری از نظر کلروفیل کل و میزان اسانس در مقایسه با سایر صفات ریختی ملایم‌تر بود، به طوری که نسبت به شرایط بدون تنش کاهشی به ترتیب برابر ۱۷/۲۴٪ و ۱۹/۴۹٪ تجربه کردند. نتایج تجزیه واریانس همچنین نشان داد که شوری اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل و پرولین در گیاه آویشن داشته، به طوری که با افزایش سطح شوری میزان کلروفیل کاهش ولی میزان پرولین در گیاه افزایش یافت.

وجود ارتباط منفی بین کلروفیل و پرولین ممکن است به دلیل وجود ماده پیش‌ساز مشترک کلروفیل و پرولین (گلوتامات) باشد که در زمان تنش صرف تولید پرولین می‌گردد و مقدار کمی از آن صرف تولید کلروفیل می‌گردد (Rahdari et al., 2012). علت دیگر این ارتباط، ممکن است به دلیل اثر تحریکی تنش شوری بر فعالیت آنزیم لیگاز گلوتامات باشد که این آنزیم نقش مهمی در تبدیل گلوتامات به پرولین ایفا می‌کند. کاهش کلروفیل در شرایط تنش ممکن است به دلیل عوامل دیگری از قبیل تجمع یون‌های مضر در کلروپلاست و تخریب مولکول‌های کلروفیل توسط تنش‌های اکسیداتیو باشد (Hosseini et al., 2015). کاهش تعداد مولکول‌های کلروفیل منجر به کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی و تولید متابولیت‌های اولی و در نهایت کاهش رشد گیاهان می‌گردد. کاهش رشد برگ‌ها و تغییر در اندازه آنها اولین

پاسخ فیزیکی گیاهان به تنش‌ها می‌باشد که همین عامل سبب کاهش سطح برگ می‌شود، در نتیجه کاهش ظرفیت کل فتوسنتزی گیاه را به دنبال دارد (Udagawa et al., 1995؛ Sultana et al., 1999)، در این شرایط، تولید فرآورده‌های فتوسنتزی از قبیل متابولیت‌های اولیه و انرژی مورد نیاز گیاه کاهش می‌یابد. کاهش وزن تر و خشک گیاه و کاهش تعداد و طول شاخه‌های جانبی از عوارض کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی است که از یافته‌های این پژوهش می‌باشد و با یافته‌های پژوهش‌های قبلی همخوانی دارد (Bernstein et al., 2010؛ Hosseini et al., 2015؛ Jaleel et al., 2007؛ Aziz et al., 2008).

عوامل محیطی بر تشکیل و تجمع اسانس در گیاهان دارویی تأثیر مهمی دارد. تنش شوری، تنش غیر زیستی است که با کاهش تولید فرآورده‌های فتوسنتزی سبب کاهش رشد گیاهان می‌شود. مشابه این پژوهش، نتایج یافته‌های قبلی نیز نشان داد که تنش ملایم شوری سبب افزایش میزان اسانس در گیاهان مرزه تابستانه *Satureja hortensis* (Baher et al., 2002)، مریم‌گلی (Hendawy & Khalid, 2005) و آویشن باغی (Ezz El-Din et al., 2009) می‌گردد. بنابراین به نظر می‌رسد تنش شوری ملایم با تحریک و افزایش فضاها تولید اسانس و همچنین دخالت در تخصیص فرآورده‌های فتوسنتزی به تولید متابولیت‌های ثانوی سبب افزایش عملکرد اسانس شود ولی در شوری شدید به دلیل کاهش تولید متابولیت‌های اولی و اختلال در فعالیت‌های فتوسنتزی و کاهش فعالیت‌های آنزیمی و متابولیسمی، سنتز متابولیت‌های ثانوی کاهش می‌یابد و انرژی گیاه صرف حفظ بقای خود می‌شود، در نتیجه میزان اسانس گیاهان کاهش می‌یابد (Morales, 2002). نتایج این پژوهش نشان داد که شوری (۹۰ میلی‌مولار) سبب کاهش میزان اسانس در گیاهان آویشن دناپی می‌گردد و با یافته‌های قبلی در مورد اثر تنش شوری بر گیاهان دارویی بادرنجبویه (Ozturk et al., 2004)، شوید (Riaz et al., 2007) و بابونه (Hornok, 1996) همخوانی دارد.

نتایج نشان داد (جدول ۲) که بین خانواده‌های ناتنی آویشن دنايي از نظر صفات طول برگ، طول شاخه‌های جانبی، میزان اسانس، عرض برگ، وزن اندام‌های هوایی و پرولین اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بنابراین می‌توان گفت که این صفات نقش مهمی در ایجاد تنوع بین اکوتیپ‌ها ایفاء کرده‌اند. در این آزمایش، میزان تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی صفات میزان اسانس، عرض برگ و وزن خشک اندام‌های هوایی در مقایسه با سایر صفات بالا بود (جدول ۴). بخشی از تنوع ذکرشده در عرض برگ ممکن است به دلیل تنوع سنی برگها روی بوته‌ها باشد. به‌هرحال، تنوع فنوتیپی و ژنتیکی صفات درصد اسانس و وزن خشک اندام‌های هوایی از اهمیت خاصی برخوردار است و از این تنوع می‌توان در بهبود فعالیت‌های اصلاحی این گیاه استفاده کرد. در مطالعات قبلی، میزان بالایی از ضریب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی میزان اسانس در بادرنجبویه *Dracocephalum moldavica* (Salamaty & Yosefi., 2014) گزارش شده است. در پژوهشی دیگر توسط Yavari و همکاران (۲۰۱۵) بیشترین ضرایب تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی در گیاه سرخارگل (*Echinacea angustifolia*) به صفات وزن تر، وزن خشک، تعداد گل و تعداد انشعاب از قاعده و کمترین به زمان گلدهی اختصاص داشت.

وراثت‌پذیری مهمترین پارامتر در مطالعات ژنتیکی صفات کمی است و در تصمیم‌گیری برای گزینش یک صفت خاص نقش حیاتی ایفاء می‌کند. به عبارت دیگر، وراثت‌پذیری نشان‌دهنده کارایی گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب براساس فنوتیپ موجود می‌باشد. وراثت‌پذیری معیاری است که نوع روش اصلاحی و قدرت توارث هر صفت را برای گیاه مشخص می‌کند و در واقع بیان‌کننده سهم تغییرات ژنتیکی از کل تغییرات فنوتیپی است (Conner & Hartl, 2004).

میزان وراثت‌پذیری صفات در گیاهان متفاوت می‌باشد و در منابع قبلی صفاتی که میزان وراثت‌پذیری آنها بیش از ۵۰٪ باشد صفاتی با توارث‌پذیری بالا و صفاتی که توارث‌پذیری آنها بین ۲۰٪ تا ۵۰٪ باشد صفاتی با

توارث‌پذیری متوسط و صفاتی که توارث‌پذیری آنها کمتر از ۲۰٪ باشد صفاتی با توارث‌پذیری پایین طبقه‌بندی شده است (Stansfield, 1991). بر این اساس، تعداد زیادی از صفات مورد مطالعه از جمله عرض برگ (۸۱/۰۷٪)، کلروفیل کل (۶۰/۹۱٪)، میزان اسانس (۵۸/۱۸٪)، وزن خشک اندام‌های هوایی (۵۵/۷۰٪)، طول شاخه (۵۰/۶۰٪)، تعداد شاخه جانبی (۵۰/۰۸٪) و مقدار کاروتنوئیدها (۵۰٪) وراثت‌پذیری بالایی داشتند. براساس یافته‌های این تحقیق، میزان اسانس در اکوتیپ‌های آویشن دنايي دارای وراثت‌پذیری بالایی است که بتوان از آن به‌عنوان شاخصی برای انتخاب اکوتیپ‌های مناسب در شرایط شوری استفاده کرد. در تحقیق دیگری، میزان وراثت‌پذیری بالای میزان اسانس (۶۵٪) در بادرنجبویه گزارش شد (Rahimi et al., 2017) که با یافته‌های این پژوهش همخوانی داشت. البته بالا بودن ضریب تنوع ژنتیکی به‌مراه میزان بالای وراثت‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی، شرایط انتخاب ژنوتیپ‌های برتر را تسهیل می‌کند (Immanuel et al., 2011).

اگرچه وراثت‌پذیری بالا میزان پاسخ به گزینش را براساس ویژگی‌های فنوتیپی تا سطح قابل قبولی تضمین می‌کند اما میزان پیشرفت ژنتیکی مورد انتظاری را در هنگام گزینش بهترین ژنوتیپ‌ها ارائه نمی‌کند. به همین دلیل، برآورد دقیق اثر گزینش نیازمند تعیین همزمان میزان وراثت‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی صفات است. در این پژوهش، بیشترین میزان پیشرفت ژنتیکی با شدت گزینش ۵٪ به صفات تعداد میانگرمه (۷/۹۵) و کمترین به پرولین (۰/۱۵) اختصاص داشت. اگرچه عرض برگ دارای بالاترین میزان وراثت‌پذیری بود، ولی میزان پیشرفت ژنتیکی آن پایین (۱/۷۱) بود. پایین بودن میزان پیشرفت ژنتیکی عرض برگ با وجود بالا بودن میزان وراثت‌پذیری عمومی آن ممکن است به دلیل اثرهای غالبیت و اپیستازی ژن‌های کنترل‌کننده این صفت باشد (Falconer & Mackay, 1996). به همین دلیل، همیشه وراثت‌پذیری بالا با پیشرفت ژنتیکی بزرگ همراه نیست. نتایج بدست آمده نشان داد که بالاترین میزان وراثت‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی به صفت

ایلام، ملایر ۱ و ۲ و مرکزی ۱ تعلق داشت (Mohammadi *et al.*, 2019). از صفات مهم دیگر با تنوع ژنتیکی و وراثت پذیری بالا می‌توان به عرض برگ اشاره کرد. از نظر این صفت، اکوتیپ‌های زاغه و مرکزی ۲ بیشترین ترکیب پذیری را نشان دادند. از نظر وزن خشک اندام‌های هوایی، بیشترین میزان ترکیب پذیری به اکوتیپ‌های اراک، ملایر ۲ و زاغه اختصاص داشت. در مورد بیشتر صفات از قبیل میزان اسانس، عرض برگ، وزن خشک اندام‌های هوایی، تعداد میانگره، تعداد شاخه، تعداد برگ و پرولین، اکوتیپ زاغه جزو اکوتیپ‌های برتر با ترکیب پذیری بالا بود. به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که تنش شوری اثر معنی‌داری بر صفات کمی مورد بررسی آویشن دناپی داشته و سبب کاهش صفات ریختی و میزان اسانس گردید. بالاترین میزان تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی و وراثت پذیری به صفات درصد اسانس، عرض برگ و وزن خشک اندام‌های هوایی اختصاص داشت. با توجه به نقش درصد اسانس و وزن خشک اندام‌های هوایی در افزایش عملکرد میزان اسانس گیاه آویشن دناپی، انتخاب جمعیت‌های دارای صفات ذکر شده برای ایجاد رقم سنتتیک آویشن دناپی از اهمیتی زیادی برخوردار است. در این پژوهش، اکوتیپ‌های زاغه، ملایر ۲، اراک، فارس، ایلام و مرکزی ۲ دارای ترکیب پذیری بالایی از نظر صفات میزان اسانس و وزن خشک اندام‌های هوایی بودند. بنابراین پیشنهاد می‌شود از این اکوتیپ‌ها برای تولید واریته سنتتیک آویشن دناپی متحمل به شرایط تنش شوری استفاده گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان لازم می‌دانند از همکاری بی‌دریغ آقایان دکتر ناصر عباسی (مسئول بخش زیست‌فناوری و گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی ایلام)، دکتر فردین قنبری و دکتر فرشید فتاح‌نیا (از دانشگاه ایلام) تشکر و قدردانی نمایند.

میزان اسانس اختصاص داشت. انتخاب اکوتیپ‌های آویشن دناپی مبتنی بر این صفت که به‌طور همزمان وراثت پذیری و پیشرفت ژنتیکی بالایی دارد می‌تواند منجر به بهبود فعالیت‌های اصلاحی آویشن دناپی گردد.

مطالعه روابط همبستگی بین میزان اسانس و سایر صفات مورد مطالعه نشان داد که صفات وزن خشک اندام‌های هوایی (۰/۵۴)، طول برگ (۰/۴۶) و طول شاخه (۰/۴۳) همبستگی مثبت و معنی‌داری با میزان اسانس داشت. با توجه به نتایج بدست آمده، پیشنهاد می‌شود در برنامه‌های اصلاحی و گزینش اکوتیپ‌های با میزان اسانس بالا به این صفات توجه کافی شود. همچنین در پژوهش *Talle* و همکاران (۲۰۱۲)، همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات طول و عرض برگ، وزن خشک برگ در بوته و ساقه با عملکرد اسانس در گیاه دارویی بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) مشاهده شده است.

در مورد برخی صفات، ترکیب ژنوتیپ‌ها با هم نقش مهمی در اصلاح گیاهان و تولید ارقام سنتتیک ایفاء می‌نماید. ترکیب پذیری عمومی در واقع برآوردی از عمل افزایشی ژن و متوسط توانایی یک ژنوتیپ در ترکیب‌های مختلف است (Cristie & Hattuk., 1992). در این پژوهش، نتایج ترکیب پذیری عمومی نشان داد که پلی‌کراس می‌تواند باعث تمایز اکوتیپ‌های اولیه شده و روشی مناسب برای شناسایی اکوتیپ‌های برتر برای تولید واریته ساختگی در آویشن دناپی باشد (Mohammadi *et al.*, 2019).

از مهمترین صفات با ترکیب پذیری بالا برای ایجاد رقم سنتتیک برای انتخاب اکوتیپ‌های مناسب می‌توان به میزان اسانس، عرض برگ، طول برگ و وزن خشک اندام‌های هوایی اشاره کرد. از لحاظ میزان اسانس بیشترین میزان ترکیب پذیری عمومی به ترتیب به اکوتیپ‌های ملایر ۲، زاغه، ایلام و فارس اختصاص داشت. در تحقیقی دیگر، بیشترین میزان ترکیب پذیری از نظر درصد اسانس به اکوتیپ‌های

- Janick, J., (Ed.). Plant Breeding Review. John Wiley & Sons, 402p.
- Emami Bistgani, Z., Hashemi, M., DaCostab, M., Crakerb, L., Maggic, F. and Morshedloo, M., 2019. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. Industrial Crops and Products, 135: 311-320.
 - Ezz El-Din, A., Aziz, E., Hendawy, S. and Omer, E., 2009. Response of *Thymus vulgaris* L. to salt stress and alar (B9) in newly reclaimed soil. Journal Applied Science Research, 5(12): 2165-2170.
 - Falconer, D.S. and Mackay, T., 1996. Introduction to Quantitative Genetics. Longman, London, 464p.
 - FAO., 2021. Global Soil Partnership. Soil Salinity. Available at <http://www.fao.org/global-soil-partnership/areas-of-work/soil-salinity/en/>
 - Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M. and Taherian Ghahfarokhi, F., 2013. Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. Industrial crops and products, 48: 43-48.
 - Hassiotisa, C.N., Tarantilis, P.A., Daferera, D. and Polissiou, M.G., 2010. Etherio, a new variety of *Lavandula angustifolia* with improved essential oil production and composition from natural selected genotypes. Industrial Crops and Products, 32: 77-82.
 - Hendawy, S. and Khalid, Kh., 2005. Response of sage (*Salvia officinalis* L.) plants to zinc application under different salinity levels. Journal of Applied Sciences Research, 1: 147-155.
 - Heuberger, H., 2010. Cultivation and breeding of Chinese medicinal plant in Germany. Planta Medica. 76(17): 1956-1962.
 - Hornok, L., 1996. Essential oil of *Matricaria chamomilla* affected by irrigation regime and nitrogen in two cultivars. Journal of American Society of Horticultural Science, 13: 169-175.
 - Hosseini, H., Mousavi-Fard, S., Fatehi, F. and Qaderi, A., 2015. Changes in phytochemical and morpho-physiological traits of thyme (*Thymus vulgaris* CV Varico 3) under different salinity levels. Iranian Journal of Medicinal Plants, 16(61): 22-33.
 - Iapichino, G., Arnone, C., Bertolini, M. and Roxas, U., 2006. Propagation of three *Thymus* species by stem cuttings. Acta Horticulture, 723: 411-414.
 - Immanuel, S.C., Pothiraj, N., Thiyagarajan, K., Bharathi, M. and Rabindran, R., 2011. Genetic parameters of variability, correlation and path coefficient studies for grain yield and other yield attributes among rice blast disease resistant genotypes of rice (*Oryza sativa* L.). African Journal of Biotechnology, 10(17): 3322-3334.
 - Jaleel, C., Gopi, R., Sankar, B., Manivannan, P., Kishorekumar, A. and Sridharan, R., 2007. Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and

Reference

- Acosta-Motos, J.R., Hernández, J.A., Álvarez, S., Barba-Espín, G. and Sánchez-Blanco, M.J., 2017. Long-term resistance mechanisms and irrigation critical threshold showed by *Eugenia myrtifolia* plants in response to saline reclaimed water and relief capacity. Plant Physiology and Biochemistry, 111: 244-256.
- Aastveit, A.H. and Aastveit, K., 1990. Theory and application of open-pollination and polycross in forage grass breeding. Theoretical and Applied Genetics, 79: 618-624.
- Ashraf, M., 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences. 13: 17-42.
- Aziz, E., Al-Amier, H. and Craker, L., 2008. Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint. Journal of Herbs, Spices, & Medicinal Plants, 14: 77-87.
- Babaie, K., Jabbari, R., Amini Dehaghi, M. and Modares Sanav, A., 2010. Effect of saline stress on morphological, physiologic and chemical characteristics of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 86: 71-79.
- Babalar, M., Askari, M., Naderi, R., Kafi, M., Dani, H., Ahmadi, A., Zolfaghari, M., Salehi, F., Godarzi, M., Panahi, H., Shalahi, G.H., Rezaii, H. and Tadbiri, M., 2010. Zeoponic and phosphoneus nutrition of plants in Iranian Apetites. Final Research Project (N0. 84179). Iran National Science Foundation (INSF).
- Baher, Z., Mirza, M., Ghorbanli, M. and Rezaii, M., 2002. The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L. Flavour and Fragrance Journal, 17: 275-277.
- Bates, L.S., Waldern, R.P. and Tear, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
- Bernath, J., 2002. Strategies and recent achievements in selection of medicinal and aromatic plants. Acta Horticulture, 576: 115-128.
- Bernstein, N., Kravchik, M. and Dudai, N., 2010. Salinity-induced changes in essential oil, pigments and salts accumulation in sweet basil (*Ocimum basilicum*) in relation to alterations of morphological development. Annals of Applied Biology, 156: 167-177.
- Charles, D., Joly, R. and Simon, J., 1990. Effect of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. Phytochemical Analysis, 29: 2837-2840.
- Conner, J. and Hartl, D., 2004. A primer of ecological genetics. Sinauer Associates, Sunderland, 304p.
- Cristie, B.R. and hattuk, V., 1992. The diallel cross: design, analysis, and use for plant breeders: 9-36. In:

- Pharmacopoeia, B., 1988. Bernan Press. London: HMSO, 2: 137-138.
- Rahdari, P., Tavakoli, S. and Hosseini, S., 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 8(1): 182-193.
- Rahimi, M., Aharizad, S. and Mohebalipour, N., 2017. Evaluation of genetic diversity in populations of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) in terms of agronomic traits, essential oil and citral concentration. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 25(2): 271-288.
- Rahimmalek, M., Bahreininejad, B., Khorrami, M. and Tabatabaei, S., 2009. Genetic variability and geographic differentiation in *Thymus daenensis* subsp. *daenensis*, an endangered medicinal plant, as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. Biochemistry Genetic, 47: 831-842.
- Riaz, P., Surendra, S. and Harting, H., 2007. Effect of irrigation intervals and splitted nitrogen on carvone content of *Anethum graveolense* L. grown in semi-arid region. Journal of Horticulture Environment Biotechnology, 41(4): 25-30.
- Rosielle, A.A. and Hamblin, J., 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environment. Crop science, 21(6): 943-946.
- Rustaiee, A., Yavari, A., Nazeri, V., Shokrpour, M., Sefidkon, F. and Rasouli, M., 2013. Genetic diversity and chemical polymorphism of some *Thymus* species. Chemistry and Biodiversity, 10(6): 1088-1098.
- Salamati, M. and Yousefi, M., 2014. Evaluation of variation for yield and morphological traits in *Dracocephalum moldavica* L. genotypes. Journal of Plant Research, 27(1): 91-99.
- Santos, C., 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Scientica Horticulture, 103: 93-99.
- Siringam, K., Juntawong, N., Cha-um, S. and Kirdmanee, C., 2011. Salt stress induced ion accumulation, ion homeostasis, membrane injury and sugar contents in salt-sensitive rice (*Oryza sativa* L. spp. *indica*) roots under isoosmotic conditions. African Journal of Biotechnology, 10(8): 1340-1346.
- Stansfield, W.D., 1991. Theory and Problems in Genetics. McGraw-Hill, New York, USA, 392p.
- Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R., 1999. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany, 42: 211-220.
- Talle, B., Darvish, F., Mohammadi, A., Abbaszadeh, B. and Rohami, M., 2012. Assessment of relationship between effective traits on yield and compounds of essential oil and morphological traits of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) accessions using path analysis proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedlings under salt stress. South African Journal Botany, 73: 190-195.
- Jaimand, K. and Rezaee, B., 2004. Investigation on chemical constituents of essential oils from *Achillea eriophora* DC by Distillation methods. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 20(1): 89-98.
- Jamzad, Z., 2010. *Thymus* and *Satureja* species of Iran. Institute Research Forests and Rangeland, (In Persian), 176p.
- Khoshshokhan, F., Babalar, M., Fatahi, M. and Poormeidani, A., 2014. Assessment of genetic diversity of some wild populations of *Thymus Kotschyanus* using RAPD molecular markers. Cercetari Agronomice in Moldova., 3: 71-81.
- Lothrop, J.E., Atkins, R.E. and Smith, O.S., 1985. Variability for yield and yield components in IAPIR grain sorghum random mating population II. Correlations, estimated gain from selection, and correlated responses to selection. Crop Science, 25: 240-244.
- Mohammadi, M., Tabrizi, L., Shokrpour, M., Hadian, J. and Schulz, H., 2019. Study on general combining ability of morphological and phytochemical traits in different populations of *Thymus daenensis* in polycross test. Iranian Journal of Horticultural Science, 51(2): 295-305.
- Mohammadi, M., Tabrizi, L., Shokrpour, M., Hadian, J. and Schulz, H., 2020. Morphological and phytochemical screening of some *Thymus* ecotypes (*Thymus* spp.) native to Iran in order to select elite genotypes. Journal of Applied Botany and Food Quality, 93: 186-196.
- Monirifar, H., 2010. Half-sib progeny test for selection of best parents for development of a synthetic variety of alfalfa. Iranian Journal of Crop Sciences, 12: 66-75.
- Morales, R., 2002. The History, Botany and Taxonomy of the Genus *Thymus*. CRC Press, 43p.
- Mousa, N.A., Siaguru, P., Wiryowidagdo, S. and Wagih, M., 2007. Evaluation and selection of elite clonal genotypes of the sweet crop licorice (*Glycyrrhiza glabra*) in a new environment. Sugar Tech, 9: 83-94.
- Munns, R. and Gilliham, M., 2015. Salinity tolerance of crops-what is the cost? New Phytologist, 208(3): 668-673.
- Nguyen, H.T. and Sleeper, A., 1983. Theory and application of half-sib matings in forage breeding. Theoretical and Applied Genetics, 64: 187-196.
- Ozturk, A., Unlukara, A., Ipek, A. and Gurbuz, B., 2004. Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential oil content of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Pakistan Journal Botany, 36: 787-792.

- Udagawa, Y., Ito, T., Tognoni, F., Nukaya, A. and Maruo, T., 1995. Some responses of dill (*Anethum graveolens*) and thyme (*Thymus vulgaris*), grown in hydroponics to the concentration of nutrient solution. *Acta Horticulture*, 396: 203-210.
- Wricke, G. and Weber, W.E., 1986. *Quantitative Genetic and Selection in Plant Breeding*. Walter De Gruyter. New York, 421p.
- Yavari, A., Shokrpour, M., Tabrizi L. and Hadian, J., 2015. Analysis of morphological variation and general combining ability in half sib families of *Echinacea purpurea* L. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 47(4): 617-630. (in Farsi)
- and canonical correlation. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 2(4): 3719-3723.
- Thompson, J., 2002. Population structure and the spatial dynamics of genetic polymorphism in thyme: 45-74. In: Stahl-Biskup, E. and Saez, F., (Eds.). *Thyme: The Genus Thymus*. CRC Press, 352p.
- Tohidi, B., Rahimmalek, M. and Arzani, A., 2018. Variations in chemical composition and bioactive compounds of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen populations originated from different collection sites. *Journal Essential Oil Bearing Plants*, 21(5): 1272-1283.

Genetic analysis of some quantitative traits in *Thymus daenensis* Celak under salinity stress using Polycross test

A. Shayan¹, M. Shokrpour^{2*}, V. Nazeri³, M. Babalar³ and A. Mehrabi⁴

1- Ph.D. student, Department of Horticulture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticulture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, E-mail: shokrpour@ut.ac.ir

3- Department of Horticulture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

4- Plant Molecular Breeding, Department of Plant Biotechnology, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: July 2022

Revised: July 2022

Accepted: August 2022

Abstract

Cultivation development of adaptable *Thymus daenensis* Celak to specific environmental conditions through population improvement requires the creation of a genetic pool rich of superior genotypes and exploitation of this diversity to identify genotypes with high combinability. In this research, to study the genetic diversity and combinability of different *T. daenensis* ecotypes under salinity, a factorial greenhouse experiment was conducted in a randomized complete block design with three replications. The factors included salinity stress (0 and 90 mM NaCl) and ecotype (12 half-sib families derived from a polycross between 12 *T. daenensis* ecotypes). Salinity decreased all the measured traits (except for proline and carotenoids content) significantly compared to the control. The ecotypes differed significantly from each other in terms of length and leaf width, length of lateral branches, aerial parts dry weight, essential oil content, and proline content. Essential oil content and leaf width obtained the highest phenotypic and genotypic coefficient of variation. General heritability of the studied traits varied from 4.61% (leaf length) to 81.07% (leaf width). The highest general heritability was assigned to leaf width, essential oil content, and aerial parts dry weight. Regarding the higher genotypic and phenotypic coefficient of variation, heritability, and genetic advance of the traits including essential oil content and aerial parts dry weight, these traits could be considered as the most important criteria for the parents selection in the breeding programs of *T. daenensis*. The results showed that the ecotypes *Malayer2*, *Zagheh*, *Arak*, and *Ilam* had high combinability in terms of essential oil content. Considering the sufficient genetic diversity observed between the studied ecotypes along with their adequate combinability, it could be recommended to breed *T. daenensis* through the strategy of improving the population by producing synthetic cultivars for normal (non-stress) and salinity conditions.

Keywords: *Thymus daenensis* Celak, salinity, general combining analysis, half-sib family, synthetic cultivar.