

## ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از گونه‌های خوراکی زعفران بومی ایران با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی و مولکولی ISSR

بیتا خوانساری نژاد<sup>۱</sup>، محمدرضا حسندخت<sup>۲\*</sup>، وحیده ناظری<sup>۳</sup> و ابوذر سورنی<sup>۴</sup>

۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار، دانشیار و دانشجوی دکتری،

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۳/۲۴)

### چکیده

در این مطالعه ۱۶ صفت مورفولوژیک روی ۲۵۰ نمونه گیاهی (بونه) و ۱۳ آغازگر ISSR بر ۲۵ نمونه از دو گونه زعفران وحشی ایرانی (*Crocus speciosus* و *Crocus cancellatus*) بررسی شد. بیشترین ضریب تنوع مربوط به ضخامت گلبرگ (۷۱/۲۵ درصد) و کمترین آن مربوط به صفت طول برگ (۱۵/۰۸ درصد) بود. تجزیه خوشه‌ای براساس صفات مورفولوژیک نمونه‌های مطالعه شده را به سه گروه تقسیم کرد. سیزده آغازگر ISSR چندشکلی بالایی (۹۴/۴۶ درصد) را نشان دادند. دامنه تشابه ژنتیکی بین ۰/۱۱ تا ۰/۷۵ به ترتیب میان نمونه‌های خانه‌میران-اراک با حسن‌آباد-شازند (متعلق به *C. cancellatus*) و بین نمونه‌های کنگاور با روانسر (متعلق به *C. speciosus*) متغیر بود. نتایج نشان داد که نمونه‌های متعلق به دو گونه بررسی شده از تنوع بالایی برخوردار بودند و نشانگر ISSR برای تنوع ژنتیکی گونه‌های زعفران مناسب است.

**واژه‌های کلیدی:** تجزیه خوشه‌ای، صفات مورفولوژی، نشانگر ISSR، *Crocus*.

### مقدمه

زعفران اهلی گیاهی عقیم است که فقط از طریق بنه (Corm) تکثیر می‌شود، در حالی که گونه‌های وحشی مانند *C. speciosus* و *C. cancellatus* قادر به تولید بذر هستند (Ebrahimpour et al., 2006; Wani et al., 2010). اهالی آبادی‌های دامنه‌های زاگرس و الوند بنه زعفران وحشی را در اوایل بهار برداشت کرده و با سرخ کردن در روغن یا آب‌پز کردن آن را مصرف می‌کنند (Abrishami, 2009). ارزش گیاهان وحشی به دلیل مقاومت به آفات، بیماری‌ها و تنش‌های غیرزنده مانند شوری، سرما و گرماسست. از آنجاکه تنوع مبنای گزینش است، می‌توان این تنوع را در گیاهان وحشی جست‌وجو کرد. از طرف دیگر، تمایز دقیق روابط گونه‌ها و جمعیت‌ها توسط نشانگرهای مورفولوژیک امکان‌پذیر نیست، امروزه با پیشرفت فناوری PCR بینش جدیدی در تعیین روابط بین گونه‌های گیاهی به وجود آمده

زعفران (*Crocus sativus*) گران‌ترین ادویه جهان است که از زمان‌های بسیار دور (۱۶۰۰ سال قبل از میلاد) برای اهداف اقتصادی و دارویی مورد توجه و کشت‌وکار قرار گرفته است (Rubio Moraga et al., 2010; Özdemir et al., 2004). زعفران قرن‌هاست که در ایران کشت می‌شود. ایران و اسپانیا بزرگ‌ترین تولیدکنندگان زعفران هستند که بیش از ۸۰ درصد تولید جهانی به مقدار ۲۰۵ تن در هر سال را به عهده دارند (Rubio Moraga et al., 2009). ایران یکی از خاستگاه‌های جنس *Crocus* است. این جنس ۸ گونه وحشی و یک گونه زراعی دارد. زعفران مشبک زیرگونه دمشق (*Crocus cancellatus*) (subsp. *damascenus*) و زعفران زیبا (*C. speciosus*) از جمله گونه‌های وحشی جنس زعفران هستند که زیستگاه آن‌ها ایران، ترکیه و عراق است (Ebrahimpour et al., 2006).

اطلاعات کافی وجود نداشت، این پژوهش به منظور تعیین تنوع ژنتیکی *C. cancellatus* و *C. speciosus* و قرابت ژنتیکی آن‌ها با زعفران اهلی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

### تهیه نمونه‌های گیاهی

این پژوهش براساس اطلاعات موجود در فلور ایرانیکا (Rechinger, 1969) و فلور ایران (Ghahreman & Atar, 1998) آغاز شد و سپس با توجه به اطلاعات افراد محلی نمونه‌برداری (۱۰ گیاه از هر منطقه) از مناطق مختلف انجام شد (جدول ۱). با توجه به اینکه دو گونه وحشی زعفران (*C. speciosus* و *C. cancellatus*) مانند زعفران اهلی پاییز گل هستند، ابتدا در پاییز اتیکت‌گذاری بوته‌ها انجام و سپس جمع‌آوری گل شروع شد. جمع‌آوری بانه از بوته‌های اتیکت‌گذاری‌شده در فصل بهار انجام شد. زعفران اهلی به‌منزله شاهد در این مطالعه در نظر گرفته شد.

است (Nazzal et al., 2011; Grilli Caiola & Canini, 2010; Rao & Hodgkin, 2002). تا کنون پژوهش‌های محدودی در زمینه ارزیابی صفات مورفولوژیک *C. speciosus* و *C. cancellatus* انجام شده است. بررسی تنوع ژنتیکی در برخی از گونه‌های *C. sativus*، *C. cartwrightianus*، *C. cartwrightianus* cv. *albus*، *C. pallasii*، *C. thomasi*، *C. kotschyanus* توسط نشانگرهای RAPD و ISSR انجام شده است (Grilli Caiola et al., 2004; Beiki et al., 2010; Rubio Moraga et al., 2009; Rubio Moraga et al., 2010; Beiki et al., 2013; Alavi-Kia et al., 2008). Rubio Moraga et al. (2009) معتقدند *C. cartwrightianus* var. *albus* ممکن است یکی از والدین زعفران اهلی باشد. با توجه به اینکه در مورد ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی زعفران بومی ایران با استفاده از صفات مورفولوژیک و نشانگر ISSR

جدول ۱. اسامی، منطقه جمع‌آوری و اطلاعات رویشگاهی نمونه‌های زعفران وحشی (*C. speciosus* و *C. cancellatus*) و زعفران اهلی

شماره ترتیب	گونه	محل جمع‌آوری (استان- منطقه)	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض جغرافیایی (درجه)	طول جغرافیایی (درجه)	شرایط آب و هوایی
۱	<i>C. speciosus</i>	سنقر- کرمانشاه	۱۷۱۴/۲	۳۴	۴۷	نیمه‌خشک و سرد
۲	<i>C. speciosus</i>	صحنه- کرمانشاه	۱۳۶۸/۹	۳۴	۴۷	مدیترانه‌ای و سرد
۳	<i>C. speciosus</i>	کنگاور- کرمانشاه	۱۴۳۷/۶	۳۴	۴۷	نیمه‌خشک و سرد
۴	<i>C. speciosus</i>	روان-سرکرمانشاه	۱۳۵۶/۳	۳۴	۴۶	مدیترانه‌ای و سرد
۵	<i>C. speciosus</i>	بی‌ستون- کرمانشاه	۱۴۶۰/۱	۳۴	۴۷	نیمه‌خشک و سرد
۶	<i>C. cancellatus</i>	دهلران- ایلام	۱۰۹۵	۳۲	۴۷	معتدل کوهستانی
۷	<i>C. cancellatus</i>	میمه- ایلام	۱۱۴۶/۹	۳۳	۴۶	معتدل کوهستانی
۸	<i>C. cancellatus</i>	مرغ- گلپایگان	۲۰۷۷/۸	۳۳	۵۰	کوهستانی و نیمه‌صحرائی
۹	<i>C. cancellatus</i>	وانشان- خوانسار	۱۹۰۶/۵	۳۳	۵۰	کوهستانی و نیمه‌صحرائی
۱۰	<i>C. cancellatus</i>	خانه‌میران- اراک	۱۹۲۷/۲	۳۴	۴۹	نیمه‌خشک و سرد
۱۱	<i>C. cancellatus</i>	شازند- مرکزی	۱۹۰۱/۷	۳۳	۴۹	نیمه‌مرطوب و سرد
۱۲	<i>C. cancellatus</i>	ساکي- شازند- مرکزی	۱۶۷۱/۳	۳۳	۵۰	نیمه‌مرطوب و سرد
۱۳	<i>C. cancellatus</i>	موچان- شازند- مرکزی	۱۶۹۵	۳۳	۵۰	نیمه‌مرطوب و سرد
۱۴	<i>C. cancellatus</i>	چشمه‌پهن- ایلام	۱۳۹۲	۳۳	۴۶	معتدل کوهستانی
۱۵	<i>C. cancellatus</i>	ورچه- خمین- مرکزی	۲۰۵۲/۶	۳۳	۵۰	نیمه‌خشک و سرد
۱۶	<i>C. cancellatus</i>	کرک- خمین- مرکزی	۱۷۸۰/۵	۳۳	۵۰	نیمه‌خشک و سرد
۱۷	<i>C. cancellatus</i>	کجرستان- خمین- مرکزی	۱۹۵۵/۷	۳۳	۵۰	نیمه‌خشک و سرد
۱۸	<i>C. cancellatus</i>	ازنا- خرم‌آباد	۱۹۲۹	۳۳	۴۹	معتدل و نیمه‌خشک
۱۹	<i>C. cancellatus</i>	خمین- مرکزی	۱۸۳۵	۳۳	۵۰	نیمه‌خشک و سرد
۲۰	<i>C. cancellatus</i>	آب‌باریک- شازند- مرکزی	۱۹۸۵/۴	۳۳	۴۹	نیمه‌مرطوب و سرد
۲۱	<i>C. cancellatus</i>	حسن‌آباد- شازند- مرکزی	۱۹۳۴/۷	۳۳	۴۹	نیمه‌مرطوب و سرد
۲۲	<i>C. cancellatus</i>	کودزر- مرکزی	۱۷۷۹	۳۳	۴۹	نیمه‌خشک و سرد
۲۳	<i>C. cancellatus</i>	تجمار- شازند- مرکزی	۱۹۷۴/۹	۳۳	۴۹	نیمه‌مرطوب و سرد
۲۴	<i>C. cancellatus</i>	خرم‌آباد- مرکزی	۱۸۳۹	۳۳	۴۹	نیمه‌مرطوب و سرد
۲۵	<i>C. sativus</i>	اراک	۱۷۹۰/۷	۳۴	۴۹	نیمه‌خشک و سرد

### شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و الکتروفورز محصول PCR

برای آزمایش ISSR تعداد ۲۲ آغازگر از سری آغازگرهای شرکت بیوراد<sup>۱</sup> انتخاب و ارزیابی شد و در نهایت ۱۳ آغازگر انتخاب شدند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم ۱۵ میکرولیتر که شامل ۷/۵ میکرولیتر کیت PCR (تهیه شده از شرکت سیناژن ایران)، ۲ میکرولیتر آغازگر (۱۰ میکرومول)، ۲ میکرولیتر DNA (۲۰ نانوگرم)، ۳/۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر انجام شد. چرخه دمایی شامل یک چرخه ۹۴ درجه سانتی‌گراد برای واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه، تعداد ۳۵ چرخه در دمای ۹۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، دمای اتصال برحسب نوع آغازگر ۴۴/۲-۵۳/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه برای تکثیر قطعات و استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad مدل i-cycler) انجام شد. به منظور بررسی قطعات حاصله، از الکتروفورز بر روی ژل آغاز ۱/۴ درصد به مدت ۱۴۰ دقیقه با ولتاژ ۷۵ ولت استفاده شد. رنگ آمیزی به مدت ۲۰ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید انجام شد. قطعات DNA تکثیر شده تحت نور UV توسط دستگاه ژل داگ (Gel document, UVP, USA) مشاهده شد و در نهایت عکس برداری از ژل انجام شد.

### ارزیابی صفات مورفولوژیک

شانزده صفت مورفولوژیکی ارزیابی شد که اسامی و سایر مشخصات آن‌ها در جدول ۲ آمده است.

### ارزیابی مولکولی

در بهار نمونه‌های برگ ۲۵ نمونه از ۲۵ منطقه جغرافیایی مختلف واقع در پنج استان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از چندبار شست‌وشو با آب مقطر و خشک کردن آب روی برگ‌ها، با استفاده از نیتروژن مایع منجمد و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شدند.

### استخراج DNA

از نمونه‌های برگ براساس دستورالعمل دارت توصیه شده توسط شرکت Diversity Arrays Technology Pty Ltd (DArT P/L) استخراج DNA انجام شد (Jahangirzadeh Khiavi *et al.*, 2013). کمیت و کیفیت DNA با استفاده از دستگاه نانودراپ و الکتروفورز در ژل آغاز ۱ درصد تعیین شد و به کمک آن‌ها غلظت یکسان از DNA نمونه‌ها (۱۰ نانوگرم در میکرولیتر) آماده شد.

جدول ۲. صفات مورفولوژیک بررسی شده در زعفران وحشی بومی ایران

ردیف	نوع صفت	علامت اختصاری	واحد اندازه‌گیری	وسیله اندازه‌گیری
۱	طول برگ	LL	سانتی‌متر	خط‌کش
۲	عرض برگ	WL	میلی‌متر	خط‌کش
۳	تعداد برگ در بوته	NL	عدد	شمارش
۴	ضخامت برگ	LT	میلی‌متر	کولیس
۵	وزن تر بُنه	FO	گرم	ترازو
۶	تعداد پوشش بیرونی بُنه	NO	عدد	شمارش
۷	قطر بُنه	DO	میلی‌متر	کولیس
۸	ارتفاع بُنه	SO	میلی‌متر	کولیس
۹	وزن خشک بُنه	DW	گرم	ترازو
۱۰	ضخامت گلبرگ	PW	میلی‌متر	کولیس
۱۱	طول گلبرگ	LP	سانتی‌متر	خط‌کش
۱۲	طول کلاله	LS	سانتی‌متر	خط‌کش
۱۳	طول پرچم	LF	سانتی‌متر	خط‌کش
۱۴	ضخامت جام گل	CT	میلی‌متر	کولیس
۱۵	طول ساقه گل‌دهنده	DL	سانتی‌متر	خط‌کش
۱۶	وزن گل	WF	گرم	ترازو

1. Bio-Rad

## تجزیه داده‌ها و آنالیز آماری

نمونه‌ها ۱۹/۸۲ میلی‌متر به دست آمد و بیشترین مقدار مربوط به نمونه کجریستان (۳۵/۳۹ میلی‌متر) و کمترین مقدار مربوط به میمه-ایلام (۹/۲۴ میلی‌متر) بود. وزن تر بنه‌ها از ۱۴/۳ گرم (چشمه‌پهن-ایلام) تا ۱/۲ گرم (بیستون-کرمانشاه) متغیر بود (شکل ۱). آمار توصیفی صفات نشان داد که بیشترین ضریب تغییرات مربوط به صفات ضخامت گلبرگ، وزن خشک بنه، ارتفاع ساقه گل‌دهنده، وزن تر بنه و تعداد برگ در بوته بود. جدول ۳ آمار توصیفی صفات مورفولوژیک گونه‌های زعفران را به همراه میانگین صفات نشان می‌دهد.

## ضرایب همبستگی صفات

ضرایب همبستگی بین صفات به صورت دوبه‌دو محاسبه شد که بیشترین همبستگی مربوط به ارتفاع بنه با قطر بنه ( $r=0/94$ ) بود. همچنین همبستگی بالایی بین طول ساقه گل‌دهنده با طول کلاله، طول گلبرگ و وزن گل مشاهده شد و نیز تعداد برگ در بوته با صفات طول گلبرگ، طول کلاله، طول ساقه گل‌دهنده و وزن گل همبستگی مثبت و معناداری داشتند. برخی صفات مانند تعداد برگ در بوته با تعداد پوشش بیرونی بنه، تعداد پوشش بیرونی بنه با ساقه گل‌دهنده و وزن گل همبستگی منفی بالایی با هم داشتند (جدول ۴).

برای تجزیه صفات مورفولوژیک از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ استفاده شد. همچنین تجزیه به عامل‌ها همراه با چرخش عامل‌ها به روش واریمکس انجام شد. تجزیه خوشه‌ای نیز با استفاده از نرم‌افزار NTSYS 2.02 و ضریب تشابه اقلیدسی و الگوریتم UPGMA برای میانگین داده‌های صفات زراعی انجام شد. در مورد نشانگر ISSR پس از آزمایش، برای بررسی مراحل چندشکلی بین نمونه‌ها به حضور یک نوار عدد یک و به عدم حضور آن عدد صفر داده شد. بعد از تشکیل ماتریس صفر و یک، ماتریس تشابه نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار Ver 2.02(NTSYSpc) و استفاده از ضریب تشابه جاکارد و به روش UPGMA محاسبه شد. با استفاده از ماتریس تشابه دندروگرام مربوطه توسط نرم‌افزار TreeView ترسیم شد.

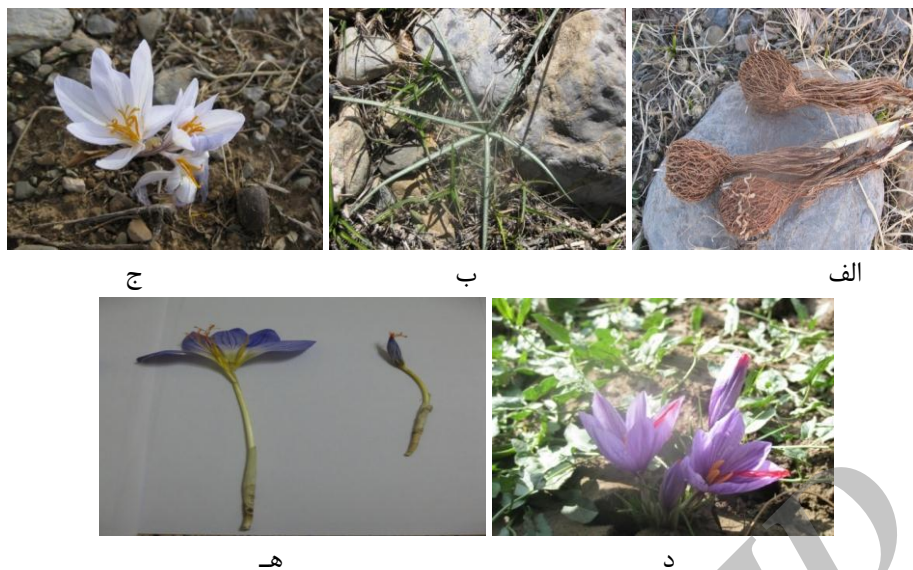
## نتایج

## ارزیابی صفات

نتایج نشان داد که قطر بُنه‌های زعفران با میانگین ۲۱/۲۶ میلی‌متر در نمونه‌های مختلف از ۱۱/۶۰ میلی‌متر در نمونه میمه-ایلام تا ۴۰/۲ میلی‌متر در نمونه کجریستان-خمین متغیر بود. میانگین ارتفاع بنه در بین

جدول ۳. صفات بررسی شده در گیاه زعفران، میزان تغییرات، میانگین و ضرایب تغییرات آن‌ها

نام صفت	واحد	حداقل	میانگین	حداکثر	ضریب تغییرات %
طول برگ	سانتی‌متر	۵/۸	۱۹/۳	۳۰/۵۰	۱۵/۰۸
عرض برگ	میلی‌متر	۱	۲/۱۶	۳/۸	۲۲/۱۴
تعداد برگ در بوته	عدد	۴	۶/۰۱	۱۷	۳۰/۳۲
ضخامت برگ	میلی‌متر	۰/۳۳	۰/۶۹	۰/۹۸	۱۵/۳۴
وزن تر بُنه	گرم	۱/۲	۴/۸۶	۱۴/۳	۳۶/۸۵
تعداد پوشش بیرونی بُنه	عدد	۳	۶/۸۰	۱۴	۲۷/۰۲
قطر بُنه	میلی‌متر	۱۱/۶۰	۲۱/۲۶	۴۰/۲	۱۷/۲۲
ارتفاع بُنه	میلی‌متر	۹/۲۴	۱۹/۸۲	۳۵/۳۹	۱۶/۸۲
وزن خشک بُنه	گرم	۰/۲۰	۱/۹۵	۷/۲	۴۶/۵۰
ضخامت گلبرگ	میلی‌متر	۰/۰۳	۰/۱۰	۰/۸	۷۱/۲۵
طول گلبرگ	سانتی‌متر	۲/۶	۴/۰۹	۷/۲	۱۳/۵۶
طول کلاله	سانتی‌متر	۱/۸	۴/۸۱	۱۶/۵	۱۷/۸۱
طول پرچم	سانتی‌متر	۱	۲/۵۵	۶/۸	۱۷/۷۰
ضخامت جام گل	میلی‌متر	۰/۶۳	۱/۷۸	۳/۰۳	۱۷/۳۵
وزن گل	گرم	۰/۰۵	۰/۴۴	۲/۱	۱۹/۴۶
ارتفاع ساقه گل‌دهنده	سانتی‌متر	۱/۸	۵/۴۶	۱۸	۳۹/۷۰



شکل ۱. اندام‌های رویشی و زایشی برخی گونه‌های زعفران ارزیابی شده

الف) گل مربوط به *C. cancellatus* (ب) برگ مربوط به گونه *C. cancellatus* (ج) بنه مربوط به *C. cancellatus*؛ (د) گل مربوط به *C. speciosus*؛ (ه) گل زعفران اهلی *C. sativus*

عامل اول و دوم ترسیم شد (شکل ۲)، که براساس شکل نمونه‌ها به دو گروه تقسیم شدند و نمونه‌های مربوط به *C. speciosus* که از نظر صفاتی مانند طول کلاله، وزن گل، ارتفاع ساقه گل‌دهنده، طول گلبرگ، تعداد برگ در بوته، طول پرچم، ارتفاع بنه، قطر بنه و وزن تر بنه با نمونه *C. cancellatus* و *C. sativus* متفاوت بودند در گروه جداگانه‌ای قرار گرفتند.

#### تجزیه خوشه‌ای

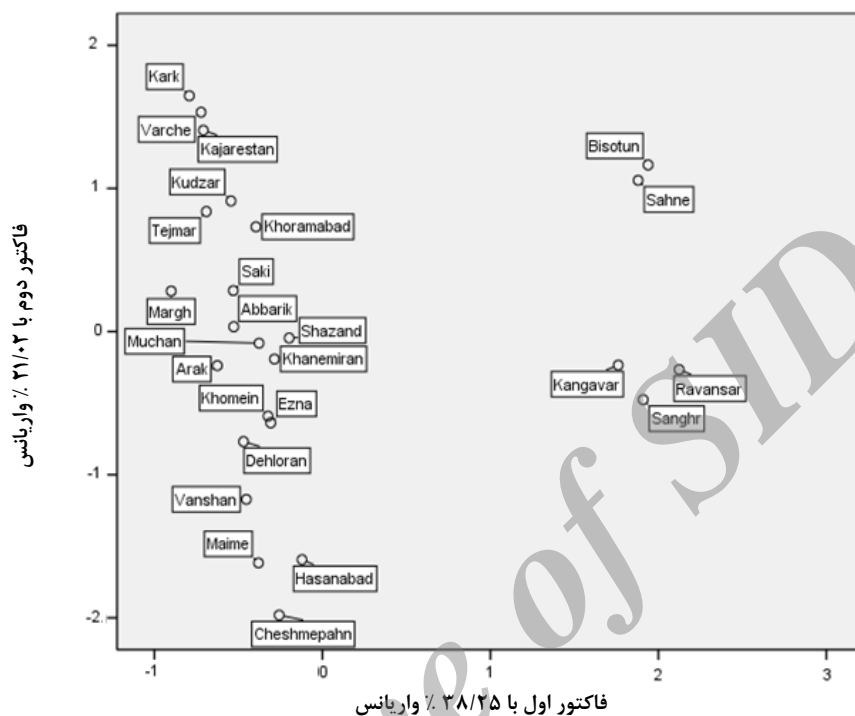
نتایج حاصل از دندروگرام، نمونه‌های مطالعه‌شده را در فاصله ۹ به سه گروه تقسیم کرد (شکل ۳). گروه یک شامل پنج نمونه متعلق به *C. speciosus* که از نظر برخی صفات مورفولوژیکی مانند تعداد برگ در بوته، طول گلبرگ، طول کلاله، طول پرچم، وزن گل و طول ساقه گل‌دهنده با *C. cancellatus* و *C. sativus* متفاوت بودند. گروه دوم شامل نمونه‌های دهلران، شازند، ازنا، خمین، میمه، چشمه‌پهن، حسن‌آباد، مرغ، خانه‌میران و وانشان متعلق به *C. cancellatus* به همراه زعفران اهلی از اراک و گروه سوم شامل ساکی، خرم‌آباد، تجمار، ورجه، کرک، کودزر، موچان، آب‌باریک و کجریستان بودند. بیشترین تشابه ژنتیکی بین موچان و آب‌باریک که متعلق به *C. cancellatus* بودند، مشاهده شد. در

#### تجزیه به عامل‌ها

در تجزیه به عامل‌ها چهار عامل اصلی و مستقل توانستند در مجموع ۸۱/۴۶ درصد واریانس کل را توجیه کنند. میزان واریانس نسبی هر عامل نشان‌دهنده اهمیت آن عامل در واریانس کل صفات بررسی‌شده است و به‌صورت درصد بیان شده است (جدول ۵). در عامل اول که ۳۸/۲۵ درصد از واریانس کل را توجیه کرد، صفاتی نظیر طول کلاله، وزن گل، ارتفاع ساقه گل‌دهنده، طول گلبرگ، تعداد برگ در بوته و طول پرچم با ضرایب به ترتیب ۰/۹۶، ۰/۹۵، ۰/۹۳، ۰/۹۱، ۰/۸۵ و ۰/۸۵ بیشترین واریانس مربوط به این گروه را توجیه کردند. در عامل دوم صفات ارتفاع بنه، قطر بنه و وزن تر بنه با ضرایب مثبت به ترتیب ۰/۹۴، ۰/۹۲ و ۰/۸۶ قرار داشتند و ۲۱/۰۲ درصد واریانس کل را توجیه کرد. این دو عامل در مجموع ۵۹/۲۷ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. صفاتی که در عامل سوم بیشترین نقش را ایفا کردند، صفات مربوط به ضخامت گلبرگ و عرض برگ به ترتیب با ضرایب مثبت ۰/۸۳ و ۰/۷۵ بودند که در مجموع ۱۱/۴۵ درصد از واریانس کل را توجیه کردند. در عامل چهارم ضخامت برگ و طول برگ به ترتیب ۰/۷۷ و ۰/۶۱ بودند، که در مجموع ۱۰/۷۳ درصد از واریانس کل را توجیه کرد. با توجه به اینکه دو عامل اول سهم زیادی از تغییرات را در بر می‌گیرند، گروه‌بندی ۲۵ نمونه براساس

متمایزی برخوردار بود. برای اعلام نظر قطعی پیشنهاد می‌شود که از صفات مورفولوژیکی و فنولوژیکی بیشتری برای تعیین روابط و شباهت فنوتیپی میان این گونه‌ها استفاده شود.

گروه‌بندی با استفاده از معیار فاصله اقلیدسی و صفات مورفولوژیک زعفران اهلی از *C. cancellatus* تفکیک نشد. نتایج نشان داد *C. speciosus* نسبت به *C. cancellatus* و زعفران اهلی از صفات مورفولوژیکی



شکل ۲. تجزیه دی‌پلات مربوط به گروه‌بندی ۲۵ نمونه جنس زعفران (*C. sativus*، *C. speciosus* و *C. cancellatus*) با استفاده از عامل اول و دوم

جدول ۴. ضرایب همبستگی بین ۱۶ صفت مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده در دو گونه زعفران وحشی و زعفران اهلی

شماره	صفت*	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶
		LL	WL	NL	LT	FO	NO	DO	SO	DW	PW	LP	LS	LF	CT	DL	WF
۱	LL	۱															
۲	WL	۰/۲۰	۱														
۳	NL	۰/۴۱*	-۰/۰۱	۱													
۴	LT	-۰/۳۷	-۰/۰۱	۰/۲۰	۱												
۵	FO	۰/۳۰	۰/۱۰	۰/۴۲*	۰/۱۳	۱											
۶	NO	-۰/۲۸	۰/۱۲	-۰/۵۶**	-۰/۰۱	۰/۲۲	۱										
۷	DO	۰/۶۱**	-۰/۰۶	۰/۳۵	-۰/۰۴	۰/۷۰**	۰/۱۵	۱									
۸	SO	۰/۶۴**	-۰/۰۳	۰/۳۵	-۰/۰۸	۰/۷۳**	۰/۱۷	۰/۹۴**	۱								
۹	DW	-۰/۲۴	-۰/۰۶	-۰/۱۹	۰/۱۴	۰/۵۸**	۰/۵۳**	۰/۲۷	۰/۳۰	۱							
۱۰	PW	-۰/۱۱	-۰/۴۹*	۰/۳۱	۰/۲۴	۰/۰۵	-۰/۳۸	-۰/۰۹	-۰/۰۵	-۰/۰۵	۱						
۱۱	LP	۰/۳۱	-۰/۰۹	۰/۸۲**	۰/۱۹	۰/۳۶	-۰/۵۰**	۰/۱۹	۰/۱۷	-۰/۱۹	۰/۳۶	۱					
۱۲	LS	۰/۴۰*	-۰/۲۰	۰/۸۲**	۰/۱۸	۰/۲۷	-۰/۶۱**	۰/۱۳	۰/۱۳	-۰/۳۹	۰/۴۱*	۰/۸۹**	۱				
۱۳	LF	۰/۳۶	-۰/۰۲	۰/۵۹**	-۰/۰۱	۰/۱۹	-۰/۳۹	-۰/۰۱	۰	-۰/۳۷	۰/۰۴	۰/۷۷**	۰/۸۲**	۱			
۱۴	CT	-۰/۳۰	-۰/۱۴	-۰/۲۲	۰/۰۵	۰/۲۱	۰/۲۰	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۴۶*	۰/۳۷	-۰/۲۲	-۰/۲۸	-۰/۳۸	۱		
۱۵	DL	۰/۴۲*	-۰/۱۳	۰/۸۶**	۰/۱۴	۰/۲۱	-۰/۱۶**	۰/۱۷	۰/۱۶	-۰/۳۵	۰/۴۱*	۰/۹۱**	۰/۹۲**	۰/۷۱**	-۰/۳۳	۱	
۱۶	WF	۰/۳۲	-۰/۲۵	۰/۷۳**	۰/۱۸	۰/۱۷	-۰/۵۵**	-۰/۰۶	۰/۰۳	-۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۸۵**	۰/۹۰**	۰/۷۳**	-۰/۴۱*	۰/۹۱**	۱

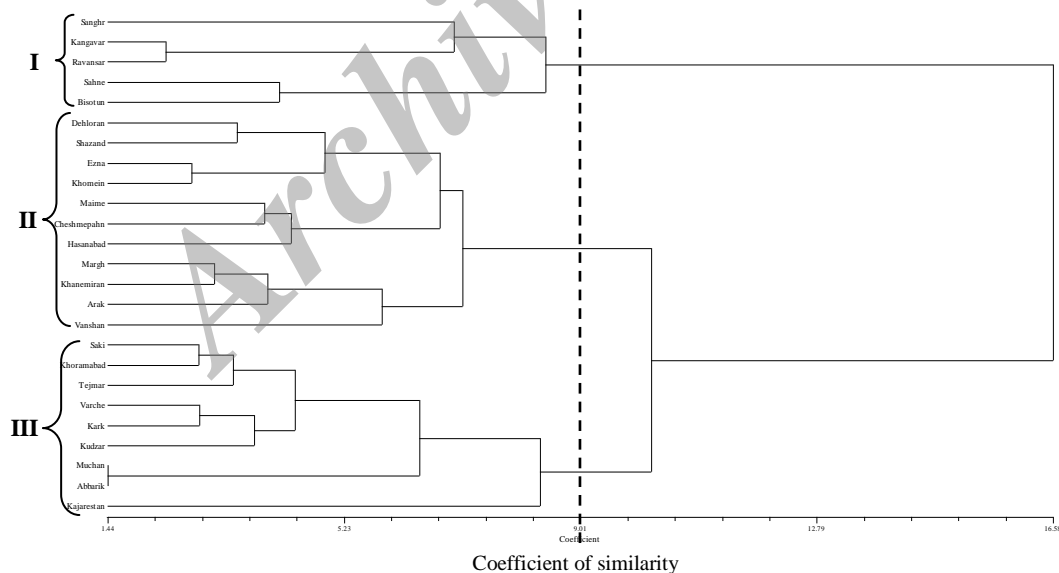
\*- صفات و علائم اختصاری صفات در جدول ۲ آمده است.

جدول ۵. نتایج تجزیه به عامل‌ها و مقادیر ضرایب عاملی اصلی مربوط به صفات مورفولوژیک نمونه‌های دو گونه زعفران وحشی و زعفران اهلی

عامل	۱	۲	۳	۴
مقادیر ویژه	۶/۱۲	۳/۳۶	۱/۸۳	۱/۷۱
واریانس (%)	۳۸/۲۵	۲۱/۰۲	۱۱/۴۵	۱۰/۷۳
واریانس تجمعی (%)	۳۸/۲۵	۵۹/۲۷	۷۰/۷۳	۸۱/۴۶

ردیف	صفت	۱	۲	۳	۴
۱	طول برگ	۰/۳۸	۰/۵۴	۰/۲۰	۰/۶۳
۲	عرض برگ	۰/۰۸	۰/۱۰	۰/۷۵	۰/۰۸
۳	تعداد برگ در بوته	۰/۸۵	۰/۳۱	۰/۰۵	۰/۰۵
۴	ضخامت برگ	۰/۲۱	۰/۰۷	۰/۰۴	۰/۷۷
۵	وزن تر بُنه	۰/۱۸	۰/۸۶	۰/۰۲	۰/۳۴
۶	تعداد پوشش بیرونی بُنه	۰/۶۵	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۳۰
۷	قطر بُنه	۰/۰۷	۰/۹۲	۰/۰۳	۰/۱۵
۸	ارتفاع بُنه	۰/۰۶	۰/۹۴	۰/۰۱	۰/۱۷
۹	وزن خشک بُنه	۰/۴۴	۰/۵۲	۰/۰۵	۰/۵۵
۱۰	ضخامت گلبرگ	۰/۳۲	۰/۰۴	۰/۸۳	۰/۱۵
۱۱	طول گلبرگ	۰/۹۱	۰/۱۷	۰/۰۷	۰/۱۳
۱۲	طول کلاله	۰/۹۶	۰/۰۸	۰/۱۴	۰/۰۱
۱۳	طول پرچم	۰/۸۲	۰/۰۱	۰/۲۲	۰/۰۴
۱۴	ضخامت جام گل	۰/۴۲	۰/۲۳	۰/۵۹	۰/۲۹
۱۵	وزن گل	۰/۹۵	۰/۱۰	۰/۱۱	۰/۰۴
۱۶	ارتفاع ساقه گل دهنده	۰/۹۳	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۰۱



شکل ۳. دندروگرام مربوط به گروه‌بندی ۲۵ نمونه جنس زعفران (*C. sativus*, *C. speciosus* و *C. cancellatus*) با استفاده از صفات مورفولوژیکی براساس ضریب تشابه اقلیدسی و الگوریتم UPGMA

(جدول ۶). آغازگرهای استفاده‌شده در مجموع ۱۶۱ باند DNA تولید کردند که از بین آن‌ها هشت باند تک‌شکل و ۱۵۳ باند چندشکل بودند که بیانگر درصد بالای

نتایج نشانگر ISSR برای بررسی چندشکلی DNA بین نمونه‌های گونه‌های زعفران مطالعه‌شده ۱۳ آغازگر ISSR استفاده شد

ضریب همبستگی کوفنتیکی بین ماتریس تشابه و دندروگرام،  $r=0/84$  محاسبه شد که نشان‌دهنده همبستگی قابل قبول ماتریس تشابه و دندروگرام است. در دندروگرام حاصل از ماتریس تشابه در حد تشابه ۰/۴۰ درصد نمونه‌ها به هشت گروه تقسیم شدند (شکل ۴). در گروه اول نمونه‌های مربوط به *C. speciosus* قرار گرفتند.

در گروه دوم، نمونه‌های مناطق میمه-ایلام، مرغ گلپایگان، شازند، روستاهای موچان، آب‌باریک و ساکی شازند، ازنا و روستاهای مربوط به منطقه خمین قرار گرفتند که مربوط به *C. cancellatus* بودند. در گروه سوم نمونه‌های مربوط به *C. cancellatus* از جمله منطقه خوانسار، اراک و چشمه‌پهن-ایلام قرار گرفتند. گروه چهارم شامل نمونه‌های مربوط به *C. cancellatus* بود که روستاهای حسن‌آباد، تجمار-شازند و کودزر-خمین را در خود جای داد. گروه پنجم شامل نمونه خرم‌آباد از *C. cancellatus* بود. زعفران اهلی گروه ششم را تشکیل داد که در تشابه ۰/۴۰ درصد از گونه‌های وحشی جدا شد، ولی در حد تشابه ۰/۳۶ درصد به *C. cancellatus* شباهت داشت. گروه هفتم نمونه مربوط به منطقه دهلران ایلام از *C. cancellatus* را تشکیل داد. نمونه خمین متعلق به *C. cancellatus* در گروه هشتم قرار گرفت.

چندشکلی در بین نمونه‌های مطالعه شده است. تعداد باندهای تولیدشده توسط هر آغازگر متفاوت بود، به طوری که آغازگر ISCS30 با تولید ۲۰ باند بیشترین و آغازگرهای IS4 و IS23 با تولید شش باند کمترین باند را تولید کردند. بیشترین درصد چندشکلی (۱۰۰ درصد) مربوط به آغازگرهای ISCS8، ISCS9، ISCS65، ISCS30، IS4، IS23 و UBC810 و کمترین درصد چندشکلی (۷۷/۷۷ درصد) مربوط به آغازگرهای IS11 و ISCS12 بود. میانگین درصد چندشکلی در آغازگرهای استفاده شده ۹۴/۴۶ بود. بیشترین قدرت تفکیک آغازگرها مربوط به ISCS30 به مقدار ۱۱/۸۴ و کمترین آن به آغازگر IS9 به میزان ۲/۸ بود که نشان می‌دهد آغازگرهای سری ISCS در تولید باندهای چندشکل و تفکیک نمونه‌ها از آغازگرهای IS بهتر عمل کردند و این سری از آغازگرها برای جنس زعفران مناسب‌اند. اندازه باندها در تمام آغازگرها محدوده بین ۵۰۰ تا ۱۸۰۰ جفت باز تخمین زده شد. براساس نتایج به دست آمده از ماتریس تشابه بیشترین تشابه ژنتیکی (۰/۷۵ درصد) بین نمونه‌های کنگاور با روان‌سر (متعلق به *C. speciosus*) و کمترین تشابه ژنتیکی (۰/۱۱ درصد) بین نمونه‌های خانه‌میران-اراک با حسن‌آباد-شازند (متعلق به *C. cancellatus*) بود (جدول ۷).

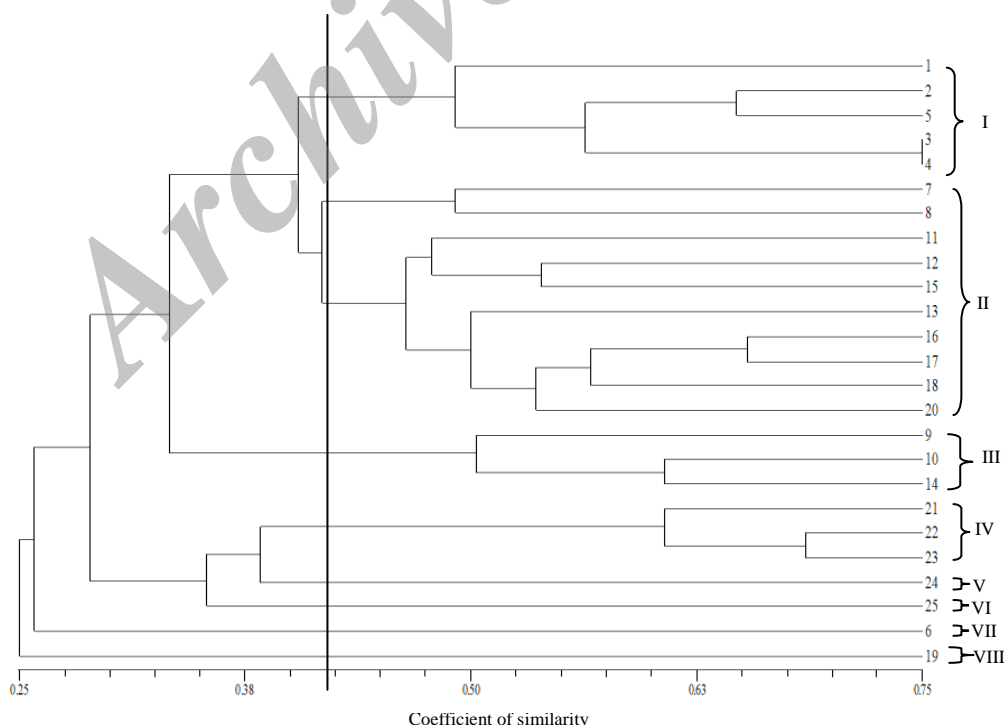
جدول ۶. نتایج آغازگرهای ISSR استفاده شده در مطالعه ۲۵ نمونه متعلق به جنس زعفران

شماره	آغازگر	تعداد قطعات تکثیرشده	تعداد قطعات چندشکلی	درصد چندشکلی	قدرت تفکیک آغازگرها	دمای اتصال (درجه سانتی‌گراد)
۱	ISCS1	۱۶	۱۵	۹۳/۷۵	۸/۹۶	۵۱
۲	ISCS8	۱۳	۱۳	۱۰۰	۷/۲۸	۵۱/۵
۳	ISCS9	۱۸	۱۸	۱۰۰	۹/۲	۵۱
۴	ISCS10	۱۷	۱۶	۹۴/۱۱	۸/۴۸	۵۱
۵	ISCS12	۹	۷	۷۷/۷۷	۴/۵۶	۵۱/۵
۶	ISCS48	۱۶	۱۵	۹۳/۷۵	۸/۷۲	۵۳/۴
۷	ISCS65	۱۲	۱۲	۱۰۰	۶	۵۲/۴
۸	ISCS30	۲۰	۲۰	۱۰۰	۱۱/۸۴	۵۳/۵
۹	IS4	۶	۶	۱۰۰	۳/۸۴	۴۶/۹
۱۰	IS11	۹	۷	۷۷/۷۷	۵/۸۴	۴۴/۲
۱۱	IS9	۱۱	۱۰	۹۰/۹۰	۲/۸	۴۸
۱۲	UBC810	۸	۸	۱۰۰	۳/۲	۴۶/۹
۱۳	IS23	۶	۶	۱۰۰	۵/۱۲	۴۸
-	مقدار کل	۱۶۱	۱۵۳	-	۸۵/۳۹	-
-	میانگین	۱۲/۳۸	۱۱/۷۶	۹۴/۴۶	۶/۵۶	-



جدول ۷. ضریب تشابه ژنتیکی جاکارد بین ۲۵ نمونه متعلق به جنس زعفران براساس داده‌های حاصل از نشانگر ISSR

	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳	۱۴	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	۲۲	۲۳	۲۴	۲۵	
۱	۱/۰۰																									
۲	۰/۴۹	۱/۰۰																								
۳	۰/۵۶	۰/۵۹	۱/۰۰																							
۴	۰/۴۶	۰/۵۷	۰/۷۵	۱/۰۰																						
۵	۰/۴۶	۰/۶۵	۰/۵۸	۰/۵۳	۱/۰۰																					
۶	۰/۲۰	۰/۲۸	۰/۲۴	۰/۱۸	۰/۲۸	۱/۰۰																				
۷	۰/۳۹	۰/۴۰	۰/۴۴	۰/۳۸	۰/۴۹	۰/۲۷	۱/۰۰																			
۸	۰/۳۲	۰/۴۵	۰/۴۳	۰/۳۸	۰/۴۸	۰/۳۲	۰/۴۹	۱/۰۰																		
۹	۰/۲۷	۰/۳۶	۰/۳۰	۰/۲۶	۰/۳۶	۰/۲۱	۰/۳۶	۰/۴۱	۱/۰۰																	
۱۰	۰/۲۲	۰/۳۰	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۳۱	۰/۲۱	۰/۳۷	۰/۳۹	۰/۵۲	۱/۰۰																
۱۱	۰/۲۵	۰/۵۳	۰/۳۴	۰/۳۳	۰/۵۰	۰/۲۶	۰/۳۳	۰/۴۶	۰/۳۷	۰/۳۱	۱/۰۰															
۱۲	۰/۲۷	۰/۴۳	۰/۴۳	۰/۴۱	۰/۴۵	۰/۳۶	۰/۳۷	۰/۴۹	۰/۳۶	۰/۲۹	۰/۵۳	۱/۰۰														
۱۳	۰/۲۶	۰/۴۲	۰/۳۳	۰/۲۷	۰/۳۹	۰/۲۷	۰/۳۰	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۳۷	۰/۴۴	۰/۴۳	۱/۰۰													
۱۴	۰/۲۹	۰/۳۶	۰/۳۲	۰/۳۰	۰/۳۰	۰/۲۳	۰/۳۹	۰/۴۲	۰/۴۸	۰/۶۱	۰/۲۹	۰/۳۴	۰/۳۹	۱/۰۰												
۱۵	۰/۳۸	۰/۵۲	۰/۴۴	۰/۴۱	۰/۵۰	۰/۲۸	۰/۴۲	۰/۴۱	۰/۳۷	۰/۲۷	۰/۴۳	۰/۵۴	۰/۴۲	۰/۳۸	۱/۰۰											
۱۶	۰/۳۳	۰/۵۱	۰/۴۱	۰/۳۷	۰/۵۲	۰/۳۵	۰/۴۴	۰/۵۱	۰/۳۹	۰/۳۴	۰/۴۸	۰/۵۱	۰/۵۴	۰/۳۷	۰/۵۴	۱/۰۰										
۱۷	۰/۳۵	۰/۵۳	۰/۴۵	۰/۴۶	۰/۴۸	۰/۲۷	۰/۴۲	۰/۴۹	۰/۳۵	۰/۳۳	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۳۳	۰/۵۶	۰/۶۵	۱/۰۰										
۱۸	۰/۳۱	۰/۴۵	۰/۴۲	۰/۳۶	۰/۴۸	۰/۲۷	۰/۴۳	۰/۴۷	۰/۳۹	۰/۳۳	۰/۵۱	۰/۴۷	۰/۵۱	۰/۳۷	۰/۵۰	۰/۵۸	۰/۵۶	۱/۰۰								
۱۹	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۴	۰/۲۱	۰/۲۴	۰/۱۶	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۲۹	۰/۴۱	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۳۹	۰/۲۵	۰/۳۰	۰/۳۰	۱/۰۰							
۲۰	۰/۳۰	۰/۴۵	۰/۳۴	۰/۳۶	۰/۴۵	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۳۹	۰/۳۱	۰/۲۴	۰/۳۷	۰/۳۸	۰/۵۲	۰/۳۱	۰/۴۹	۰/۵۷	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۳۲	۱/۰۰						
۲۱	۰/۳۱	۰/۳۲	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۳۲	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۲۴	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۲۴	۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۲۱	۰/۲۸	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۲۶	۰/۱۷	۰/۳۳	۱/۰۰					
۲۲	۰/۳۸	۰/۳۴	۰/۲۸	۰/۳۱	۰/۳۵	۰/۲۲	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۱۷	۰/۱۵	۰/۲۶	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۰	۰/۲۹	۰/۳۵	۰/۳۳	۰/۲۷	۰/۲۰	۰/۳۴	۰/۶۵	۱/۰۰				
۲۳	۰/۴۱	۰/۳۵	۰/۲۸	۰/۲۸	۰/۳۷	۰/۲۴	۰/۲۶	۰/۲۸	۰/۱۸	۰/۱۹	۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۲۷	۰/۲۳	۰/۳۱	۰/۳۵	۰/۳۴	۰/۲۹	۰/۲۳	۰/۳۲	۰/۵۶	۰/۶۹	۱/۰۰			
۲۴	۰/۳۰	۰/۳۷	۰/۳۴	۰/۳۳	۰/۴۴	۰/۲۴	۰/۳۴	۰/۳۲	۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۳۶	۰/۳۷	۰/۳۰	۰/۲۹	۰/۴۱	۰/۳۷	۰/۴۴	۰/۳۷	۰/۲۸	۰/۴۳	۰/۳۷	۰/۳۸	۰/۴۰	۱/۰۰		
۲۵	۰/۳۳	۰/۲۹	۰/۲۷	۰/۲۵	۰/۳۴	۰/۲۴	۰/۳۳	۰/۲۸	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۶	۰/۲۴	۰/۲۹	۰/۲۹	۰/۲۵	۰/۳۲	۰/۲۶	۰/۲۹	۰/۲۰	۰/۳۳	۰/۳۵	۰/۳۹	۰/۳۶	۰/۳۲	۱/۰۰	



شکل ۴. دندروگرام مربوط به گروه‌بندی ۲۵ نمونه‌های جنس زعفران (*C. sativus*، *C. speciosus* و *C. cancellatus*) با استفاده از داده‌های ISSR، ماتریس تشابه جاکارد و روش UPGMA (اسمی نمونه‌ها بر اساس جدول ۱ است).

## بحث

توالی‌های مختلفی با تمامی آغازگرهای آزمایش شده داشت. *Beiki et al.* (2010)، با بررسی گونه‌های جنس *Crocus* در ایران با نشانگر RAPD به این نتیجه رسیدند که تنوع بالایی بین گونه‌های مختلف جنس *Crocus* وجود دارد و آن‌ها به این نتیجه رسیدند که *C. speciosus* به زعفران اهلی شباهت بیشتری دارد. با وجود این نتایج این پژوهش نشان داد که نشانگر ISSR می‌تواند به خوبی چندشکلی موجود میان گونه‌ها را نشان دهد و آن‌ها را از هم تفکیک کند. بنه دو گونه زعفران وحشی ایرانی (*Crocus speciosus* و *Crocus cancellatus*) به‌منزله سبزی فصلی در فصل بهار مصرف می‌شوند. نتایج بررسی میزان عناصر پرمصرف و کم‌مصرف صورت آن‌ها نشان داد میزان عناصر کلسیم (۳۵۰ mg/100 g fw)، پتاسیم (۵۲۰ mg/100 g fw)، فسفر (۲۰۰ mg/100 g fw)، منیزیم (۹۰ mg/100 g fw)، مس (۹/۶ mg/100 g fw) و آهن (۳۵/۳۵ mg/100 g fw) در گونه *Crocus speciosus* از دو گونه دیگر بیشتر بود. با توجه به اینکه عناصر کلسیم، منیزیم و فسفر برای استخوان و تشکیل دندان ضروری‌اند (Otinola et al., 2010) و بُنه گونه‌های زعفران وحشی در مقایسه با سبزی‌هایی مانند پیازچه (کلسیم: ۸۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، منیزیم: ۵۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، فسفر: ۴۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی)، تربچه (کلسیم: ۲۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، منیزیم: ۱۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، فسفر: ۲۸ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی)، چغندر لبویی (کلسیم: ۲۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، منیزیم: ۲۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، فسفر: ۴۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی)، پیاز (کلسیم: ۲۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، منیزیم: ۱۱ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، فسفر: ۳۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی) و هویج (کلسیم: ۳۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، منیزیم: ۱۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی، فسفر: ۴۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم قسمت خوراکی) (Hassandokht, 2012) بیشتری دارد، بنابراین بُنه‌های این گیاهان وحشی می‌تواند به‌منزله یک سبزی با ارزش غذایی بالا استفاده شود (Khansarinejad et al., 2013).

طی آزمایش‌هایی که به‌طور جدی از سال ۲۰۰۴ تاکنون بر روی گونه‌های مختلف جنس زعفران و مقایسه آن‌ها با زعفران اهلی توسط نشانگرهای RAPD، ISSR و SSR انجام شده است نتایج مختلفی توسط پژوهشگران گزارش شده است. *Beiki et al.* (2013) تنوع وراثتی ژنتیکی گونه زعفران زراعی را با گونه‌های خودرو *C. speciosus*، *C. cancellatus*، *C. caspius* و *C. haussknechtii* توسط نشانگر ISSR بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که *C. sativus* با ضریب تشابه ۰/۴۸ بیشترین شباهت را به *C. cancellatus* از استان فارس داشت و آن‌ها اظهار کردند که تنوع ژنتیکی بالایی در بین گونه‌های جنس زعفران وجود دارد، که با نتایج این پژوهش مشابه بود. *Alavi-Kia et al.* (2008) با بررسی تنوع ژنتیکی و روابط فیلوژنتیکی با استفاده از نشانگرهای اینتر-رتروترانسپوزون در بین جنس‌های زعفران در ایران (*C. sativus*، *C. almehensis*، *C. michelsonii*، *C. cancellatus*، *C. gilanicus*، *C. haussknechtii*) اظهار داشتند که دو گونه *C. almehensis* و *C. michelsonii* بیشترین شباهت را به گونه *C. sativus* دارد و ممکن است این دو گونه اجداد وحشی *C. sativus* باشند. *Grilli Caiola et al.* (2004) با نشانگر RAPD به این نتیجه رسیدند که *C. sativus* به منشأ آن یونان است، بسیار شباهت دارد و این گونه می‌تواند جد زعفران اهلی باشد. او این نظریه را که *C. pallasii* ممکن است جد زعفران اهلی باشد، رد کرد. *Rubio Moraga et al.* (2010)، با بررسی سه گونه *C. sativus*، *C. cartwrightianus* و *C. cartwrightianus* cv. *albus* به این نتیجه رسیدند که واریته آلبوس بیشترین شباهت را به زعفران اهلی دارد. *Rubio Moraga et al.* (2009)، ۴۴ نمونه زعفران اهلی از کشورهای مختلف و *C. kotschyanus* را توسط نشانگرهای ISSR، RAPD و SSR بررسی کردند. در این مطالعه ۴۸ آغازگر ISSR استفاده شد، ولی هیچ باند چندشکلی مشاهده نشد. آن‌ها گزارش کردند که گونه اهلی زعفران کلون است و نمونه‌ها نه تنها از نظر صفات مورفولوژیکی، بلکه از نظر مولکولی نیز همه یکسان بودند، در حالی که گونه *C. kotschyanus* باندهایی با اندازه‌ها و

## REFERENCES

1. Abrishami, M.H. (2004). *Saffron has long been today*. Amirkabir Publishers. 832pp. (In Farsi)
2. Alavi-Kia, S.S., Mohammadi, S.A., Aharizad, S. & Moghaddam, M. (2008). Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships in *Crocus* genus of Iran using inter-retrotransposon amplified polymorphism. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 22 (3), 795-800.
3. Beiki, A., Keifi, F. & Mozafari, J. (2010). Genetic differentiation of *Crocus* species by random amplified polymorphic DNA. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal*, 2010, 1-10.
4. Beiki, A.H., Abbaspour, N. & Mozafari, J. (2013). Evaluation of the genetic diversity of cultivated and wild *Crocus* using ISSR markers in Iran. *Cellular and Molecular Research*, 26 (2), 164-173. (In Farsi)
5. Ebrahimzadeh, H., Radjabian, T., Karamian, R., Abrishamchi, P. & Saboora, A. (2006). *Iranian saffron at Research*. Ettelaat Publishers. 644pp. (In Farsi)
6. Ghahreman, A. & Atar, F. (1998). *Biodiversity of plant species in Iran*. Tehran University Publishers. 212pp. (In Farsi)
7. Grilli Caiola, M., Caputo, P. & Zanier, R. (2004). RAPD analysis in *Crocus sativus* L. accessions and related *Crocus* species. *Biologia Plantarum*, 48(3), 375-380.
8. Grilli Caiola, M. & Canini, A. (2010). Looking for saffron's (*Crocus sativus* L.) parents. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 4, 1-14.
9. Grilli Caiola, M., Leonardi, D. & Canini, A. (2010). Seed structure in *Crocus sativus* L. × *C. cartwrightianus* Herb., *C. thomasi* Ten., and *C. hadriaticus* Herb. *Plant Systematics and Evolution*. 285, 111-120.
10. Grilli Caiola, M. & Faoro, F. (2011). Latent virus infections in *Crocus sativus* and *Crocus cartwrightianus*. *Phytopathologia Mediterranea*, 50, 175-182.
11. Hassandokht, M.R. (2012). *Technology of vegetable production*. Selseleh Publications. 576pp. (In Farsi)
12. Jahangirzadeh Khiavi, S., Zamani, Z., Mardi, M. & Moghdam, M.F. (2013). Evaluation of chloroplast relationship between some apple genotype from Azerbaijan of Iran and their comparison with other local genotypes, cultivars and rootstocks. *African Journal of Agricultural Research*, 8, 106-112.
13. Khansarinejad, B., Hassandokht, M. R. & Nazeri, V. (2013). Determination of some macro and micro elements in two Iranian edible *Crocus* species. In: *The 8th Horticultural Congress*, 26-29 Aug, Buali Sina University, Hamedan, Iran, pp. 2845-2846.
14. Ogunola G., B. Oloyede O., T. Oladiji A. & J. Afolayan A. (2010). Comparative analysis of the chemical composition of three spices- *Allium sativum* L. *Zingiber officinale* Rosc. and *Capsicum frutescens* L. commonly consumed in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, 9(41), 6927-6931.
15. Özdemir, C., Akyol, Y. & Alcitepe, E. (2004). Morphological and anatomical studies on two endemic *Crocus* species of Turkey area. *Pakistan Journal of Botany*, 36(1), 103-113.
16. Rao, V. & Hodgkin, T. (2002). Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 68, 1-19.
17. Rechinger, KH. (1969). Iridaceae. in: Rechinger K.H. (ed), *Flora Iranica*. Akademische Druck-u, Verlagsantalt, Graz, Austria, 66, 187-203.
18. Rubio-Moraga, A., Castillo-López, R., Gomez-Gomez, L. & Ahrazem, O. (2009). Saffron is a monomorphic species as revealed by RAPD, ISSR and microsatellite analyses. *BMC Research Notes*, 2(189), 1-5.
19. Rubio Moraga, A., Trapero-Mozos, A., Gemez-Gemez, L. & Ahrazem, O. (2010). Intersimple sequence repeat markers for molecular characterization of *Crocus cartwrightianus* cv. *albus*. *Industrial Crops and Products*, 32, 147-151.
20. Wani, B.A. & Mohiddin, F.A. (2009). Micropropagation of genus *Crocus* - a review. *African Journal of Agricultural Research*, 4 (13), 1545-1548.
21. Nazzal, K., Shibli, R., Makhadmeh, I. & Syouf, M. (2011). Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis in *Crocus* spp. collected from Northern Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 7, 1-8.