

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های سه گونه بابونه *Matricaria recutita* L.، *Anthemis tinctoria* L. و *Tripleurospermum sevanense* (Manda) pobed به وسیله پروتئین‌های کل و تعیین ارتباط آن با عوامل جغرافیایی

Genetic Diversity of *Anthemis tinctoria* L., *Matricaria recutita* L. and *Tripleurospermum sevanense* (Manda) pobed Populations Using Total Proteins and Its Association with Geographical Factors

مهشید طریقی^۱ و پروین صالحی شانجانلی^۲

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه اصلاح نباتات، کرج
۲- استادیار، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۱۲

چکیده

طریقی، م. و صالحی شانجانلی، پ. ۱۳۹۲. تنوع ژنتیکی جمعیت‌های سه گونه بابونه *Matricaria recutita* L.، *Anthemis tinctoria* L. و *Tripleurospermum sevanense* (Manda) pobed به وسیله پروتئین‌های کل و تعیین ارتباط آن با عوامل جغرافیایی. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۲۹-۸۰۳:۲۹۱-۷۹۱.

بابونه از گیاهان داروئی با ارزش است که در ایران از شمال تا جنوب به صورت خود رو می‌روید. برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های وحشی بابونه و تعیین ارتباط آن با عوامل اکولوژیکی، الگوی پروتئینی ۱۷۰ ژنوتیپ از یازده جمعیت *Anthemis tinctoria* یک جمعیت *Matricaria recutita* و پنج جمعیت *Tripleurospermum sevanense* تعیین شد. بر اساس نتایج SDS-PAGE، ۳۴ باند قابل تکثیر پپتید پروتئینی برای مطالعه تنوع ژنتیکی مشاهده شد. میانگین تعداد باندهای چند شکل نسبت به کل باندها در کلیه جمعیت‌ها از ۰/۱۴۱ در AT-بانه ۲ تا ۰/۳۶۱ در AT-سردشت متغیر بود. میانگین فاصله ژنتیکی کل بین جمعیت‌ها ۰/۱۷۹ بود، که بیشترین فاصله (۰/۶۴۵) بین دو جمعیت TS- قزوین و AT-بانه ۲ و کمترین فاصله (۰/۰۲۵) بین دو جمعیت TS- خرم‌آباد و TS- اردبیل ۱ مشاهده شد. هیچ ارتباطی بین ویژگی‌های ژنتیکی و عوامل جغرافیایی مشاهده نشد. همبستگی بین ماتریس فاصله‌های ژنتیکی و جغرافیایی به وسیله آزمون مانتل ثابت نشد و ضریب همبستگی بین آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود ($R^2 = 0.03$, $P = 0.235$). این مسئله نیز نشان‌دهنده عدم وجود شیب محیطی در گوناگونی پروتئین‌های کل بود. افزایش اساس ژنتیکی برای مقاصد اصلاح بابونه می‌تواند به وسیله کاربرد سیستماتیکی ذخایر توارثی که الگوی پروتئینی متفاوتی داشته و ویژگی‌های کیفی بهتری دارند، حاصل شود.

واژه‌های کلیدی: بابونه، گونه‌های وحشی، SDS-PAGE، تنوع ژنتیکی، پروتئین‌های کل.

مقدمه

بابونه به طور کلی به تعدادی از گیاهان گفته می‌شود که از خانواده گیاهی کمپوزیته (Compositae) و تیره فرعی Radiea؛ ولی از جنس‌ها (Anthemis, Matricaria, Tripleurospermum و Tanasetum) گونه‌های مختلف و متفاوت است که علی‌رغم اختلافاتی که در بین آن‌ها وجود دارد از نظر شکل ظاهری تا حدودی شبیه به هم هستند. بابونه یکی از مهم‌ترین داروهای شناخته شده توسط انسان و یکی از پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی در اروپا، خاورمیانه، آمریکای شمالی، استرالیا و کشورهای آفریقایی است که عمدتاً به منظور استفاده از اسانس آبی رنگ آن کشت می‌شود و با توجه به کاربرد روزافزون آن در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، عطرسازی و تهیه چاشنی‌های غذایی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. با رویگردانی جوامع مدرن از مصرف داروهای شیمیایی و تمایل روزافزون به داروها و مواد مصرفی با منشأ طبیعی به دلیل مزایای آن، صنعت گیاهان دارویی و گردش مالی آن در چند دهه اخیر با سرعت زیادی رو به رشد است، به طوری که توجه خاص دولت‌ها را به منظور بهره‌مند شدن از بخشی از گردش مالی چند ده میلیارد دلاری به خود معطوف داشته است (Yazdani and Shahnazi, 2006). تنوع و تمایز بین و درون جمعیتی به صورت سنتی به وسیله ویژگی‌های مورفولوژیکی

و زراعی انجام می‌شود (Ganji Moghaddam and Talaie, 2006)؛ (Masoudi et al., 2008) ولی از آن جایی که این ویژگی‌ها تحت تاثیر عوامل محیطی بوده، مطالعه آنها برآورد صحیحی را از میزان تنوع ژنتیکی به دست نخواهد داد. در حالی که عوامل محیطی نمی‌توانند بسیاری از نشانگرهای مولکولی و بیوشیمیایی را متاثر نمایند، گوناگونی حاصل از این نشانگرها تنوع موجود در سطح ژن‌ها را نشان می‌دهد (Ghafoor et al., 2008). مهمترین شرط کاربرد و اصلاح ذخایر گیاهی، شناخت ساختار ژنتیکی آن‌ها است. زیربنای هر برنامه به‌نژادی از طریق پارامترهای ژنتیکی پی‌ریزی می‌شود، بنابراین آگاهی از تنوع و تمایز ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و اطلاع از نحوه عمل ژن‌های مربوطه، برای برنامه‌ریزی‌های به‌نژادی ضروری است (Kehr, 1960). یکی از روش‌های بررسی تنوع در جوامع مختلف گیاهی، الکتروفورز پروتئین‌هاست. از حدود ۳۰ سال قبل محققان دریافته‌اند که مطالعه پلی‌مورفیسم پروتئین‌ها اهمیت خاصی در علوم ژنتیک، اصلاح نباتات، بیوشیمی و تکامل داشته و می‌تواند نقش مهمی در اصلاح نباتات ایفا کند. الگوی پروتئینی بسیاری از گیاهان تاکنون با اهدافی مثل مطالعه تنوع ژنتیکی و شناسایی ارقام زراعی مطالعه شده است که می‌توان برای نمونه از مطالعاتی که بر روی گیاهانی از جمله (Duvall and Biesboer, 1988) Poaceae

انجام شد. از هفده جمعیت مورد مطالعه (هر جمعیت ده تکرار به صورت مجزا و تک به تک) میزان یک گرم برگ جدا شد. برگ‌ها به نسبت ۱:۱ با محلول استخراج (۵ میلی‌لیتر از محلول Tris-HCl، ۲۰۰ میکرولیتر از محلول Na₂EDTA و ۲۰ میکرولیتر مرکاپتواتانول را به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده) در هاون سرد همگن شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (یخچال) نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت، به منظور صاف کردن نمونه‌ها، در سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. به میزان ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها برداشته و با ۱۰۰ میکرولیتر محلول (base buffer (Tris-HCl نیم مولار pH=۶/۸، SDS ۰/۲٪ و ۲- مرکاپتواتانول ۰/۵٪، گلیسرول ۱٪ و برموفنل بلو ۰/۰۲٪) مخلوط شدند. نمونه‌ها به خوبی تکان داده شده و به مدت ۳ دقیقه در بن‌ماری ۱۰۰ درجه جوشانده شدند. نمونه‌ها بعد از این مرحله به فریزر منتقل شدند. مقدار ۷۰ میکرولیتر از هر نمونه بر روی ژل سدیم دودسیل سولفات پلی‌اکریل آمید بارگیری شد. ژل‌ها پس از انجام الکتروفورز به مدت ۳۰ دقیقه داخل محلول تثبیت (شامل ۲۰ گرم تری کلرو استیک اسید در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب) قرار گرفت. سپس به مدت ۲۴ ساعت در محلول رنگ آمیزی (شامل کماسی بلو ۰/۲۵٪، متانل ۰/۲۵٪ و اسید استیک ۱۰٪) رنگ آمیزی شدند. در نهایت ژل‌ها جهت امکان وضوح باندهای پروتئین به مدت

(Misset and Fronteelle, 1992) Fabaceae، (*Pisum sativum* (Nisar et al., 2006)) جمعیت‌های گندم (Mohd et al., 2007)، سه گونه ارقام پنبه (Naveed et al., 2005)، بو مادران *A. nobilis*، *A. millefolium* و (*Achillea biberstini* (Nadiri et al., 2013) و *Anthemis* spp. و *Matricaria* spp. و (Pirkhezri and Hasani, 2009) انجام شده نام برد که عموماً حاکی از کاربرد بالای مارکر پروتئین در شناسایی گونه‌ها و ارقام مختلف یک گونه است، این مسئله نشان دهنده تنوع درون و میان گونه‌ای مارکر پروتئین‌های ذخیره‌ای است. نتایج بسیاری نیز وجود دارد که حاکی از عدم جداسازی ارقام مختلف توسط پروتئین‌های گیاه است (Malik et al., 2009؛ Javaid et al., 2004؛ Sihag et al., 2004).

این تحقیق با هدف امکان استفاده از مارکر پروتئینی در شناسایی جنس‌های مختلف و شناسایی تنوع ژنتیکی و پلی مورفیسم درون و بین گونه‌ای بابونه بر اساس پروتئین‌های کل انجام شد.

مواد و روش‌ها

بذر جمعیت‌های مورد مطالعه از مزرعه موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شد. ابتدا بذرها در گلدان نشاکاری شده، پس از انتقال به مزرعه تحقیقاتی واقع در پردیس شماره ۲ موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور و رسیدن به اندازه مورد نظر، نمونه‌برداری از آن‌ها

۱۲ ساعت در دو مرحله در محلول رنگبر (شامل متانول ۲۵٪ و اسیداستیک ۱۰٪) قرار گرفت. دستگاه مولد برق با ولتاژ ۱۸۰ ولت با شدت جریان ۸۰ میلی‌آمپر تنظیم شد. زمان جداسازی پروتئین حدود ۵ ساعت و میزان حرکت عصاره در ژل ۱۰ سانتی‌متر بود.

اطلاعات حاصل از پروتئین‌های کل به صورت باندهای مجزای پروتئینی برای هر ژنوتیپ روی ژل پلی‌آکریل‌آمید نمایان شد. جایگاه هر باند از طریق حرکت نسبی آن‌ها مشخص و به صورت اعداد کمی بیان شد. براساس وجود (عدد یک) و یا عدم وجود هر باند (عدد صفر) در فواصل مختلف نسبت به تشکیل ماتریس داده‌ها اقدام شد. فراوانی باندها، نسبت تعداد باندهای پلی‌مورف نسبت به تعداد کل باندها و پلی‌مورفیسم باندها با نرم‌افزار Gene Alex محاسبه شد. تسهیم گوناگونی ژنتیکی درون و میان‌گروهی توسط آزمون واریانس مولکولی (AMOVA) و برنامه نرم‌افزاری Arlequin 101 تعیین شد (Schniedr *et al.*, 1997). اهمیت هر جزء واریانس با آزمون Permutation مطالعه شد (Excoffier *et al.*, 1992). فاصله ژنتیکی برای ۱۷ جمعیت بابونه بر اساس معادله Nei and Li (1979) برآورد شد. از آزمون تجزیه خوشه‌ای و روش تجزیه به مولفه‌های اصلی برای تفسیر ماتریس فاصله ژنتیکی استفاده شد. برای بررسی همبستگی بین صفات ژنتیکی و عوامل جغرافیایی از نرم‌افزار SPSS و معادله

کارل-پیرسون استفاده شد. همبستگی کلیه صفات با یکدیگر با استفاده از آزمون منتل و توسط نرم‌افزار Mega مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

مشخصات و ویژگی‌های مکان‌های جمع‌آوری جمعیت‌های بابونه مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

در این تحقیق الگوی پروتئینی ۱۷ جمعیت بابونه برای تعیین تنوع ژنتیکی موجود مورد بررسی قرار گرفت که در مجموع تعداد ۳۴ باند مشاهده شد. مقایسه تعداد باند در میان جمعیت‌های مختلف بابونه نشان داد که فقط جمعیت TS-کرج دارای ۳۴ باند بود. هیچ باند نادری در میان جمعیت‌های مختلف بابونه مشاهده نشد. نتایج نشان داد که بیشترین درصد چندشکلی باندها مربوط به جمعیت AT-سردشت (۸۸/۲۴٪) و کمترین آن مربوط به جمعیت AT-بانه ۲ (۴۱/۱۸٪) با میانگین کل پلی‌مورفیسم برابر ۶۸/۱۷٪ می‌باشد (جدول ۲). نتایج این پژوهش حاکی از وجود تنوع ژنتیکی بالایی به ترتیب بیشترین و کمترین میزان تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی) در جمعیت‌های AT-سردشت (۳۶۱/۰) و در AT-بانه ۲ (۱۴۱/۰) بود. برای تشریح فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های هر گونه از معادله Nei در گیاهک‌های جمعیت‌های مناطق مختلف استفاده شد که بر اساس آن مقدار فاصله ژنتیکی در گونه *A. tinctoria* از ۰/۰۷۴ (بین جمعیت‌های

جدول ۱- نام و ویژگی‌های مکانی ۱۷ جمعیت از سه گونه بابونه ایران

Table 1. Name and location characteristics of 17 populations of three chamomile species

محل جمع‌آوری	کد بانک زن	نام	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا
Location	Gene bank code	Name	Longitude	Latitude	Altitude(m)
Sardasht	سردشت 27507	Sardasht	سردشت 45°-53'	36°-15'	1500
Naghade	نقده 18047	Naghade 1	نقده ۱ 45°-36'	36°-95'	1350
Naghade	نقده 18041	Naghade 2	نقده ۲ 45°-36'	36°-95'	1350
Naghade	نقده 18027	Naghade 3	نقده ۳ 45°-36'	36°-95'	1350
Piranshahr	پیرانشهر 27480	Piranshahr	پیرانشهر 45°-13'	36°-7'	1460
Urumie	ارومیه 14221	Urumie	ارومیه 45°-03'	37°-53'	1332
Khalkhal	خلخال 12352	Khalkhal	خلخال 48°-51'	37°-61'	1750
Gharechaman	قره‌چمن 24770	Gharechaman	قره‌چمن 47°-71'	37°-41'	1100
Miyane	میانه 19943	Miyane	میانه 47°-71'	37°-41'	1100
Bane	بانه 19495	Bane 1	بانه ۱ 45°-88'	35°-98'	1540
Bane	بانه 9787	Bane 2	بانه ۲ 45°-88'	35°-98'	1540
Ardebil	اردبیل 8394	Ardebil 1	اردبیل ۱ 48°-3'	38°-25'	1311
Ardebil	اردبیل 13327	Ardebil 2	اردبیل ۲ 48°-3'	38°-25'	1311
Ghazvin	قزوین 12956	Ghazvin	قزوین 50°-0'	36°-26'	1290
Karaj	کرج 1087	Karaj	کرج 51°-0'	35°-81'	1360
Khoramabad	خرم‌آباد 12211	Khoramabad	خرم‌آباد 48°-35'	33°-48'	1200
Isfahan	اصفهان 14324	Isfahan	اصفهان 34°-8'	48°-51'	1850

جدول ۲- برخی پارامترهای تنوع ژنتیکی (فراوانی باندهای پروتئین) ۱۷ جمعیت از سه گونه بابونه ایران
 Table 2. Some genetic diversity characteristics of 17 Iranian populations of three chamomile species

Population	جمعیت	تعداد باند No. Bands	باندهای با فراوانی $\leq 5\%$ Band with $\leq 5\%$ freq.	باندهای با فراوانی $\geq 25\%$ Band with $\geq 25\%$ freq.	باندهای با فراوانی $\geq 50\%$ Band with $\geq 50\%$ freq.	هتروزیگوسیتی باندها Heterozygosity of band	درصد پلی مورفیسم Polymorphism (%)
<i>Anthemis tinctoria</i>							
Sardasht	سردشت	30	30	1	2	0.361	0.029
Naghade 1	نقده ۱	28	28	0	0	0.286	0.033
Naghade 2	نقده ۲	27	27	0	0	0.254	0.029
Naghade 3	نقده ۳	18	18	0	0	0.173	0.034
Piranshahr	پیرانشهر	27	27	0	0	0.239	0.037
Urumie	ارومیه	25	25	0	1	0.258	0.035
Khalkhal	خلخال	26	26	0	1	0.284	0.033
Gharechaman	قره چمن	21	21	0	0	0.190	0.035
Miyane	میانه	20	20	0	0	0.188	0.033
Bane 1	بانه ۱	27	27	0	0	0.258	0.035
Bane 2	بانه ۲	19	19	0	0	0.141	0.033
Mean	میانگین	24.36	24.36	-	-	0.239	0.033
<i>Tripleurospermum savenens</i>							
Ardebil 1	اردبیل ۱	33	33	3	4	0.341	0.032
Ardebil 2	اردبیل ۲	30	30	0	1	0.253	0.038
Ghazvin	قزوین	32	32	2	4	0.256	0.041
Karaj	کرج	34	34	3	5	0.332	0.032
Khoramabad	خرم آباد	33	33	3	5	0.316	0.035
Mean	میانگین	32.4	32.4	-	-	0.129	0.035
<i>Matricaria recuita</i>							
Isfahan	اصفهان	30	30	0	1	0.335	0.036

که حدود ۸۰/۴۷ درصد گوناگونی در میان سه مولفه اصلی قرار داشت، بنابراین این سه مولفه به عنوان مولفه‌های اصلی در نظر گرفته شدند. جمعیت‌های مختلف فاصله ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای از یکدیگر داشتند، به طوری که توسط مولفه اصلی اول که ۵۵/۵۲٪ از گوناگونی کل را به خود اختصاص داد از یکدیگر جدا شدند (شکل ۱).

ارومیه-خلخال) تا ۰/۴۰۴ (بین جمعیت‌های پیرانشهر و میانه) با میانگین ۰/۱۶۱ و در گونه *T. sevanense* از ۰/۸۵۹ (بین جمعیت‌های اردبیل ۲- قزوین، اردبیل ۲- کرج و قزوین - خرم‌آباد) تا ۰/۹۷۵ (بین جمعیت‌های اردبیل ۱- خرم‌آباد) با میانگین ۰/۰۸ متغیر بود (جدول‌های ۴ و ۵). از فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها برای تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی (PCOA) استفاده شد. با توجه به این که

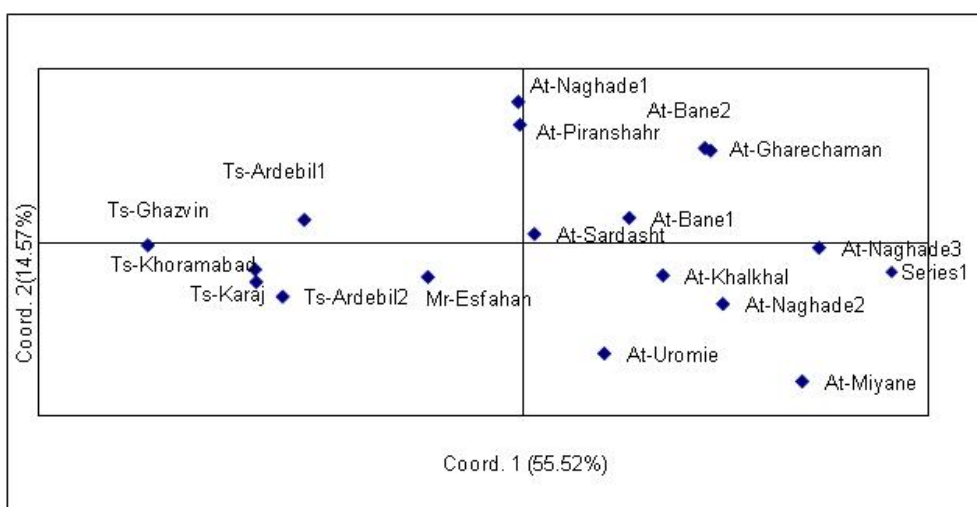
جدول ۳- تجزیه واریانس پروتئین کل ۱۷ جمعیت از سه گونه بابونه ایران

Table 3. Analysis of variance for total protein of 17 Iranian populations of three chamomile species

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	درصد واریانس	احتمال
		df.	Mean of squares	Variance %	P
Among species	بین جمعیت‌ها	2	97.44	26	0.01
Within species	درون جمعیت‌ها	167	6.14	74	
Among <i>A. tinctoria</i> populations	بین جمعیت‌ها	10	-	27	0.01
Within <i>A. tinctoria</i> populations	درون جمعیت‌ها	99	22.37	73	
Among <i>T. sevanense</i> Populations	بین جمعیت‌ها	4	14.40	16	0.01
Within <i>T. sevanense</i> Populations	درون جمعیت‌ها	45	4.92	84	

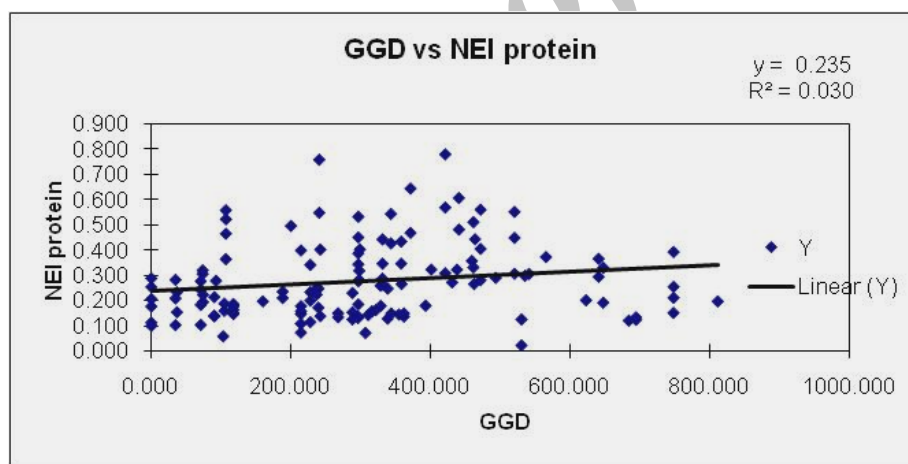
AT-بانه ۲، AT-پیرانشهر، TS- اردبیل ۱، TS- قزوین در یک گروه و سایر جمعیت‌ها در گروه دوم قرار داشتند (شکل ۱). در شکل ۳ دندروگرام حاصل از تجزیه کلاستر، کلیه جمعیت‌های مورد بررسی به دو گروه عمده تقسیم شدند، که این تقسیم‌بندی مطابق با گروه‌بندی جمعیت‌ها توسط مولفه اصلی اول (۵۵/۵۲٪) در پلات PCOA بود. همان گونه که مشاهده می‌شود فاصله ژنتیکی میان گونه *Tripleurospermum sevanense* و

بر این اساس، کلیه جمعیت‌ها به دو گروه تقسیم شدند که گروه اول شامل AT-نقده ۱، AT-نقده ۲، AT-بانه ۱، AT-بانه ۲، AT-میانه، AT-پیرانشهر، AT-قره‌چمن، AT-سردشت، AT-خلخال، AT-ارومیه و گروه دوم شامل MR-اصفهان، TS- اردبیل ۱، TS- اردبیل ۲، TS- کرج، TS- خرم‌آباد و TS- قزوین بود. این درحالی بود که بر اساس مولفه اصلی دوم (۱۴/۵۷٪) جمعیت‌های AT-نقده ۱، AT-قره‌چمن، AT-بانه ۱،



شکل ۱- نمودار حاصل دو بردار اصلی اول (PCOA) برای ویژگی‌های ژنتیکی پروتئین‌های کل ۱۷ جمعیت بابونه بر اساس فاصله ژنتیکی ناریب Nei

Fig. 1. Two-dimensional graph based on the ordination scores of the principal coordinate analysis (PCOA) using Neis unbiased genetic distances



شکل ۲- پراکندگی همبستگی بین ماتریس‌های فاصله ژنتیکی پروتئین‌های کل جمعیت‌های مختلف بابونه و فاصله جغرافیایی

Fig. 2. Scatter plot of pair-wise total protein and geographic distances of chamomile populations

Anthemis) انجام شد (Noori, 2013) نیز نتایج حاکی از آن بود که گونه *T. sevanense* در کلاستر جداگانه و متفاوت از دو گونه دیگر و همچنین منطبق با مشاهدات تحقیق حاضر بود.

دو گونه دیگر *Matricaria recutita* و *Anthemis tinctoria* بارز بود. در تحقیق دیگری که روی سه جنس بابونه (*Matricaria*، *Tripleurospermum*)

جدول ۴- ماتریس برآورد ناریب فاصله‌های ژنتیکی ۱۱ جمعیت *A. tinctoria*
 Table 4. Pairwise values for Nei's genetic distances of 11 population of *A. tinctoria*

Population	جمعیت	سردشت Sardasht	نقده ۱ Naghade 1	نقده ۲ Naghade 2	نقده ۳ Naghade 3	پیرانشهر Piranshahr	ارومیه Urumie	خلخال Khalkhal	قره‌چمن Gharechaman	میانه Miyane	بانه ۱ Bane 1
Naghade 1	نقده ۱	0.142									
Naghade 2	نقده ۲	0.141	0.25								
Naghade 3	نقده ۳	0.216	0.29	0.10							
Piranshahr	پیرانشهر	0.106	0.10	0.21	0.28						
Uromie	ارومیه	0.199	0.27	0.18	0.24	0.28					
Khalkhal	خلخال	0.145	0.23	0.12	0.15	0.16	0.07				
Gharechaman	قره‌چمن	0.174	0.11	0.18	0.16	0.14	0.25	0.196			
Miyane	میانه	0.250	0.40	0.07	0.15	0.40	0.22	0.225	0.20		
Bane 1	بانه ۱	0.157	0.189	0.18	0.15	0.16	0.21	0.140	0.11	0.23	
Bane 2	بانه ۲	0.235	0.181	0.16	0.14	0.19	0.23	0.130	0.20	0.34	0.17

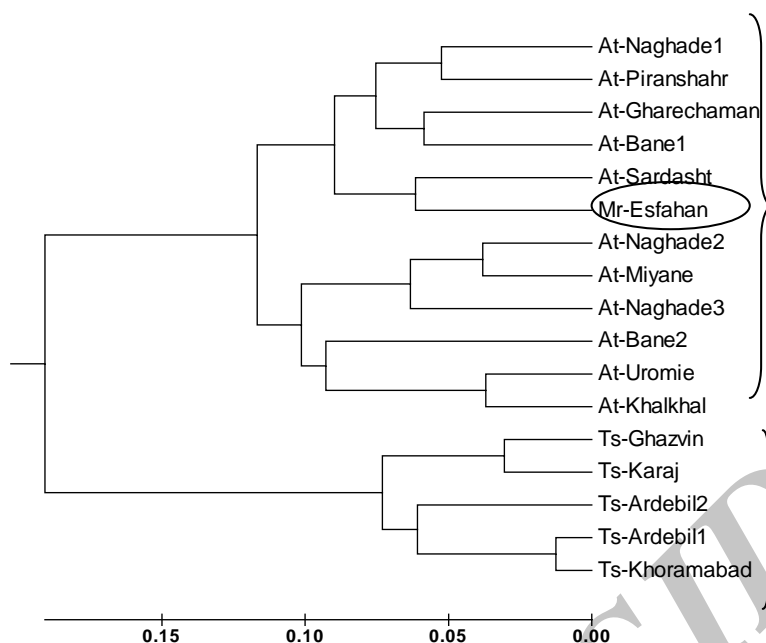
جدول ۵- ماتریس برآورد ناریب فاصله‌های ژنتیکی ۵ جمعیت *T. sevanense*

Table 5. Pairwise values for Nei's genetic distances of 5 population of *T. sevanense*

Population	جمعیت	اردبیل ۱ Ardebil 1	اردبیل ۲ Ardebil 2	قزوین Ghazvin	کرج Karaj
Ardebil 2	اردبیل ۲	0.891			
Ghazvin	قزوین	0.873	0.859		
Karaj	کرج	0.870	0.859	0.941	
Khoramabad	خرم‌آباد	0.975	0.880	0.859	0.863

ژنتیکی جمعیت‌های مختلف سه گونه بابونه به عنوان ضرورتی اجتناب‌ناپذیر برای برنامه‌های به‌نژادی مطالعه شد. نتایج حاکی از وجود تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای در درون جمعیت‌های مختلف هر گونه بود. براساس یافته‌های گاردینر و فورد اختلاف موجود در فراوانی باندها در افراد و به تبع آن در جمعیت‌های مختلف ناشی از تفاوت در تعداد ژن‌های کدکننده پروتئین‌ها کل است (Gardiner and Forde, 1988). شناسایی جمعیت‌ها و اختصاص الگوی پروتئینی خاص به جمعیت‌های مختلف گیاهی موضوعی است که بر اساس نوع گونه نتایج ضد و نقیضی در مورد آن منتشر شده است. بر اساس نتایجی که در جمعیت‌های مورد مطالعه بابونه مشاهده شد، می‌توان متمایزترین جمعیت‌ها را در هر گونه انتخاب کرد تا به وسیله تلاقی بین آن‌ها بیشترین میزان هتروزیس حاصل شود. بدین ترتیب جمعیت‌های AT-نقده ۳ و AT-بانہ ۲ که در دندروگرام کلاستر هر کدام به تنهایی و در شاخه‌ای مجزا قرار گرفتند و همچنین جمعیت AT-سردشت که دارای میانگین بالایی از تعداد باندهای پلی‌مورف نسبت به کل باندها

این حال، براساس دندروگرام UPGMA (شکل ۴) و پلات PCOA ساختار جغرافیایی خاصی در بین جمعیت‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. در همین ارتباط ضرایب همبستگی جفت ماتریس‌های فاصله ژنتیکی و جغرافیایی جمعیت‌های بابونه با استفاده از آزمون مانتل محاسبه شد. همبستگی بین ماتریس‌های فاصله پروتئین‌های کل گیاهک‌های مناطق مختلف و جغرافیایی بسیار کم بود (شکل ۳) که از نظر آماری نیز معنی‌دار نبود ($R^2=0/03$ ، $p=0/235$)، در نتیجه رابطه جغرافیایی با ویژگی‌های باندهای پروتئین‌های کل گیاهک‌ها مناطق مختلف به وسیله آزمون مانتل ثابت نشد. نتیجه تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نیز سطح بالایی از تمایز ژنتیکی را در درون جمعیت‌های گونه *A. tinctoria* (۷۳٪) نشان داد، این در حالی بود که ۲۷٪ تمایز در میان جمعیت‌های گونه وجود داشت. از طرفی درون جمعیت‌های گونه *T. sevanense* نیز میزان بالایی ۸۴٪ از گوناگونی وجود داشت و فقط ۱۶٪ از گوناگونی، میان جمعیت‌های این گونه دیده شد (جدول ۳). در این پژوهش گوناگونی



شکل ۳- دندروگرام ۱۷ جمعیت بابونه ایران با روش تجزیه کلاستر Neighbour-joining
 Fig. 3. Dendrogram of 17 populations of chamomile by the neighbour-joining clustering method

بالای مخزن ژنتیکی ایران برای گیاه دارویی بابونه باشد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور با شماره مصوب ۹۰۰۱-۹۰۰۱-۰۹-۰۹-۱۲ است. بدین وسیله از کلیه همکارانی که ما را به نحوی در انجام این پژوهش یاری دادند سپاسگزاری می‌شود.

بود، در میان هفده جمعیت مورد مطالعه، برای ایجاد تنوع ژنتیکی و آزمایش‌های تلاقی در پروژه‌های به‌نژادی پیشنهاد می‌شوند. علاوه بر کاربرد نشانگر پروتئین‌های کل در به‌نژادی، این نشانگر می‌تواند ابزار مفیدی برای شناسایی جمعیت‌هایی که دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند باشد تا از آن‌ها در برنامه‌های حفاظت استفاده شود.

در این مطالعه، با وجود این که تعداد جمعیت‌ها محدود بود، اما تنوع قابل توجهی مشاهده شد که این می‌تواند نشان‌دهنده پتانسیل

References

- Duvall, M. R., and Biesboer, D. D. 1989.** Comparison of electrophoretic seed protein profiles among North American populations of *Zizania*. *Biochemical Systematics and Ecology* 17: 39-43.
- Excoffier, L., Smouse, P., and Quattro, J. 1992.** Analysis of molecular variances among DNA restriction data. *Genetics* 131: 479-491.
- Ganji Moghaddam, E., and Talaie, A. 2006.** Investigation on genetic diversity in mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) populations using morphological characters. *Seed and Plant* 22: 29-41(in Persian).
- Gardiner, S. E., and Forde, M. B. 1988.** Identification of cultivars and species of pasture legumes by sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel genetic diversity in black gram (*Vigna mungo* L. Hepper). *Field Crops Research* 69: 183- 190.
- Ghafoor, A., Zahoor, A., Qureshi, A. S., and Bashir, M. 2002.** Genetic relationship in *Vigna mungo* (L.)Hepper and *V. radiate* (L.) R. Wilczek based on morphological traits and SDS-PAGE. *Euphytica* 123: 367-372.
- Javaid, A., Ghafoor, A., and Anwar, R. 2004.** Seed storage protein electrophoresis in groundnut for evaluating genetic diversity. *Pakistan Journal of Botany* 30(1): 25-29.
- Kehr, W. R. 1960.** History of germplasm involvement by the national alfalfa improvement. *Plant Breeding Abstracts* 54: 5168.
- Malik, M. F. A., Qureshi, A. S., Ashraf, M., Khan, M. R., and Javed, A. 2009.** Evaluation of genetic diversity in soybean (*Glycine max*) lines using seed protein electrophoresis. *Australian Journal of Crop Science* 3(2): 107-112.
- Masoudi, B., Bihamta, M. R., Babaei, H. R., and Peyghambari, S. A. 2008.** Evaluation of genetic diversity for agronomic, morphological and phenological traits in soybean. *Seed and Plant* 24(3): 413-427 (in Persian).
- Misset, M. T., and Fontenelle, C. 1992.** Protein relationships between natural populations of *Ulex europaeus* and *U. galli* (Faboideae, Genisteae) and their hybrids. *Plant Systematics and Evolution* 179: 19-25.
- Mohd, S., Alam, Z., Zahir, A., Weqar, A., Taufiq, A., and Ikhtir, K. 2007.** Characterization of wheat varieties by seed strong protein electrophoresis. *African Journal of Biotechnology* 6: 497-500.

- Nadiri, F. 2013.** Genetic diversity of populations of Achilla using total porotein markers. Proceedings of the 12th Genetic Congress of Iran, Tehran, Iran (in Persian).
- Naveed, M., Motomitsu, K., and Ghulam, M. A. 2005.** Genetic differentiation of cotton cultivars by polyacrylamide gel electrophoresis. *Central European Agriculture* 6(1): 69-76.
- Nei, M., and Li, W. 1979.** Mathematical model for study genetic variation in terms of restriction endonucleass. *Proceedings of National Academy of Science, USA* 74: 5267-5273.
- Nisar, M., Ghafoor, A., Rashid Khan, M., and Sharif Qureshi, A. 2006.** Screening of *Pisum sativum* L. germplasm against *Erysiphe pisisyd.* *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 48(2): 33-37.
- Noori, F. 2013.** Genetic diversity of *Matricaria* sp., *Anthemis* sp. and *Tripleurospermum* sp. using protein and enzyme markers. MSc. Thesis, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran (in Persian).
- Pirkhazari, M., and Hasani, M. A. 2009.** Evaluation of genetic diversity within and among regions of Iranian Babone (*Anthemis* spp. and *Matricaria* spp.) with molecular markers of RAPD. Proceedings of the 6th Horticultural Science Congress of Iran, University of Guilan, Rasht, Iran (in Persian).
- Schneider, S., Kuffer, J., Roessli, D., and Excoffier, L. 1997.** Arlequin ver. 1.1: Software for Population Genetic Data Analysis. Genetic and Biometry Laboratory, University of Geneva, Italy.
- Sihag, R., Hooda, J. S., Vashishtha, R. D., and Malik, B. P. S. 2004.** Genetic divergence in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill. *Annals of Biology* 20(1): 17-21.
- Yazdani, D., and Shahnazi, S. 2006.** Production and trade of medicinal plants in Iran. National Conference on Sustainable Development, Tehran, Iran (in Persian).