مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۲۹، شماره ۴، سال ۱۳۹۲

تنوع ژنتیکی جمعیت‌های سه گونه بابونه *Anthemis tinctoria* L.، *Matricaria recutita* 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 شانجانی[۲]

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

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

چکیده

طریقی، م. و صالحی شانجانی، پ. ۱۳۹۲. تنوع ژنتیکی جمعیت‌های سه گونه بابونه *Anthemis tinctoria* L.، *Matricaria recutita* L. و *Tripleurospermum sevanense* (Manda) pobed به وسیله پروتئین‌های کل و تعیین ارتباط آن با عوامل جغرافیایی. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۹:** ۸۰۳ - 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- بانه۲ 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- خرم آباد و TS- اردبیل۱ 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، گونه های وحشی، SDS-PAGE، تنوع ژنتیکی، پروتئین‌های کل.

نویسنده مسئول: mahshid.tarighi@gmail.com تلفـــــن: ۰۲۱۶۶۶۴۸۹۶۲

مقدمه

بابونه به طور کلی به تعدادی از گیاهان گفته می‌شود که از خانواده گیاهی کمپوزیته (Compositeae) و تیره فرعی Radiea؛ ولی از جنس‌ها (Matricaria، Anthemis، Tripleurospermum و Tanasetum) و 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 داروئی 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 روز افزون به داروها و مواد مصرفی با منشا 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 ازآن 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 دریافتند 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 شناسائی ارقام زراعی مطالعه شده است که می‌توان برای نمونه از مطالعاتی که بر روی گیاهانی از جمله Poaceae (Duvall and Biesboer, 1988)،

(Misset and Fronteelle, 1992) Fabaceae)، *Pisum sativum* (Nisar *et al.*, 2006))، جمعیت‌های گندم (Mohd *et al.*, 2007)، ارقام پنبه (Naveed *et al.*, 2005)، سه گونه بومادران *A. millefolium*، *A. nobilis* و *Achillea bibershtini* (Nadiri *et al.*, 2013) و *Matricaria* spp. و *Anthemis* spp. (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 شناسائی تنوع ژنتیکی و پلی‌مورفیسم 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 انجام شد. از هفده جمعیت مورد مطالعه (هرجمعیت 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 Na_2EDTA 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 Tris-HCl) base buffer نیم مولار pH =۶/۸، SDS ۰/۲٪ و ۲- مرکاپتواتانل 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 پلی اکریل 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 رنگ‌آمیزی (شامل کماسی‌بلو ۰/۲۵٪، متانل ۲۵٪ و اسید اسیتیک ۱۰٪) رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت ژل‌ها جهت امکان وضوح باندهای پروتئین به مدت

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 پلی آکریل‌آمید 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 یک دیگر 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 چند شکلی باندها مربوط به جمعیت AT- سردشت (۸۸/۲۴٪) و کمترین آن مربوط به جمعیت AT- بانه۲ (۴۱/۱۸٪) با میانگین کل پلی‌مورفیسم برابر۶۸/۱۷٪ 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 (۰/۳۶۱) و در AT- بانه۲ (۰/۱۴۱) 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 Location		کد بانک ژن Gene bank code	نام Name		طول جغرافیایی Longitude	عرض جغرافیایی Latitude	ارتفاع از سطح دریا 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 ≤ ۵٪ Band with ≤ 5% freq.	باندهای با فراوانی ≥ ۲۵٪ Band with ≥ 25% freq.	باندهای با فراوانی ≥ ۵۰٪ Band with ≥ 50% freq.	هتروزیگوسیتی باندها Heterozygocity of band	درصد پلی مورفیسم Polymorphism (%)
Anthemis tinctoria							
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	قره‌چمن	21	21	0	0	0.190	0.035
Miyane	میانه	20	20	0	0	0.188	0.033
Bane1	بانه ۱	27	27	0	0	0.258	0.035
Bane2	بانه ۲	19	19	0	0	0.141	0.033
Mean	میانگین	24.36	24.36	-	-	0.239	0.033
Tripleurospermum savenens							
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	خرم‌آباد	33	33	3	5	0.316	0.035
Mean	میانگین	32.4	32.4	-	-	0.129	0.035
Matricaria recuita							
Isfahan	اصفهان	30	30	0	1	0.335	0.036

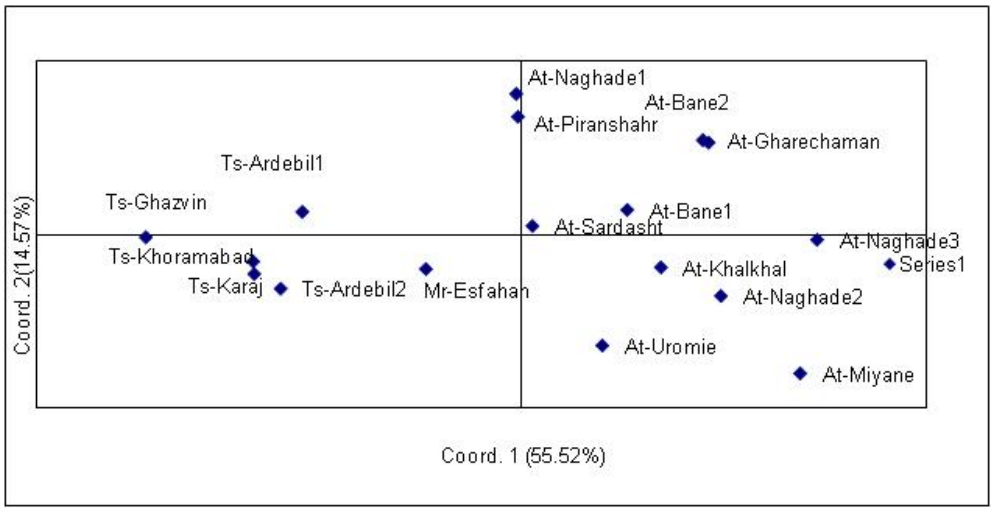
ارومیه- خلخال) تا ۰/۴۰۴ (بین جمعیت‌های پیرانشهر و میانه) با میانگین ۰/۱۶۱ و در گونه *T. sevanense* از ۰/۸۵۹ (بین جمعیت‌های اردبیل ۲- قزوین، اردبیل ۲- کرج و قزوین - خرم‌آباد) تا ۰/۹۷۵ (بین جمعیت‌های اردبیل ۱- خرم‌آباد) با میانگین ۰/۰۸ متغیر بود (جدول‌های ۴ و ۵). از فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها برای تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی (PCOA) استفاده شد. با توجه به این که که حدود۸۰/۴۷ 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 یک دیگر داشتند، به طوری که توسط مولفه اصلی اول که ۵۵/۵۲٪ از گوناگونی کل را به خود اختصاص داد از یک دیگر جدا شدند (شکل ۱).

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

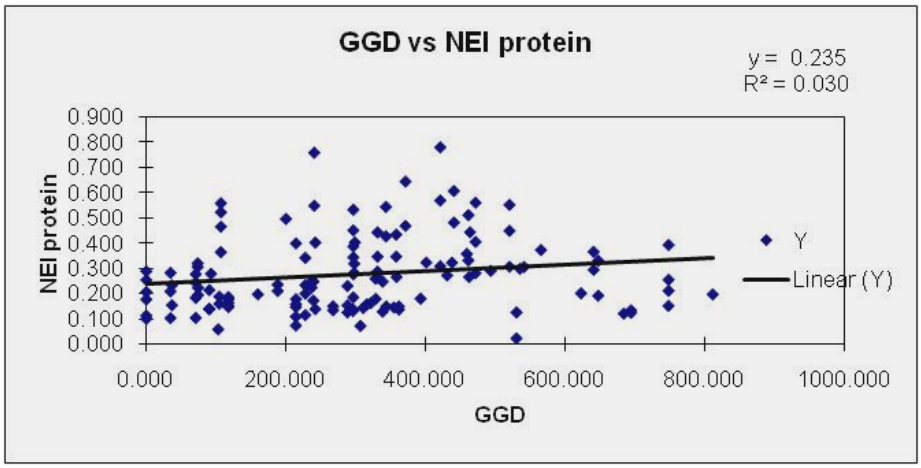
S.O.V.	منابع تغییرات	df.	Mean of squares	Variance %	P
		درجه آزادی	میانگین مربعات	درصد واریانس	احتمال
Among species	بین جمعیت‌ها	2	97.44	26	0.01
Within species	درون جمعیت‌ها	167	6.14	74	
Among *A. tinctoria* populations	بین جمعیت‌ها	10	-	27	0.01
Within *A. tinctoria* populations	درون جمعیت‌ها	99	22.37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

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- نقده۱، AT- قره‌چمن، AT- بانه۱، AT- بانه۲، AT- پیرانشهر، TS- اردبیل۱، 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. همان‌گونه که مشاهده می‌شود فاصله ژنتیکی میان گونه *Tripleurospermum sevanense* و



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

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

جدول ۴- ماتریس برآورد نااریب فاصله‌های ژنتیکی ۱۱ جمعیت *A. tinctoria*

Table 4. Pairwise values for Nei's genetic distances of 11 population of *A. tinctoria*

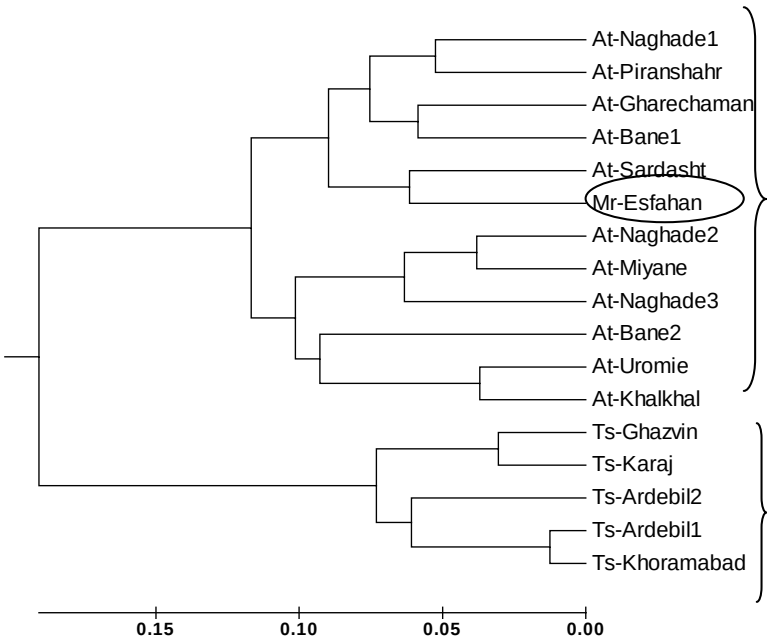
Population	جمعیت	سردشت Sardasht	نقده ۱ Naghade 1	نقده ۲ Naghade 2	نقده ۳ Naghade 3	پیرانشهر Piranshahr	ارومیه Urumie	خلخال Khalkhal	قره‌چمن Gharechaman	میانه Miyane	بانه ۱ Bane 1
Naghade 1	نقده ۱	0.142									
Naghade 2	نقده ۲	0.141	0.25								
Naghade 3	نقده ۳	0.216	0.29	0.10							
Piranshahr	پیرانشهر	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 نااریب 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

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=۰/۰۳، ρ =۰/۲۳۵)، در نتیجه رابطه جغرافیایی با ویژگی‌های باندهای پروتئین‌های کل گیاهک‌ها مناطق مختلف به وسیلهٔ 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 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 کد کننده 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- نقده۳ و AT- بانه۲ 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



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

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 این‌که تعداد جمعیت‌ها محدود بود، اما تنوع قابل توجهی مشاهده شد که این می‌تواند نشاندهنده پتانسیل بالای مخزن زنتیکی ایران برای گیاه داروئی 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. بدین‌وسیله از کلیه همکارانی که ما را به نحوی در انجام این پژوهش یاری دادند سپاسگزاری می‌شود.

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.Centeral 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).