بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های باریجه (*Ferula gummosa*) مناطق مختلف ایران با استفاده از نشانگر AFLP

زهرا خونانی[1]*، محمدرضا نقوی[2]، منصور امیدی[2]، منیژه سبکدست[3]، اسماعیل طالبی کویخی[4]

۱- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۲- دانشیار و استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۳- مربی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

٤- مربی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران

*آدرس مکاتبه: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشکده علوم زراعی و دامی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، کدپستی: ۷۷۸۷۱ - ۳۱۵۸۷، تلفن: ۲۲٤٦۰۷٤ (۰۲٦۱)، نمابر: ۲۲۲۷٦۰۵ (۰۲٦۱)

پست الکترونیک: Zahra.khounani@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۲۸ **تاریخ تصویب:** ۸۹/۳/٤

چکیده

مقدمه: باریجه یکی از گیاهان مهم دارویی، صنعتی و آروماتیک ایران است. شیرابه و اسانس این گیاه در صنایع مختلف از جمله داروسازی، غذایی، عطرسازی، چسب‌سازی و نظامی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

هدف: این تحقیق به منظور بررسی تنوع زنتیکی بین اکوتیپ‌های باریجه جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کشور که در ایستگاه تحقیقات همند آبسرد کشت شده بودند، صورت گرفت.

روش بررسی: در این بررسی DNA از برگ‌ها استخراج شده و با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری AFLP تنوع ژنتیکی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: در مجموع ۲۹٦ آلل قابل نمره‌دهی مشاهده شد که ۸۹ درصد چندشکل بودند و تعداد آلل برای هر آغازگر از ۲۰ تا ٤۳ مشاهده شد. میزان تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها از ۰/۵٦ تا ۰/۸۷ متغیر بود. کمترین تشابه بین آردینه - دره اشک‌ریزه ۳۲۰۰ و نمدکوثر لار مشاهده شد. بیشترین تشابه نیز بین ژنوتیپ‌های آردینه - گردنه‌ولار و پلور مشاهده شد. تجزیه کلاستر، مشخص کرد که تنوع ژنتیکی بالایی بین اکوتیپ‌های باریجه وجود دارد و همچنین معلوم شد که بین تنوع مولکولی و پراکنش جغرافیایی ارتباطی وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی حاکی از وجود تنوع بالا در بین اکوتیپ‌های موجود باریجه است. با توجه به اینکه اکوتیپ‌های باریجه از مناطق مختلف جغرافیایی هستند و ترکیبات اسانس آنها متفاوت است، وجود تنوع ژنتیکی تاییدکننده این مطلب می‌باشد که اختلافات فیتوشیمیایی نمونه‌ها تنها به واسطه اثر محیطی نمی‌باشد، بلکه توسط عوامل ژنتیکی هم کنترل می‌شوند و این نتایج در مدیریت ژرم پلاسم باریجه می‌تواند مفید باشد.

گل‌واژگان: نشانگر AFLP، تنوع ژنتیکی، *Ferula gummosa*

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

مقدمه

باریجه گیاهی است از تیره چتریان است که به عنوان یکی از گیاهان مهم دارویی، صنعتی و آروماتیک ایران محسوب می‌شود. شیرابه و اسانس این گیاه در صنایع مختلف از جمله داروسازی، غذایی، عطرسازی، چسب سازی و نظامی مورد استفاده قرار می‌گیرد. لذا با در نظر گرفتن اهمیت آن به عنوان یک مقوله صادراتی ارزشمند و ارزآور برای کشور، می‌تواند به عنوان یک موضوع ارزشمند جهت مطالعات و پژوهش‌ها مطرح باشد. گیاهی است چند ساله، مونو کارپیک و دارای پراکنش وسیعی در سطح ایران می‌باشد. باریجه دارای ترکیبات اسانسی و رزینی فراوان می‌باشد (۲۶ – ۱۰ درصد اسانس، ۷۵ – ۶۰ درصد رزین و ۳۰ – ۵ درصد صمغ)، از این رو توجه به حفظ ذخایر ژنتیکی این گیاه بسیار مهم است [۱،۲،۳]. تنوع ژنتیکی[1] به عنوان مهم‌ترین عامل بقاء موجودات از جمله گیاهان در برابر تغییرات شرایط محیطی و آفات است. آگاهی از میزان تنوع ذخایر توارثی و روابط ژنتیکی بین آنها یکی از نیازهای اولیه اصلاح گونه‌های گیاهی است [۴،۵،۶،۷،۸]. با توجه به نقش تنوع ژنتیکی در پیشبرد اهداف برنامه‌های اصلاح نباتات شناسایی این تنوع از طریق روش‌های مولکولی و غیرمولکولی با اهمیت خواهد بود. امروزه در بررسی تنوع و تعیین قرابت ژنتیکی بین نمونه‌های مختلف گیاهی به وفور از مارکرهای مولکولی استفاده می‌شود [۴،۵،۹،۱۰،۱۱،۱۲]. نشانگر AFLP[2] به دلیل عدم نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ردیف‌های بازی DNA، دقت و تکرارپذیری بالای آن، به عنوان یکی از مؤثرترین نشانگرهای مولکولی در مطالعه ژرم پلاسم‌های گیاهی معرفی شده است. نشانگر AFLP در سال ۱۹۹۵ توسط ووس[3] و همکاران معرفی شد [۴،۱۳،۱۴،۱۵،۱۶]. تاکنون مطالعات چندانی در خصوص تنوع مولکولی این گیاه صورت نگرفته است، فقط طالبی و همکاران (۲۰۰۵) تنوع ژنتیکی برخی نمونه‌های باریجه را با استفاده از RAPD[4] بررسی کردند و نتایج نشان‌دهنده وجود تنوع بالا بین نژادهای موجود باریجه بود [۱،۲]. نقوی و احکامی (۲۰۰۵) به منظور بررسی ارتباط ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های گندم دوروم ایرانی و خارجی از این نشانگر استفاده کرده و نشان دادند که زمینه ژنتیکی دوروم‌های ایرانی و خارجی متفاوت بوده و AFLP روشی مناسب برای بررسی تنوع و قرابت ژنتیکی در ژنوتیپ‌های گندم دوروم می‌باشد [۴]. بلجا[1] و همکاران (۲۰۰۳) قدرت اثر و کارایی نشانگرهای RAPD، AFLP و SSR[2] را در ارقام زیتون مقایسه کردند. بیشترین تعداد باند چند شکل و کمترین میزان هتروزیگوسیتی قابل انتظار در مورد نشانگر AFLP حاصل شد و همچنین بیشترین میزان شاخص نشانگر برای AFLP بود، که این به نوبه خود ماهیت بالای تفکیک‌سازی این نشانگر را به خوبی تایید می‌کند. آنها به این نتیجه رسیدند که قدرت تفکیک‌سازی این نشانگر بسیار بالا بوده و به عنوان یک ابزار قدرتمند جهت بررسی تنوع ژنتیک و مناسب برای برنامه‌های اصلاحی می‌باشد [۱۷]. لیما[3] و همکاران (۲۰۰۲) روابط ژنتیکی بین ارقام زراعی نیشکر را مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که در بین ارقام، ارتباط ژنتیکی زیادی وجود داشته و می‌توان با استفاده از داده‌های حاصل از AFLP با اطمینان بیشتری (نسبت به ضریب والدینی) درجه خویشاوندی را در بین ارقام نیشکر تعیین نمود [۱۸]. اینکرلی[4] و همکاران (۲۰۰۱) با مطالعه بر روی ارقام بهاره و زمستانه گندم‌های دوروم ترکیه و همچنین نمونه‌های آژیلوپس[5] گزارش کردند که نشانگر AFLP در مقایسه با سایر نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR، در تعیین تنوع و تفکیک نمونه‌ها کارایی بیشتری دارد [۱۹].

هدف اصلی این تحقیق، بررسی تنوع مولکولی باریجه، با استفاده از نشانگر AFLP و تعیین ارتباط بین تنوع ژنتیکی (در صورت وجود) با پراکنش جغرافیایی است.

---

[1] .Genetic diversity
[2]. Amplified fragment length polymorphisms
[3]. Vos
[4]. Random amplified polymorphic DNA

[1] Belja
[2] Simple sequence repeat
[3] Lima
[4] Incirli
[5]. *Aegilops spp*

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: برگ ٢٤ نمونه‌های باریجه از ایستگاه تحقیقات مراتع همند آبسرد تهیه شد. کلیه مراحل کار در بخش بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام شد. مشخصات اکوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق در جدول شماره ١ آمده است.

تجزیه AFLP: برای هر ژنوتیپ، استخراج DNA از برگ‌های جوان گیاه، از روش سقایی معروف (١٩٨٤) با اندکی تغییر استفاده شد [٢٠]. برای تعیین کیفیت DNA، از الکتروفورز ژل آگارز ١ درصد استفاده شد و سپس DNA ها به صورت چشمی در غلظت ٥٠ - ٦٠ نانوگرم در میکرولیتر رقیق شده و بعد مراحل کار AFLP طبق روش ووس و همکاران (١٩٩٥) انجام شد [٢١]. به طوری که ابتدا ٢٥٠ نانوگرم DNA هر نمونه با استفاده از ٢/٥ واحد آنزیم برشی *Eco*RI و *Mse*I در حجم نهایی ٢٠ میکرولیتر برش داده شدند. سپس با اتصال آداپتورهای مناسب به انتهای نواحی برشی مرحله تکثیر اولیه با استفاده از دو نوع آغازگر بدون نوکلئوتید انتخابی انجام گرفت. در مرحله تکثیر اصلی از ٤ میکرولیتر از محیط‌های واکنش تکثیر اولیه به عنوان DNA الگو به همراه ١٠ ترکیب آغازگری‌های اختصاصی AFLP با ٣ نوکلئوتید انتخابی استفاده شد (جدول شماره ٢). سیکل

جدول شماره ١- اکوتیپ‌های استفاده شده در تحقیق همراه با مشخصات آنها

شماره اکوتیپ	محل جمع‌آوری	استان	ارتفاع از سطح دریا
١	کبود ملک١	تهران – دماوند	٢٢٠٠
٢	کبود ملک٢	تهران – دماوند	٢٤٠٠
٣	سرک	تهران – فیروزکوه	٢٢٠٠
٤	روشه و ماسلی	تهران – فیروزکوه	٢٢٠٠
٥	دوآب	تهران – دماوند	٢٢٠٠
٦	ویرانه٢	تهران – دماوند	٢١٥٠
٧	آردینه – دره اشک‌ریزه	تهران – دماوند	٣٣١٠
٨	کبود ملک٣	تهران – دماوند	٢٣٥٠
٩	آردینه – دره اشک‌ریزه	تهران – دماوند	٢٩٥٠
١٠	نمد کوثر٢ لار	تهران – شمیرانات	٢٢٠٠
١١	سمیرم	اصفهان – سمیرم	٢٢٠٠
١٢	سمنان	سمنان – سمنان	٢٢٠٠
١٣	ریف	تهران – فیروزکوه	٢٢٠٠
١٤	آردینه – دره اشک‌ریزه	تهران – دماوند	٢٨٠٠
١٥	فریدون شهر	اصفهان – فریدون شهر	٢٠٠٠
١٦	نطنز	اصفهان – نطنز	٢٠٠٠
١٧	ایلام	ایلام – ایلام	٢١٥٠
١٨	اطراف سد لار	مازندران – لار	٢٢٠٠
١٩	آردینه – دره اشک‌ریزه	تهران – دماوند	٣١٠٠
٢٠	آردینه – دره اشک‌ریزه	تهران – دماوند	٣٢٠٠
٢١	مشهد	خراسان – مشهد	٩٠٠
٢٢	آردینه – گردنه ولار	تهران – دماوند	٣٠٠٠
٢٣	امام پهنک لار	تهران – شمیرانات	٢٢٠٠
٢٤	پلور	مازندران – پلور	٢٤٠٠

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

جدول شماره ۲ – ترکیب پرایمری، تعداد کل باند، تعداد باند چندشکل و درصد چندشکلی برای هر پرایمر

نام	ترکیب پرایمری	تعداد کل باند	تعداد باندهای چندشکل	درصد چندشکلی (درصد)
۱	E-AGC/M-ATA	۲۰	۲۰	۱۰۰
۲	E-GAC/M-CAG	۲٤	۲٤	۱۰۰
۳	E-GAC/M-ATT	۲۷	۲۵	۹۲
٤	E-GTC/M-ATT	۲۸	۲۲	۷۸
۵	E-GTC/M-CAG	۲۸	۲۵	۸۹
٦	E-AGC/M-ATT	۲۸	۲۵	۸۹
۷	E-AGC/M-CAG	۲۷	۲٦	۹٦
۸	E-GAC/M-ATA	۲۹	۲٤	۸۳
۹	E-AAC/M-CAA	٤۳	۳۵	۸۱
۱۰	E-AGG/M-CCC	٤۲	۳۷	۸۸

دمایی مورد استفاده در تکثیر اصلی شامل دو دقیقه ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ سیکل: ۳۰ ثانیه ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه ٦۳ درجه سانتی‌گراد و ۲ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد پس از آن ۲۳ سیکل: ۳۰ ثانیه ۹٤ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه ۵٤ درجه سانتی‌گراد و ۲ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. تمام مراحل تکثیر با استفاده از ترموسایکلر BioRad (BioRad, CA, USA) انجام شد. از الکتروفورز ژل پلی اکریلامید واسرشته ساز ٦ درصد برای تفکیک و از رنگ‌آمیزی نیترات نقره بر اساس دستور کار باسام و همکاران (۱۹۹۱) با کمی تغییر برای ظهور قطعات تکثیر شده استفاده شد [۲۲].

تجزیه‌های آماری: پس از ثبت اطلاعات، ژل به دست آمده برای هر جفت آغازگر امتیازدهی شد. وجود باند یک و عدم وجود آن صفر در نظر گرفته شد. با استفاده از نرم‌افزار Excel متغیرهای مربوط به هر آغازگر را در ردیف‌ها و نام ژنوتیپ‌ها در ستون قرار گرفت. پس از این مرحله ماتریس تشابه و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از نرم افزار NTSYSpc 2.02 محاسبه شد و دندروگرام بر اساس الگوریتم UPGMA و ضریب تشابه DICE ترسیم شد و تجزیه به مختصات اصلی[1](PCO) نیز بر روی داده‌ها با استفاده از همین نرم افزار ترسیم شد.

نتایج

نتایج حاصل از واکنش AFLP: در این تحقیق فقط نوارهای چندشکل کاملاً مشخص و مطمئن امتیاز دهی شدند. توالی پرایمری، تعداد کل باند، تعداد باند چندشکل و درصد چندشکلی برای هر پرایمر در جدول شماره ۲ آمده است. در مجموع ۲٦۳ الل چند شکل مشاهده شد و درصد پلی مورفیسم ۸۹ درصد بود، به طوریکه تعداد آلل برای هر آغازگر از ۲۰ تا ٤۳ و با میانگین تعداد آلل ۳۲ برای هر آغازگر مشاهده شد (جدول شماره ۲). بیشترین تعداد آلل‌ها مربوط به آغازگر E-AAC/M-CAA با ٤۳ الل و کمترین مربوط به آغازگر E-AGC /M-ATA با ۲۰ الل بود. بیشترین درصد چند شکلی را آغازگرهای E-AGC /M-ATA با ۲۰ الل چند شکل و E-GAC /M-CAG با ۲٤ الل چند شکل و کمترین درصد چند شکلی را آغازگر E-GTC / M-ATT با ۲۸ الل چند شکل داشته است. میانگین تعداد باندهای چند شکل ۲٦/۳ بود. میزان تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها از ۰/۵٦ تا ۰/۸۷ متغیر

[1] Principal Coordinates Analysis

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

بود. کمترین تشـــابه بین آردینه – دره اشک‌ریزه ۳۲۰۰ [۲۰] و نمدکوثر لار [۱۰] و بیشترین تشـابه نیز بین ژنوتیپ‌های آردینه- گردنه‌ولار [۲۲] و پلـور [۲٤] مشاهده شد (جدول شماره ۳).

تجزیه کلاستر: در این تحقیق از ضریب تشابه دایس و روش تجزیه خوشه‌ای UPGMA برای رسم نمودار خوشه‌ای استفاده شد (شکل شماره ۱) که این نمودار دارای ضریب کوفنتیک[1] r =۰/۷۳** بود. حداکثر تشـابه بیـن دو ژنوتیپ آردینه – گردنه‌ولار (اکوتیپ ۲۲، تهران – دماوند) و پـلور (اکوتیپ ۲٤، مازندران) دیده شـد. با توجه به اینکه این دو اکوتیپ، از لحاظ ژنتیکی بسیار شبیه به هم هستند و در یک زیر گروه قرار گرفته‌اند، ولی از مناطق جغرافیایی جداگانه‌ای می‌باشند و این وضعیت در مورد دو اکوتیپ سدلار (اکوتیپ ۱۸، مازندران) با آردینه- دره اشک‌ریزه ۳۱۰۰ (اکوتیپ ۱۹، تهران – دماوند) نیز مشاهده شده است. از طرفی دیگر، اکوتیپ‌های روشه- ماسلی [٤] و ردیف [۱۳]، هر دو از یک منطقه جغـرافیایی (تهران – فیروزکوه) می‌باشند، ولی همان‌طور که از روی دندوگرام مشخص است، از نظر ژنتیکی با هم تفاوت زیادی دارند و در زیرگروه‌های جداگانه‌ای قرار گرفتند. همین شرایط در مورد دو اکوتیپ سمیرم [۱۱] و نطنز [۱٦] که هر دو متعلق به استان اصفهان (با ٤۰۰ کیلومتر فاصله از هم) هستند، نیز صادق است.

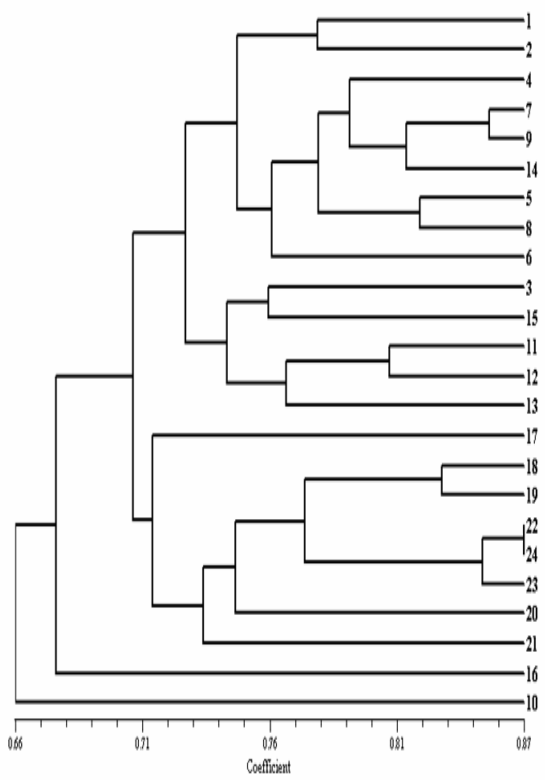
تجزیه به مختصات اصلی (PCO)[2]: آرایش تجمعی ۲٤ ژنوتیپ مورد مطالعه با استفاده از شباهت ژنتیکی مبتنی بر نشانگر AFLP در شکل شماره ۲ نشان داده شده است. مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب برابر با ۱۲/۹ و ۹ درصد از واریانس کل را بیان کردند.

[1] Cofenetic coefficient
[2] Principal Coordinates Analysis

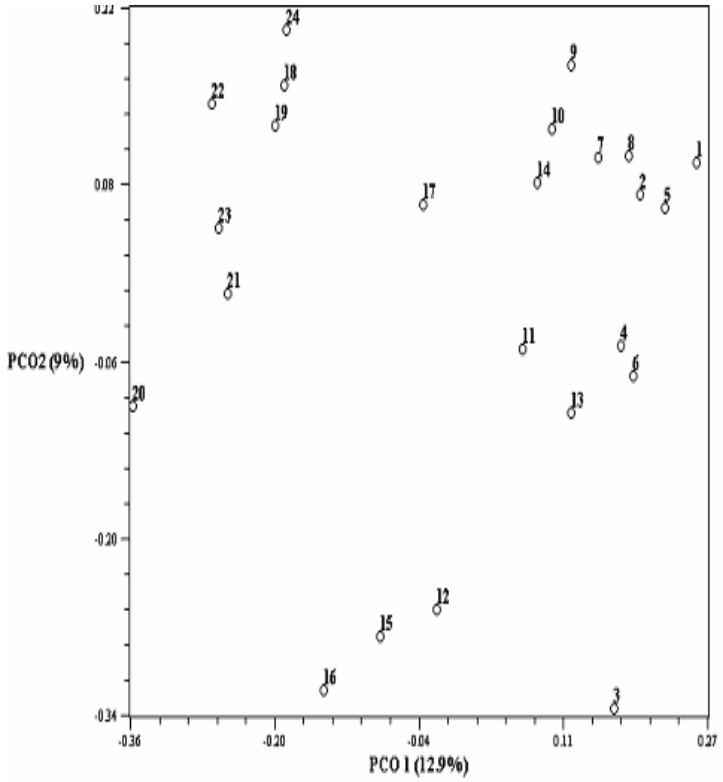
جدول شماره ۳ – ماتریس تشابه DICE بین ۲٤ اکوتیپ باریجه جمع‌آوری شده

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1																								
2	0.78136																							
3	0.69663	0.75714																						
4	0.7661	0.77922	0.77703																					
5	0.74101	0.77663	0.72401	0.76873																				
6	0.72727	0.6875	0.68116	0.75658	0.76655																			
7	0.74074	0.76774	0.7047	0.80368	0.79612	0.79085																		
8	0.73356	0.76821	0.71034	0.78616	0.82392	0.79195	0.80625																	
9	0.7661	0.76623	0.7027	0.80864	0.77524	0.75	0.85276	0.80503																
10	0.61776	0.66176	0.61538	0.66667	0.66421	0.64925	0.68276	0.71631	0.72222															
11	0.71429	0.71661	0.69153	0.73065	0.71895	0.73927	0.75692	0.76972	0.74923	0.71777														
12	0.69655	0.70627	0.75601	0.75862	0.70861	0.76254	0.76012	0.72204	0.74608	0.65018	0.81132													
13	0.65441	0.70877	0.73993	0.72425	0.72535	0.7331	0.75248	0.75254	0.75748	0.66415	0.77333	0.76351												
14	0.70667	0.7476	0.69767	0.77204	0.73718	0.71845	0.82175	0.78019	0.81459	0.66894	0.7439	0.7284	0.76471											
15	0.63514	0.68608	0.76094	0.74462	0.73377	0.71475	0.74006	0.74608	0.71385	0.65744	0.74074	0.7875	0.74834	0.73939										
16	0.61922	0.59864	0.66667	0.69677	0.62116	0.68966	0.67949	0.64474	0.66452	0.59124	0.67314	0.74754	0.62718	0.70476	0.75241									
17	0.7027	0.69903	0.66667	0.68923	0.73377	0.69508	0.69725	0.71473	0.73231	0.65744	0.70988	0.70625	0.68212	0.73333	0.74233	0.68167								
18	0.67774	0.67516	0.61589	0.73939	0.70288	0.69677	0.73494	0.71605	0.74545	0.65306	0.72948	0.72	0.69055	0.75821	0.72508	0.6962	0.7855							
19	0.68627	0.68966	0.64495	0.73433	0.69811	0.71111	0.78338	0.74164	0.79403	0.66221	0.73054	0.75152	0.6859	0.74118	0.7381	0.69782	0.74405	0.83284						
20	0.58868	0.64748	0.66165	0.65306	0.65704	0.62774	0.64865	0.64583	0.67347	0.55814	0.64164	0.70588	0.64207	0.64883	0.72542	0.65714	0.67119	0.70667	0.7541					
21	0.63273	0.70139	0.63043	0.69737	0.63415	0.64085	0.69935	0.69128	0.69737	0.61194	0.67987	0.70234	0.6121	0.64725	0.73443	0.64138	0.59672	0.69677	0.74286	0.70073				
22	0.67308	0.69538	0.65176	0.73314	0.72222	0.69782	0.75802	0.74627	0.77419	0.6623	0.74706	0.75595	0.72327	0.76301	0.73099	0.70336	0.74269	0.79539	0.81818	0.7717	0.74766			
23	0.64808	0.74	0.69444	0.70253	0.70234	0.66892	0.72956	0.73548	0.74051	0.67143	0.73016	0.75241	0.72355	0.72274	0.74448	0.6755	0.69401	0.73292	0.74618	0.76923	0.7973	0.85886		
24	0.7	0.72843	0.66445	0.7234	0.71795	0.68608	0.76737	0.75542	0.77812	0.66894	0.72561	0.72222	0.73203	0.77246	0.72121	0.66667	0.75758	0.79403	0.77059	0.73579	0.71845	0.86705	0.84112	
	Max	0.86705																						
	Min	0.55814																						
	Mean	0.717694																						

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]



شکل شماره ۱ – نمودار خوشه‌ای ۲٤ اکوتیپ باریجه با استفاده از ۱۰ ترکیب آغازگری AFLP و ماتریس تشابه DICE و الگوریتم UPGMA



شکل شماره ۲ – پلات مختصات اصلی (PCO) ۲٤ اکوتیپ باریجه جمع‌آوری شده

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

بحث

در مجموع چندین عامل، تخمین روابط ژنتیکی بین افراد را تحت تاثیر قرار می‌دهد که عبارتند از: [۱] تعداد نشانگرهای مورد استفاده [۲] توزیع نشانگرها در ژنوم [۳] طبیعت مکانیزم‌های تکاملی که در واقع زیربنای تنوع محاسبه شده می‌باشند [٤،۲۳].

در مورد تعداد نشانگرهای مورد استفاده باید به این مسأله اشاره شود که مقدار اطلاعاتی که از روش AFLP به دست می‌آید تا حدود زیادی به تعداد آغازگر مورد استفاده بستگی دارد، اما الیس[1] و همکاران (۱۹۹۷) نشان دادند که با انتخاب ٦ ترکیب از بهترین آغازگرها امکان توجیه ۸۰ درصد از روابط مورد انتظار وجود دارد [۲٤]. در این مطالعه از ده ترکیب پرایمری استفاده شد و با توجه به تعداد ۲٦۳ مکان چند شکل می‌توان نتایج قابل اعتمادی به دست آورد. در این پژوهش درصد باندهای چند شکل ۸۹ درصد به دست آمد. در بررسی تنوع ژنتیکی برخی نمونه‌های باریجه به وسیله RAPD، درصد باندهای چند شکل ۹۳/۷۵ گزارش شده است [۱]. میزان تشابه ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها از ۰/٥٦ تا ۰/۸۷ متغیر بود. ملشینگر[2] (۱۹۹۷) گزارش کرد که دقت در تخمین تشابه ژنتیک افراد به تعداد نشانگر مورد استفاده، میزان چند شکلی و میزان پوشش ژنومی نشانگرها بستگی دارد [۲]. تعداد جفت آغازگر مورد استفاده در آنالیزهای این تحقیق ۱۰ عدد بود که با توجه به مطالعات قبلی مناسب می‌باشد [٤،۲٦،۲۷،۲۸،۲۹].

نمودار خوشه‌ای در این تحقیق، دارای ضریب کوفنتیک $r = ۰/۷۳^{**}$ بود. در تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های مولکولی به طور کلی ضریب کوفنتیک بالا دلیل بر کارایی نمودار حاصل است. درجه برازش می‌تواند در دامنه $۰ < r < ۱$ متغیر باشد. $r > ۰/۹$ برازش خیلی خوب، $۰/۷ < r < ۰/۹$ برازش خوب و $r < ۰/۷$ برازش ضعیف می‌باشد. رینکون[3] و همکاران (۱۹۹٦) در تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های مولکولی نشان دادند که به طور کلی ضریب کوفنتیک پایین دلیل بر عدم کارآیی نمودار حاصل نمی‌تواند باشد، بلکه ضریب همبستگی کوفنتیک پایین ممکن است به دلیل شرایط غیرعادی در داده‌ها به خصوص داده‌های مولکولی باشد [۳۰]. نتایج مربوط به تجزیه کلاستر در بین اکوتیپ‌های مورد بررسی نشان داد که تنوع مولکولی با تنوع جغرافیایی همخوانی ندارد و بین تنوع مولکولی و پراکنش جغرافیایی ارتباطی وجود ندارد. این عدم ارتباط در بررسی تنوع ژنتیکی برخی اکوتیپ‌های باریجه به وسیله RAPD نیز گزارش شده است [۱]. در مطالعات قبلی که بر روی بعضی گیاهان از جمله گندم دوروم و آژیلوپس تائوشی انجام شده بود، ارتباط بین تنوع ژنتیکی و پراکنش جغرافیایی وجود داشت، به طوری‌که ژنوتیپ‌هایی که در دو منطقه مختلف و عرض جغرافیایی متفاوت بودند از نظر ژنتیکی با هم تفاوت داشتند [٤،۳۱].

در تجزیه به مختصات اصلی[1]، مؤلفه‌های اول و دوم به ترتیب برابر با ۱۲/۹ و ۹ درصد از واریانس کل را بیان کردند، یعنی نشانگرهای AFLP مورد استفاده دارای توزیع مناسبی در سطح ژنوم بوده‌اند، که این پایین بودن میزان مولفه‌های اصلی در بررسی‌هایی قبلی نیز گزارش شده است [٤،۳۲].

در PCO هر چه مولفه‌های اصلی درصد تغییرات کمتری را توجیه کنند، بیانگر این است که توزیع مناسبی در سطح ژنوم دارند، به همین دلیل برای بررسی تنوع ژنتیکی بهتر می‌باشد. پس با توجه به گفته‌های ذیل، نتایج از نقطه نظر ژنتیکی نشان‌دهندهٔ نمونه برداری مطلوب نشانگرها از کل ژنوم می‌باشد. به این ترتیب که هر یک از نشانگرهای مورد استفاده از بخش‌های متفاوت ژنوم بوده، بنابراین دارای همبستگی کمتر می‌باشند. مسمر[2] و همکاران (۱۹۹۲) پیشنهاد کردند که تجزیه به مولفه‌های اصلی به عنوان روشی مکمل برای تجزیه خوشه‌ای منجر به استفاده بهینه و استخراج حداکثر اطلاعات از داده‌های مولکولی خواهد شد [۳۳].

با توجه به پلات مختصات اصلی (شکل شماره ۲) و نمودار خوشه‌ای (شکل شماره ۱)، پراکنش ارقام در محور دوبعدی با دندروگرام همخوانی داشته، البته در برخی موارد نیز

[1] Ellis
[2] Melchinger
[3] Rincon

[1] PCO
[2] Messmer

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

عدم همخوانی نتایج مربوط به PCO و دندروگرام مشاهده شد. به عنوان مثال، اکوتیپ‌های سمنان [۱۲]، فریدون‌شهر [۱۵] و نطنز [۱۶] در یک پلات قرار گرفته‌اند که نشان‌دهنده این مطلب می‌باشد، که اینها از نظر ژنتیکی شبیه به هم می‌باشند ولی همان‌طور که از دندوگرام مشخص است، در زیرگروه‌های جداگانه‌ای قرار گرفته‌اند. در نتیجه برای تفسیر بهتر است از روش دندوگرام استفاده شود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این بررسی حاکی از وجود تنوع بالا در بین اکوتیپ‌های موجود باریجه است. با توجه به اینکه اکوتیپ‌های باریجه از مناطق مختلف جغرافیایی هستند و ترکیبات اسانس آنها متفاوت است، وجود تنوع ژنتیکی تاییدکننده این مطلب می‌باشد که اختلافات فیتوشیمیایی نمونه‌ها تنها به واسطه اثر محیطی نمی‌باشد، بلکه توسط عوامل ژنتیکی هم کنترل می‌شوند. در ۲۰۰۸، ترکیبات اسانس برخی اکوتیپ‌های باریجه توسط طالبی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که گونه‌های مناطق گرمسیری از لحاظ تعداد و نوع ترکیبات برتر از گونه‌های سردسیری بودند و همین‌طور توسط آنها، تاثیر عوامل محیطی بر روی تنوع فیتوشیمیایی تایید شد [۱،۲]. همچنین در این مطالعه مشخص شد که روش AFLP یک ابزار سریع، قدرتمند و موثر است که تنها نیاز به حداقل کار اولیه دارد و مکان‌های ژنی زیادی را شناسایی می‌کند که دستیابی به آنها با روش‌های دیگر در همان زمان و با صرف هزینه مساوی مشکل و یا غیرممکن است. نتایج مطالعات ماک[1] (۱۹۹۹) و پاول[2] (۱۹۹۶) نیز نشان داد که این تکنیک به دلیل تکرارپذیری بالا و مکان‌های ژنی زیادی که در یک زمان کوتاه و در یک آزمون مورد سنجش قرار می‌دهد، یک تکنیک مفید و قابل اعتماد می‌باشد. چرا که تکرارپذیری تنها روش ساده برای ارزیابی کیفیت نشانگر محسوب می‌شود که در نتیجه می‌توان خوشه‌بندی صحیحی بر اساس داده‌های حاصل از آن برای نمونه‌های متفاوت به دست آورد [۴،۲۳،۳۴]. نتایج تحقیق حاضر در مدیریت ژرم پلاسم باریجه می‌تواند مفید باشد.

[1] Mace [2] Powell

منابع

1. Talebi Kohyakhy E, Mohammad Aliha M, Naghavi MR. Genetic diversity in *Ferula gummosa* Bioss. Populations of Iran using RAPD molecular markers. *Iranian J. Medicinal and Aromatic Plants* 2008; 23 (4): 514 – 22.

2. Talebi Kohyakhy E, Naghavi MR, Mohammad Aliha M. Study of the essential oil variation of *Ferula gummosa* samples from Iran. *Chemistry of Natural Compounds* 2008; 44: 124 - 6.

3. Momeni T, Shahrokhi N. Essential oils and their therapeutic actions. Tehran University publications, Second edition. 1998, No. 2111.

4. Ahkami AH, Naghavi MR, Hossein Zadeh A, Pirseiedi SM, Patki P, Kazemi Almoti M, Poor Irandoost H, Omid Bakhsh MA. Genetic Relationship in Durum Wheat (*Triticum durum*) Using AFLP Markers. *Iranian Agriculture Sci.* 2007; 1: 25 - 35.

5. Behera TK, Gaikward AB, Singh AK and Staub JE. Relative efficiency of DNA markers (RAPD, ISSR and AFLP) in detecting genetic diversity of bitter gourd (*Momordica charantia* L.). *The Science Food Agriculture* 2008; 88: 733 – 7.

6. Farsi M, Zolala J. Introduction to plant biotechnology. Ferdowsi University of Mashhad publication. 2003, No. 392.

7. Abdmishani C, Shahnejat- Bushehri AA. Advanced Plant Breeding, Volume 2, Plant Biotechnology. Tehran University Publications. 1998, No. 2376.

8. Weir BS. Genetic Data Analysis: Methods for discrete population Genetic Data. Sinauer

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

Associates, Sunderland, MA. 1990.

9. Duwick DN. Genetic diversity in major farm crops on the farm and reserve. *Econ Bot*. 1984; 32: 161 – 78.

10. Cao CP, Finkeldey R. Genetic diversity within and among populations of *Shorea leprosula* Miq and *Shorea parvifolia* Dyer (Dipterocarpaceae) in Indonesia detected by AFLPs. *Tree Genetics & Genomes*. 2006; 2: 225 – 39.

11. Khalighi M, Arzani A, Poursiahbidi MA. Assessment of genetic diversity in *Triticum* spp. And *Aegilops* spp. using AFLP markers. *African J. Biotechnol*. 2008; 7 (5): 546 - 52.

12. Shyamalamma S, Chandra SBC, Hegde M and Naryanswamy P. Evaluation of genetic diversity in jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) based on amplified fragment length polymorphism markers. *Genetics and Molecular Research*. 2008; 7 (3): 645-656.

13. Mueller UG, Wolfenbarger L. AFLP genotying and fingerprinting. *Tree* 1999; 14 (10): 389 - 94.

14. Caetano – Anolles G and Gresshoff PM. DNA markers: Protocols application and overviews. John Wiley and Sons. 1998, pp: 364.

15. Jones CJ, Edwards KJ, Castaglione S, Winfield MO, Sala F, van de Wiel C, Bredemeijer G, Vosman B, Matthes M, Daly A et al. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. *Molecular Breeding* 1997; 3: 381 – 90.

16. Pejic I, Ajmone-Marsan P, Morgante M. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs and AFLPs. *Theor. Appl. Genet*. 1998; 97: 1248 – 55.

17. Belja A, Satovic Z, Cipriani G, Baldoni L, Testolin R, Rallo L, Trujillo I. Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR Markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive. *Theor. Appl. Genet.* 2003; 107: 736 - 44.

18. Lima MLA, Garcia AAF, Oliveria KM, Matsuoka S, Arizono H, De Souza CL. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugarcane. *Theor. Appl. Genet*. 2002; 104: 30 - 8.

19. Incirli A and Akkaya MS. Assessment of genetic relationships in durum wheat cultivars using AFLP markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 2001; 48 (3): 233 - 8.

20. Saghai- maruf MA, Soleimani K, Jorgensen RA, Allard RW. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *PNAS*. 1984; 81: 8014 - 8.

21. Vos P, Hogers R, Bleeker M, Reijans M, Theo van de hee, Hornes M, Frijers A, Pote J, peleman J, Hornes M, Frijers A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, M. Zabeau M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 1995; 23 (21): 4407 - 14.

22. Bassam BJ, Caetano-Anolles G, Gresshoff PM. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* 196, 80 - 83.

23. Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalsky A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding*. 1996; 2: 225 - 38.

24. Ellis RP, Mcnicol JW, Baird E, Booth A, Lawrence P. The use of AFLP to examine genetic relatedness in barley. *Molecular Breeding.* 1997; 3: 359 - 69.

25. Melchinger AE, Gumber RK. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomics crops. In: K.R. Lamkey and J.E. Stuber (eds). Concepts and breeding of heterosis in crop plants. Madison, WI. CSSA. 1999, pp: 29 - 43.

26. Antonio AFG, Benchimol LL, Barbosa AMM, Geraldi IO, Souza CL. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Gen. Mol. Bio.* 2004; 27: 579 - 88.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]

27. Oliveira KM, Laborda PR, Garcia AAF, Zagatto Paterniani MAEG and Souza AP. Evaluating genetic relationships between tropical maize inbred lines by means of AFLP profiling. *Hereditas*. 2004; 140: 24 - 33.

28. Soleimani VD, B. R. Baum BR, Johnson DA. AFLP and pedigree – based genetic diversity estimates in modern cultivars of durum wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2002; 104: 350 - 7.

29. Sunil Kumar SL. DNA markers in plant improvement. An overview. *Biotechnol. Advances* 1999; 17: 143 - 82.

30. Amirian R, Naghavi MR, Shahnejat Busheri AA, Omidi M. Evaluation of genetic diversity in *Aegilops tauschii* accessions using morphological and AFLP markers. *Pakistan Journal of Biological Sci.* 2007; 10 (20): 3713 - 7.

31. Rincon F, Johnson B, Crossa J, Taba S. Cluster analysis, an approach to sampling variability in maize accessions. *Maydica* 1996; 41: 307 – 16.

32. Omid bakhsh fard MA, Naghavi MR, Mardi M, Bihamta MR, Kazemi M, Pirseyedi SM. A study of genetic diversity in Durum Wheat (*Triticum turgidum*) using microsatellite markers. *Iranian agriculture sci*. 2009; 2: 75 - 83.

33. Messmer MM, Melchinger AA, Boppenmair J, Hermann RG, Brunklaus-Jung E. RFLP analysis of early-maturing European maize germplasm. I. Genetic diversity among flint and dent inbreds. *Theor. Appl. Genet*. 1992; 83: 1003 - 12.

34. Mace ES, Gebhardt CG, Lester RN. AFLP analysis of genetic relationships in the tribe Datureae (solanaceae). *Theor. Appl. Genet.* 1999; 99: 634 - 41.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2011.10.38.12.5]