ژنتیک نوین
دوره شانزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰
صفحه ۲۳۳ - ۲۱۹

ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبورعسل ایرانی (*Apis mellifera meda*) براساس آنالیزهای نشانگر PCR-RFLP

Genetic diversity evaluation of Iranian honeybee (*Apis mellifera meda*) populations based on PCR-RFLP marker analyses

عطاالله رحیمی*[۲،۱]، علی‌نقی میرمویدی[۱]، دانیال کهریزی[۳]، لیلا زارعی[۳]، صمد جمالی[۱]

۱- به‌ترتیب دانش آموخته دکتری، استاد، استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
۲- استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران
۳- به‌ترتیب استاد، استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

Rahimi A*[1,2], Mirmoayedi A[1], Kahrizi D[3], Zarei L[3], Jamali S[2]

1- Graduated PhD Student, Professor, Assistant Professor, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran
2- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Kurdistan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sanandaj, Iran
3- Professor, Assistant Professor, Production Engineering and Plant Genetics Department, Faculty of Science and Agricultural Engineering, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Ata.rahimi@areeo.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۰۸/۰۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳)

چکیده

امروزه، تکنیک‌های متفاوتی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در حشرات استفاده می‌شود. با توجه به اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی و ساختار ژنتیک جمعیت در حفاظت گونه‌ها، تنوع ژنتیکی زنبورعسل ایرانی جمع‌آوری شده از ۲۰ استان کشور به‌کمک نشانگرPCR-RFLP بررسی شد. تعداد ۳۰۰ نمونه زنبور کارگر جوان از مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و استخراج DNA از قسمت‌های سر و قفسه‌سینه آن‌ها با استفاده از روش Salting-out با اندکی تغییرات انجام شد. در این مطالعه از آنالیزهای نشانگر PCR-RFLP نواحی DNA میتوکندریایی (ژن‌های *COI* و 16S rDNA) استفاده و هر کدام از این ژن‌ها با استفاده از چهار آنزیم برشی مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. نتایج حاصل از آنالیزهای این نشانگر، تنوع ژنتیکی خیلی پایینی را در جمعیت‌های زنبورعسل مورد مطالعه نشان داد. میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون، تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر و تنوع ژنی در اکثر جمعیت‌ها صفر بود. نتایج تجزیه کلاستر نشان داد که نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه به‌صورت پراکنده در سرتاسر شاخه‌ها توزیع و در هم ادغام شده‌اند و هیچ‌کدام به تنهایی جمعیت مجزایی را تشکیل نداده‌اند که می‌تواند به‌دلیل ماهیت نشانگر PCR-RFLP، چندشکلی آنزیمی پایین، سیستم تولیدمثلی هاپلودیپلوئیدی زنبورعسل، فعالیت‌های انسانی، خرید و فروش ملکه و کندو بین زنبورداران و داشتن مناطق کوچ و قشلاق- ییلاق مشترک باشد. در نتیجه، با توجه به نتایج مطالعه حاضر و عدم مطابقت آن با تحقیقات قبلی، بهره‌گیری از نشانگر PCR-RFLP برای مطالعات آینده جهت بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبورعسل پیشنهاد نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
زنبورعسل
نشانگر PCR-RFLP
DNA میتوکندریایی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

مقدمه

زنبورعسل اهمیت و نقش برجسته‌ای در امر گرده‌افشانی گیاهان زراعی و باغی، حفظ فلور گیاهی و محیط زیست دارد (Bahador et al. 2016). حفظ تنوع گیاهی مخصوصاً گونه‌های نادر و کمیاب و گونه‌های گیاهی در معرض انقراض که توسط زنبورعسل گرده‌افشانی می‌شوند در مقایسه با گرده‌افشانی محصولات کشاورزی توسط این حشره نیز دارای اهمیت بیشتری می‌باشد، زیرا در اثر از بین رفتن این گونه‌های ارزشمند، تنوع زیستی به خطر می‌افتد (Levin 1984; Rahimi et al. 2018). متخصصین پرورش زنبورعسل معتقدند که از بین هشت زیر گونه زنبورعسل که در خاورمیانه زندگی می‌کنند یکی از آن‌ها در ایران وجود دارد که نام علمی آن *Apis mellifera meda* می‌باشد (Bienefeld et al. 1996; Ebadi and Ahmadi 2008; Bahador et al. 2016). از آنجایی‌که نژادهای بومی در هر کشوری، یک سرمایه ملی و محصولی راهبردی در اقتصاد آن کشور محسوب می‌شوند بنابراین حفظ، نگهداری و تکثیر این زیرگونه یا نژاد زنبورعسل ایرانی در کشور از اهمیت بالایی برخوردار است زیرا این نژاد بعد از میلیون‌ها سال انتخاب طبیعی و گذر از موانع بسیار، با غلبه بر آفات و بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی همچنان به حیات خویش ادامه داده و به تکثیر و ازیاد نسل پرداخته است. دلیل دیگر توجه به نژاد بومی زنبورعسل ایرانی، حفظ ذخایر و منابع ژنتیکی کشور می‌باشد (Royan et al. 2007; Rahimi et al. 2018). زنبورعسل در ایران با چالش‌های زیادی مواجه است. یکی از مشکلات موجود، ضعف در بخش اصلاح نژاد زنبورعسل کشور است. آنچه به بهبود و توسعه هر چه بیشتر این صنعت در آینده کمک خواهد کرد حفظ ذخایر ژنتیکی، اجرای برنامه‌های اصلاح نژادی هدفمند، افزایش صفات مطلوب و حذف صفات نامطلوب در جمعیت‌های زنبورعسل کشور است. اجرا و پیشرفت برنامه‌های خاص اصلاح نژادی در زنبورعسل که می‌تواند در آینده به بهبود صفات اقتصادی، رفتاری و بهداشتی زنبورعسل ایرانی کمک کند به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های مختلف زنبورعسل کشور بستگی دارد. بنابراین اولین گام برای رسیدن به اصلاح نژاد هدفمند، مشخص نمودن میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت‌های زنبورعسل کشور می‌باشد. پس از تعیین وضعیت ژنتیکی آن، می‌توان برای اصلاح نژاد زنبورعسل ایرانی برنامه‌ریزی و طی یک برنامه اصلاح نژادی بلندمدت و هدفدار، صفات اقتصادی مورد نظر را در آن جمعیت متمرکز و صفات نامطلوب را حذف کرد (Rahimi et al. 2018). استفاده از تکنیک‌های مولکولی در سال‌های اخیر جهت مطالعه جانوران بومی و حفاظت‌شده، کاربرد گسترده‌ای یافته است (Mahmoodi et al. 2018). میزان اطلاعات به‌دست آمده از این تکنیک‌های ژنتیکی، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌های مختلف و درک تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌هاست (Mohammadabadi 2017). همچنین، مطالعه نژادهای بومی با استفاده از تکنیک‌های مولکولی، بسیار مهم و برای طبقه‌بندی آن‌ها مفید است (Alinaghizadeh et al. 2007; Moazeni et al. 2016). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (Askari et al. 2010; Moazeni et al. 2016) تنوع ژنتیکی یک عنصر اساسی برای پیشرفت ژنتیکی، حفظ جمعیت‌ها، تکامل و سازگاری به شرایط محیطی متغییر و مختلف می‌باشد (Mohammadabadi et al. 2017; Ghasemi et al. 2010).

مطالعه تنوع ژنتیکی در زنبورعسل نیاز به ابزارها و تکنیک‌های ویژه‌ای دارد. تکنیک‌های مختلفی جهت تعیین وضعیت ژنتیکی در زنبورعسل استفاده شده است. مطالعات ژنتیکی در زنبورعسل، هم براساس تجزیه و تحلیل اطلاعات مورفولوژیکی (Rahimi and Asadi 2010; Meral 2010; Rahimi el al. 2013, Rahimi and Mirmoayedi 2013; Rahimi et al. 2014, Alattal et al. 2014; Rahimi et al. 2017) و اطلاعات مولکولی صورت گرفته است (Estoup et al. 1995; Solignac et al. 2004; Özdïl et al. 2009; Papachristoforou et al. 2013; Rahimi et al. 2014; Bahador et al. 2016; Rahimi et al. 2016a,b, Rangel et al. 2016; Rahimi et al. 2018). خصوصیات مورفولوژیکی برای مطالعات ژنتیکی مناسب به‌نظر نمی‌رسند زیرا نسبت به انتخاب‌های محیطی و تغییر شرایط محیطی خیلی حساس هستند از طرف دیگر، برای مطالعات ژنتیکی، نشانگرهای مبتنی بر DNA، نشانگرهای بهتر و قابل اعتمادتری می‌باشند (Avise et al. 1987; Franck et al. 2000, Muñoz et al. 2014; Rahimi et al. 2014; Techer et al. 2015). در سال‌های اخیر ابزارهای قدرتمندی برای مطالعات

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

ژنتیکی حشرات از جمله زنبورعسل فراهم شده است. اساسی‌ترین و مفیدترین این ابزارها، نشانگرهای مولکولی و مبتنی بر DNA هستند (Behura 2006). یکی از مزیت‌های مهم نشانگرهای مولکولی نسبت به نشانگرهای مورفولوژیکی این است که نسبت به انتخاب‌های محیطی و تغییر شرایط محیطی حساس نیستند (Palmer et al. 2000). یک نشانگر مولکولی مبتنی بر DNA جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی باید دارای چند ویژگی مناسب از قبیل توارث پذیر بودن، چندشکلی و توارث همبارز داشتن، داشتن قابلیت نتایج تکرار پذیر، تظاهر در مراحل اولیه رشد، اپیستازی نداشتن و تشخیص آن سریع، آسان و ارزان باشد (Segura 2000; Channuntapipat et al. 2001; Avise 2004). نشانگر PCR-RFLP یکی از نشانگرهای مولکولی مبتنی برDNA است که به‌علت همبارز بودن، تکرار پذیر بودن و داشتن قابلیت تشخیص بالا، به‌عنوان یک نشانگر مطمئن برای مطالعات فیلوژنتیکی، تخمین تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه‌های ژنتیکی، تعیین مکان‌های ژن بر روی کروموزوم، تعیین نشانگرهای ژنتیکی گونه‌ها، آنالیز جمعیت‌ها و تشخیص بیماری‌های ژنتیکی توسعه یافته است (Botstein et al. 1980; De La Rua et al. 2004; Brito and Arias 2005; Li 2007; Ferreira et al. 2013). در یک مطالعه‌ای، ساختارهای ژنتیکی شش جمعیت زنبورعسل از مناطق مختلف یونان و قبرس با استفاده از آنالیزهای PCR-RFLP و سه ناحیه ژن‌های mtDNA (16S rDNA، *COI* و ND5) مورد بررسی قرار گرفت. به‌ترتیب هفت، هشت و هفت آنزیم محدودگر شناسایی شد که حداقل یک جایگاه برشی را به‌ترتیب در ژن‌های 16S rDNA، *COI* و ND5 داشتند. در این مطالعه، هفت هاپلوتایپ مختلف شناسایی شد که به طور واضحی نمونه‌های زنبورعسل نژاد *A. m. macedonica* را از نمونه‌های سایر نژادها تفکیک کردند (Bouga et al. 2005). در پژوهش دیگری Özdil et al. (2009) خصوصیات مولکولی جمعیت‌های زنبورعسل ترکیه را با استفاده از نشانگر PCR-RFLP نواحی DNA میتوکندریایی (COI-COII) ارزیابی و نتایج توالی‌های آن مورد مطالعه قرار دادند. این محققان، DNA میتوکندریایی ۲٤٤ نمونه زنبور کارگر را که از ۲۰ موقعیت جغرافیایی مختلف در ترکیه جمع‌آوری شده بود، مورد بررسی قرار دادند. هضم ناحیه بین ژنی COI-COII با آنزیم *DraI*، برای اولین بار در این مطالعه چهار الگوی باندی مختلف تولید کرد. چندین جایگاه چندشکل در این مطالعه نشان دادند که جمعیت‌های زنبورعسل ترکیه متعلق به شاخه تکاملی C هستند. هشت هاپلوتایپ جدید در این مطالعه پیدا شد که اکثر آن‌ها متعلق به شاخه تکاملی C بودند. در مطالعه حاضر، برای شناسایی یک تکنیک ایده‌آل با داشتن ویژگی‌های مناسب نشانگرهای مبتی بر DNA جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی زنبورعسل ایرانی، از نشانگر PCR-RFLP استفاده شد تا با توجه به نتایج این مطالعه بتوان به جواب این سئوال دست یافت: آیا نشانگر-PCR RFLP تکنیک مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در زنبورعسل است؟

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری در تابستان سال ۱۳۹۳ از ۲۰ استان کشور (شامل استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی، اردبیل، زنجان، کردستان، گیلان، مازندران، گلستان، خراسان شمالی، خراسان رضوی، تهران، همدان، کرمانشاه، ایلام، لرستان، اصفهان، چهار محال و بختیاری، فارس، کرمان و سیستان و بلوچستان) انجام گرفت (شکل ۱). در این نمونه‌برداری، از هر استان پنج شهرستان و از هر شهرستان یک زنبورستان با تعداد بالای ۳۰۰ کلنی انتخاب و از هر زنبورستان با توجه به ظرفیت و پتانسیل زنبورداری آن شهرستان، ۱ الی ۳ کندو مورد نمونه‌برداری قرار گرفتند. در مجموع ۱۵۰ کلنی زنبورعسل مورد نمونه‌برداری و از هر کندو ۲ نمونه زنبور کارگر از محل پرورش نوزاد برداشته شد.

استخراج DNA از قسمت‌های سر و قفسه‌سینه زنبورهای کارگر براساس روش Salting out (Aljanabi and Martinez 1997) با اندکی تغییرات انجام و در مجموع DNA ۳۰۰ نمونه زنبورکارگر استخراج شد.

در این پژوهش، برای ارزیابی تنوع ژنتیکی زنبورعسل ایرانی، از آنالیزهای PCR-RFLP نواحی DNA میتوکندریایی استفاده شد. بدین منظور، از نتایج حاصل از تکثیر دو قطعه مربوط به دو ژن میتوکندریایی (*COI* و 16S rDNA) استفاده شد.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]



شکل ۱- مناطق مورد مطالعه و تحت نمونه‌بردای در این پژوهش

برای تکثیر قطعه ۱۰۲۸ bp ژن *COI* و قطعه ۹٦٤ bp ژن 16S rDNA ژنوم میتوکندریایی نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه، از آغازگرهای ارائه شده در جدول ۱ استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر و در حجم ۲۵ میکرولیتر مطابق با مقادیر و غلظت‌های ارایه شده در جدول ۲ با مقداری تغییرات برای هر دو قطعه از ژن‌های مورد نظر انجام گرفت. سیکل‌های واکنش حراراتی PCR شامل: واسرشته‌سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد در چهار دقیقه (یک تکرار) و ۳۵ تکرار واسرشته‌سازی ثانویه ۹۵ درجه سانتی‌گراد در یک دقیقه، دمای اتصال آغازگر ۵۵ درجه سانتی‌گراد در یک دقیقه، گسترش اولیه ۷۲ درجه سانتی‌گراد در دو دقیقه و در نهایت گسترش نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد در ده دقیقه (یک تکرار) بودند. جهت اطمینان از تکثیر موفقیت‌آمیز قطعات مورد نظر، محصول PCR با استفاده از ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شده و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید در دستگاه تصویربرداری از ژل مشاهده شد. پس از تکثیر موفق قطعات مورد نظر، تمام نمونه‌ها با همین برنامه تکثیر شدند. سپس محصول PCR، با استفاده از آنزیم‌های برشی ارایه شده در جدول ۳ مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. تمام آنزیم‌ها به‌جز آنزیم *Taq*I (در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ١٦-١٢ ساعت با اندکی تغییرات برای هر آنزیم انکوبه شدند. سپس به‌منظور تفکیک باندهای حاصل از هضم توسط آنزیم‌های برشی، از ژل آگارز دو درصد استفاده شد. پس از الکتروفورز، جهت نمایان کردن قطعات برش داده شده با آنزیم‌های برشی، از اتیدیوم بروماید برای رنگ‌آمیزی استفاده شد. بعد از رنگ‌آمیزی، با استفاده از دستگاه تصویربرداری از ژل، از تمام تصاویر ژل‌ها عکس گرفته و جهت آنالیزهای بعدی در حافظه سیستم ذخیره شدند.

جدول۱- آغازگرهای استفاده شده جهت تکثیر قطعاتی از ژن‌های *COI* و 16S rDNA میتوکندریایی زنبورعسل

نام ژن	جهت آغازگر	توالی آغازگر	دمای اتصال	منبع
COI	Forward	5´-GATTACTTCCTCCCTCATTA-3´	٥٥	Özdil et al . 2012
	Reverse	5´-AATCTGGATAGTCTGAATAA-3´		
16S rDNA	Forward	5´-CAACATCGAGGTCGCAAACATC-3´	٥٥	Bouga et al. 2005
	Reverse	5´-GTACCTTTTGTATCAGGGTTGA-3´		

جدول۲- مقدار مواد مورد نیاز از هر ماده در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جهت تکثیر قطعاتی از ژن‌های *COI* و 16S rDNA میتوکندریایی زنبورعسل

مواد واکنش	مقدار ماده مورد نیاز به ازای هر واکنش(میکرولیتر)	غلظت نهایی
PCR –buffer (10x)	۲/٥	X۱
$MgCl_2$ (50mM)	۱	mM۲
dNTP mix (10 mM)	۰/٤	mM۰/١٦
Forward Primer (10 ng)	۱	ng۰/٤
Reverse Primer (10 ng)	۱	ng۰/٤
Taq DNA Polymerse	۰/۲	U۱
DNA(20 ng/µl)	۳	ng/µl٦۰
Distilled Distil Water	۱٥/۹	-

جدول۳- آنزیم‌های برشی استفاده شده در این مطالعه جهت هضم آنزیمی قطعات تکثیر شده ژن‌های *COI* و 16S rDNA میتوکندریایی زنبورعسل

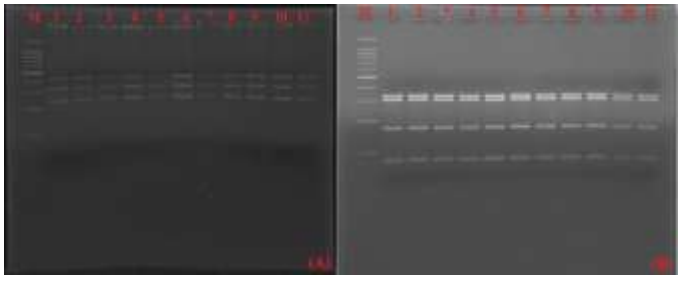
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

نام ژن‌ها	نام آنزیم‌ها	منبع
COI	*Sau*3AI, *Ssp*I, *Taq*I, *Nco*I	Özdil et al. 2012
16S rDNA	*Dra*I, *Eco*RI, *Sau*3AI, *Ssp*I	Bouga et al. 2005

در تحقیق حاضر، تمام تصاویر ژل‌های حاصل از هضم با آنزیم‌های برشی با استفاده از روش صفر و یک (حضور و عدم حضور باند) و روش الفبای انگلیسی امتیازبندی شدند. جهت به‌دست آوردن اندازه باندها و امتیازدهی با روش اندازه باند، از نرم‌افزار AlphaEaseFC استفاده شد. برای به‌دست آوردن فواصل ژنتیکی، ضرایب تشابه ژنتیکی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی از نرم‌افزار NTSYS (Roelfs et al. 1988)، برای محاسبه شاخص‌های ژنتیک جمعیت (شامل: تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر، هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص شانون و تنوع ژنی) از نرم‌افزار POPGENE V. 1.31 (Yeh et al. 1997) و از نرم‌افزار PASTE V. 4 برای تجزیه کلاستر استفاده شد. شاخص‌های نشانگری از قبیل میزان اطلاعات چند شکلی (Polymorphism Information Content (PIC)) براساس فرمول $PIC = 1-\sum_{i=1}^{n} Pi$ (Lynch and Walsh 1998)، شاخص نشانگری (Marker Index(MI)) با استفاده از فرمول (Powel et al. 1996) $MI=PIC\times N\times\beta$، شاخص نسبت چند گانه مؤثر (Effective Multiplex Ratio (EMR)) براساس فرمول $EMR = N\times\beta$ (Powel et al. 1996) و قدرت تفکیک (Resolving power (RP)) با استفاده از فرمول $RP = \sum Ib$ (Anderson et al. 1993) محاسبه شد. در این فرمول N تعداد کل باندها برای هر جفت آغازگر و β درصد چند شکلی (تعداد جایگاه‌های چندشکل تقسیم بر کل جایگاه‌ها) است.

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر از نشانگر PCR-RFLP برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبورعسل ایرانی، استفاده شد. برای دستیابی به اهداف مورد نظر، دو ژن میتوکندریایی (*COI* و 16S rDNA) مورد مطالعه قرار گرفتند که از ژن *COI* یک قطعه ۱۰۲۸ bp و از ژن 16S rDNA یک قطعه ۹٦٤ bp با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به‌طور موفقیت‌آمیز تکثیر شدند. بعد از انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و تکثیر قطعات نامبرده، قطعه ۱۰۲۸ bp ژن *COI* با آنزیم‌های برشی *Nco*I، *Taq*I، *Ssp*I و *Sau*3AI و قطعه ۹٦٤ bp ژن 16S rDNA با آنزیم‌های برشی *Dra*I، *Eco*RI، *Pst*I و *Taq*I به‌طور موفقیت‌آمیز مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند (شکل۲). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که دامنه اندازه آللی قطعات هضم شده در محدوده ۱۰۲۸–۳۰ bp متغییر بود. دامنه اندازه آللی حاصل از هضم آنزیمی نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه، دارای اختلافات جزئی نسبت به دامنه اندازه آللی گزارش شده توسط مطالعات Bouga et al. (2005)، Zaitoun et al. (2008)، Kekecoglu et al. (2009)، Kelecoglu (2010) و Özdil et al. (2012) بود. در نتیجه هضم آنزیمی قطعات تکثیر شده ژن‌های *COI* و 16S rDNA با آنزیم‌های ذکر شده به‌ترتیب ۱۹ و ۲۰ باند تولید شدند که از این تعداد به‌ترتیب چهار و هشت باند چندشکل بودند (جدول ٤). محتوی اطلاعات چندشکلی (PIC) بین صفر تا ۰/۸۵۷ متغییر بود که بیشترین آن مربوط به هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن *COI* با آنزیم برشی *Ssp*I و کمترین مقدار آن مربوط به هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن *COI* با آنزیم *Nco*I بود.



شکل ۲- الگوی باندی قطعه ۱۰۲۸ bp ژن COI زنبورعسل بعد از هضم با آنزیم‌های برشی، (A): آنزیم برشی *Taq*I، (B): آنزیم برشی *Sau*3AI. (M: سایز مارکر ۱۵۰۰ bp، چاهک‌های ۱۱–۱ نمونه‌های محصول PCR هضم شده با آنزیم‌های برشی نامبرده)

بیشترین درصد چندشکلی مربوط به هضم قطعه تکثیر شده ژن 16S rDNA با آنزیم‌های برشی *Dra*I، *Pst*I و *Taq*I به میزان۵۰

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

درصد و کمترین مقدار آن متعلق به هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن *COI* با آنزیم *Nco*I و *Taq*I به میزان صفر بود. بیشترین شاخص نشانگری (MI) و شاخص نسبت چندگانه مؤثر (EMR) مربوط به هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن 16S rDNA با آنزیم‌های برشی *Dra*I، *Pst*I و *Taq*I و کمترین مقدار آن‌ها مربوط به هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن *COI* با آنزیم‌های *Nco*I و *Taq*I بود. همچنین، بیشترین شاخص قدرت تفکیک (RP) مربوط به هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن *COI* با آنزیم برشی *Ssp*I و کمترین مقدار این شاخص مربوط به هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده ژن *COI* با آنزیم برشی *Nco*I بود (جدول ٤). براساس نتایج به‌دست آمده، میانگین تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر در جمعیت زنبورعسل استان اردبیل بیشتر از سایر جمعیت‌های زنبورعسل مورد مطالعه بود (جداول ۵ و ٦). فراوانی بالای تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر در جمعیت زنبورعسل استان اردبیل نشأت گرفته از آنزیم‌های *Sau*3AI و *Dra*I است که این موضوع حاکی از تنوع بیشتر جمعیت زنبورعسل این استان نسبت به سایر جمعیت‌های زنبورعسل مورد مطالعه می‌باشد. در مطالعه حاضر بیشترین میانگین تعداد آلل مشاهده شده در آنزیم‌های *Sau*3AI و *Dra*I مشاهده شد در مقابل کمترین میانگین تعداد آلل مشاهده شده مربوط به آنزیم *Nco*I بود (جدول ۷). بیشترین میانگین تعداد آلل مشاهده شده در آنزیم *Sau*3AI و *Dra*I در مطالعات Bouga et al. (2005)، Kelecoglu et al. (2009) و Özdil et al. (2012) و همچنین، کمترین میانگین تعداد آلل مشاهده شده در آنزیم *Nco*I در تحقیقات Kelecoglu et al. (2009) نیز گزارش شده است.

جدول ٤- نتایج حاصل از بررسی ۳۰۰ ژنوتیپ نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه با استفاده از هضم آنزیمی دو قطعه از ژن‌های DNA میتوکندریایی زنبورعسل (ژن‌های *COI* و 16S rDNA)

نام نشانگر	نام ژن‌ها	نام آنزیم‌ها	دامنه اندازه آللی مشاهده شده (bp)	تعداد کل باندها	تعداد باندهای چندشکل	محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)	درصد چندشکلی	شاخص MI	شاخص EMR	شاخص RP
mtDNA	*COI*	*Nco*I	۱۰۲۸	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۲
		*Taq*I	٤٤٠-٢٤٣	۳	۰	۰/٦٦٦	۰	۰	۰	٦
		*Ssp*I	۵۲۰-۳۰	۷	۲	۰/۸۵۷	۲۸/۵	۰/٤۸۹	۰/۵۷۱	١٤
		*Sau*3AI	٣٤٠- ٤٤	۸	۲	۰/۸۳٤	۲۵	۰/٤۱۷	۰/۵	۱۲/۰۵
	16S rDNA	*Eco*RI	٤٨٤- ٤٧٨	٤	۲	۰/۸۳٤	۲۵	۰/٤۱۷	۰/۵	۱۲/۰۲
		*Dra*I	۳۵۵- ۷۰	۸	۲	۰/۵۰٦	۵۰	۰/۵۰٦	۱	٤/۰۱
		*Pst*I	۵۷۱-۳۸۵	٤	۲	۰/۵۰٦	۵۰	۰/۵۰٦	۱	۸
		*Taq*I	٥٤٤-٤١٥	٤	۲	۰/۵۰٦	۵۰	۰/۵۰٦	۱	٤/۰۲

جدول ۵- میانگین تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر در جمعیت‌های زنبورعسل استان‌های مورد مطالعه

جمعیت‌ها میانگین	خراسان رضوی	خراسان شمالی	گلستان	مازندران	گیلان	زنجان	کردستان	آذربایجان غربی	آذربایجان شرقی	اردبیل
na	۳/٦۲۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/٦۲۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	٤/۱۲۵
ne	۱/۰۰۲	۱	۱	۱	۱	۱/۰۰۵	۱	۱	۱	۱/۰۱۷

na: میانگین تعداد آلل مشاهده شده و ne: میانگین تعداد آلل مؤثر

ادامه جدول۵- میانگین تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر در جمعیت‌های زنبورعسل استان‌های مورد مطالعه

جمعیت‌ها میانگین	کرمانشاه	همدان	تهران	ایلام	لرستان	اصفهان	چهار محال و بختیاری	فارس	کرمان	سیستان و بلوچستان
na	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/۳۷۵	۳/٦۲۵	۳/٦۲۵	۳/۳۷۵
ne	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱/۰۰٦	۱/۰۰۵	۱

na: میانگین تعداد آلل مشاهده شده و ne: میانگین تعداد آلل مؤثر

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

جدول ٦- تعداد آلل مشاهده شده (na) و مؤثر (ne) در جمعیت‌های زنبورعسل مورد مطالعه

نام ژن‌ها	جمعیت‌ها	خراسان رضوی		خراسان‌شمالی		گلستان		مازندران		گیلان		زنجان		کردستان		آذربایجان‌غربی		آذربایجان‌شرقی		اردبیل		زنبورعسل ایرانی (کل جمعیت‌ها)	
	آنزیم‌ها	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na
COI	*Nco*I	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١
	*Taq*I	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣
	*Ssp*I	١/٠٢	٧	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٧
	*Sau*3AI	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٨
16S rDNA	*Eco*RI	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١/٠٢	٤	١	٤
	*Dra*I	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١/٠٤	٨	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٨
	*Pst*I	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١/٠٦	٤	١	٤
	*Taq*I	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١/٠٦	٤	١	٤

na و ne به‌ترتیب تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر

ادامه جدول ٦- تعداد آلل مشاهده شده(na) و مؤثر(ne) در جمعیت‌های زنبورعسل مورد مطالعه

نام ژن‌ها	جمعیت‌ها	کرمانشاه		همدان		تهران		ایلام		لرستان		اصفهان		چهار محال و بختیاری		فارس		کرمان		سیستان و بلوچستان		زنبورعسل ایرانی (کل جمعیت‌ها)	
	آنزیم‌ها	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na	ne	na
COI	*Nco*I	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١	١
	*Taq*I	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣	١	٣
	*Ssp*I	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٥	١	٧
	*Sau*3AI	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١/٠٥	٨	١	٦	١	٦	١	٨
16S rDNA	*Eco*RI	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١/٠٤	٤	١	٢	١	٤
	*Dra*I	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٦	١	٨
	*Pst*I	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٤
	*Taq*I	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٢	١	٤

na و ne به‌ترتیب تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

براساس نتایج جدول ۸ مشخص شد که با منظور نمودن میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار برای هر آنزیم برشی، بیشترین میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار مربوط به آنزیم *Eco*RI و کمترین آن‌ها مربوط به آنزیم‌های *Nco*I و*Taq*I بود. نتایج میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) در جدول ۹ ارائه شده است. با توجه به نتایج به‌دست آمده، بیشترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) مربوط به جمعیت زنبورعسل استان اردبیل (۰/۱۱۱) و در آنزیم‌های *Pst*I و *Taq*I مشاهده شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، در جمعیت‌های زنبورعسل استان‌های خراسان شمالی، گلستان، مازندران، گیلان، کردستان، آذربایجان‌غربی، آذربایجان‌شرقی، کرمانشاه، همدان، تهران، ایلام، لرستان، اصفهان، چهارمحال و بختیاری و سیستان و بلوچستان، میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) صفر بود و تنوعی در این جمعیت‌ها با استفاده از این شاخص‌ها مشاهده نشد که با نتایج نشانگرهای SSR و ISSR (Rahimi et al. 2016a,b, 2020) برای همین جمعیت‌ها مطابقت نداشت. بیشترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) در جمعیت‌های زنبورعسل استان‌های خراسان‌رضوی، زنجان، فارس و کرمان به‌ترتیب در آنزیم‌های *Ssp*I (۰/۰۲۸)، *Dra*I (۰/۰۵۵)، *Ssp*I (۰/۰٦٦) و *Sau*3AI (۰/۰۸۳) مشاهده شد. در جمعیت زنبورعسل استان اردبیل، بیشترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) در آنزیم‌های *Pst*I و *Taq*I (۰/۱۱۱) و کمترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) در آنزیم‌های *Nco*I، *Taq*I، *Ssp*I، *Sau*3AI و *Dra*I (۰) مشاهده شد. در جمعیت زنبورعسل ایرانی (کلیه جمعیت‌ها) بیشترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) به‌ترتیب در آنزیم‌های *Eco*RI، *Pst*I و *Taq*I و کمترین میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) در آنزیم‌های *Nco*I و *Taq*I مشاهده شد. بیشترین میزان میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده (*Ho*) و مورد انتظار (*He*) با در نظر گرفتن میانگین جمعیت‌ها به‌ترتیب در جمعیت زنبورعسل استان اردبیل (۰/۰۴۱ ± ۰/۰۲۰) و (۰/۰۴۰ ± ۰/۰۲۰) مشاهده شد.

در مطالعه حاضر در بین جمعیت‌های زنبورعسل مورد مطالعه با در نظر گرفتن نتایج آنزیم‌های برشی مورد بررسی به ازای هر جمعیت، بیشترین میزان شاخص شانون مربوط به آنزیم‌های *Pst*I و *Taq*I و در جمعیت زنبورعسل استان اردبیل مشاهده شد (جدول ۱۰).

جدول ۷- میانگین تعداد آلل مشاهده شده و مؤثر آنزیم‌های برشی استفاده شده در مطالعه حاضر

ژن‌ها	*COI*				16S rDNA			
آنزیم‌ها میانگین	*Nco*I	*Taq*I	*Ssp*I	*Sau*3AI	*Eco*RI	*Dra*I	*Pst*I	*Taq*I
na	۱	۳	۵/۱	٦/۱	۲/۲	٦/۱	۲/۱	۲/۱
ne	۱	۱	۱/۰۰۱	۱/۰۰۲	۱/۰۰۳	۱/۰۰۲	۱/۰۰۳	۱/۰۰۳

جدول ۸- میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در آنزیم‌های برشی مورد بررسی

ژن‌ها	*COI*				16S rDNA			
آنزیم‌ها میانگین	*Nco*I	*Taq*I	*Ssp*I	*Sau*3AI	*Eco*RI	*Dra*I	*Pst*I	*Taq*I
H_o	۰	۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٦	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵
He	۰	۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰٦	۰/۰۰۲	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

جدول ۹- هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) به تفکیک هر آنزیم برشی برای هر یک از جمعیت‌ها و جمعیت زنبورعسل ایرانی (کلیه جمعیت‌ها)

ژن‌ها	جمعیت‌ها	خراسان رضوی		خراسان شمالی		گلستان		مازندران		گیلان		زنجان		کردستان		آذربایجان غربی		آذربایجان شرقی		اردبیل		زنبورعسل ایرانی (کل جمعیت‌ها)	
	آنزیم‌ها	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e
COI	*Nco*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Ssp*I	۰/۰۲۸	۰/۰۲۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
	*Sau*3AI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰٤	۰/۰۰٤
16S rDNA	*Eco*RI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۵۵	۰/۰۵۵	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦
	*Dra*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۵۵	۰/۰۵۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
	*Pst*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۱۰۷	۰/۱۱۱	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۱۰۷	۰/۱۱۱	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦
	میانگین	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۱۲	۰/۰۱۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۲۰	۰/۰۲۰	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳
	انحراف معیار	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰٤٤	۰/۰٤۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰٤۰	۰/۰٤۱	۰/۰۰٤	۰/۰۰٤

ادامه جدول ۹- هتروزایگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) به تفکیک هر آنزیم برشی برای هریک از جمعیت‌ها و جمعیت زنبورعسل ایرانی

ژن‌ها	جمعیت‌ها	کرمانشاه		همدان		تهران		ایلام		لرستان		اصفهان		چهار محال و بختیاری		فارس		کرمان		سیستان و بلوچستان		زنبورعسل ایرانی (کل جمعیت‌ها)	
	آنزیم‌ها	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e	H_o	H_e
COI	*Nco*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Ssp*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
	*Sau*3AI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰٦٦	۰/۰٦٦	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰٤	۰/۰۰٤
16S rDNA	*Eco*RI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۸۳	۰/۰۸۳	۰	۰	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦
	*Dra*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰		۰	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
	*Pst*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰		۰	۰	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦
	میانگین	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۱۳	۰/۰۱٤	۰/۰۰٦	۰/۰۰٦	۰	۰	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳
	انحراف معیار	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰٤۹	۰/۰۵۳	۰/۰۲۲	۰/۰۲۲	۰	۰	۰/۰۰٤	۰/۰۰٤

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

جدول ۱۰- شاخص اطلاعات شانون محاسبه شده به تفکیک هر آنزیم برشی و به‌صورت میانگین برای هر یک از جمعیت استان‌ها و زنبورعسل ایرانی (کلیه جمعیت‌ها)

ژن‌ها	جمعیت‌ها / آنزیم‌ها	شاخص شانون											
		خراسان رضوی	خراسان شمالی	گلستان	مازندران	گیلان	زنجان	کردستان	آذربایجان غربی	آذربایجان شرقی	اردبیل	زنبورعسل ایرانی (کل جمعیت‌ها)
COI	*Nco*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Ssp*I	۰/۰۲۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۰۹
	*Sau*3AI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۳۳
16S rDNA	*Eco*RI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۲۷	۰/۰۰۱۶
	*Dra*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۳۹	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۳۳
	*Pst*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۵۳	۰/۰۰۳۳
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۵۳	۰/۰۰۳۳
	میانگین	۰/۰۰۳	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۸	۰	۰	۰	۰/۰۱۳	۰/۰۰۲۲
	انحراف معیار	۰/۰۱۵	۰	۰	۰	۰	۰/۰۳۵	۰	۰	۰	۰/۰۳٤	۰/۰۰۳۸

ادامه جدول ۱۰- شاخص اطلاعات شانون محاسبه شده به تفکیک هر آنزیم برشی و به‌صورت میانگین برای هر یک از جمعیت استان‌ها و زنبورعسل ایرانی

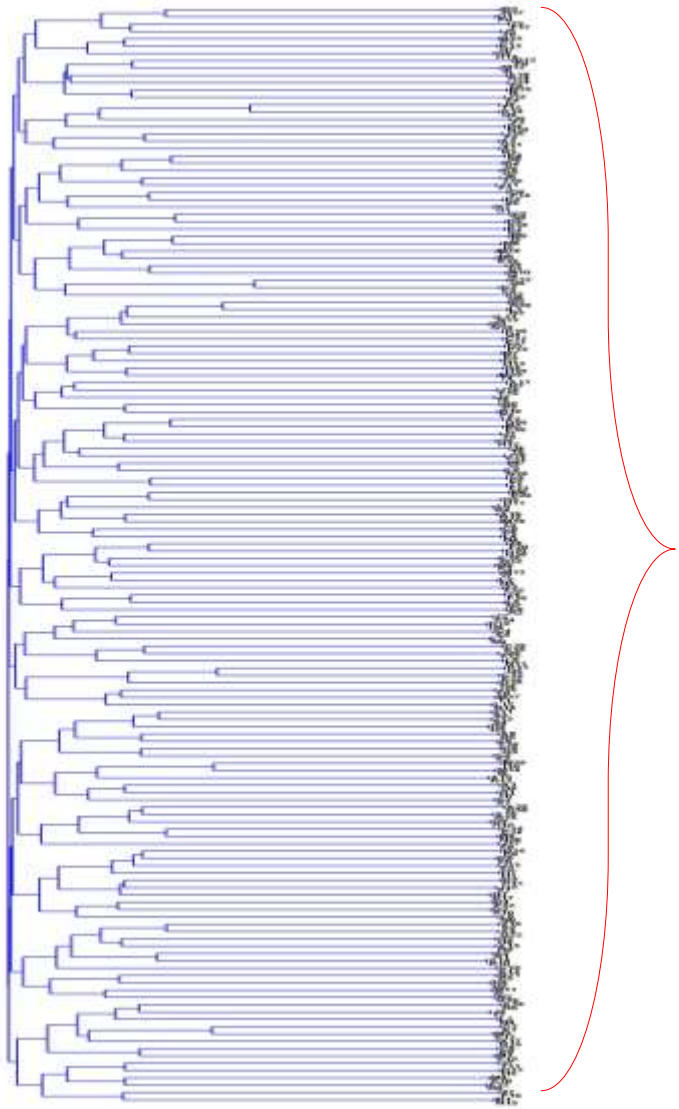
ژن‌ها	جمعیت‌ها / آنزیم‌ها	شاخص شانون											
		کرمانشاه	همدان	تهران	ایلام	لرستان	اصفهان	چهار محال و بختیاری	فارس	کرمان	سیستان و بلوچستان	زنبورعسل ایرانی (کل جمعیت‌ها)
COI	*Nco*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	*Ssp*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۰۹
	*Sau*3AI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰٤۷	۰	۰	۰/۰۰۳۳
16S rDNA	*Eco*RI	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰٤۰	۰	۰/۰۰۱۶
	*Dra*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۳۳
	*Pst*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۳۳
	*Taq*I	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۳۳
	میانگین	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۰۹	۰/۰۰٤	۰	۰/۰۰۲۲
	انحراف معیار	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰٤۲	۰/۰۱۸	۰	۰/۰۰۳۸

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

با توجه به نتایج به‌دست آمده، میزان شاخص شانون در جمعیت‌های زنبورعسل استان‌های خراسان شمالی، گلستان، مازندران، گیلان، کردستان، آذربایجان‌غربی، آذربایجان‌شرقی، کرمانشاه، همدان، تهران، ایلام، لرستان، اصفهان، چهار محال و بختیاری و سیستان و بلوچستان صفر بود. با توجه به نتایج این شاخص، تنوعی در این جمعیت‌ها مشاهده نشد که با نتایج نشانگرهای SSR و ISSR (Rahimi et al. 2016a,b 2020) برای همین جمعیت‌ها همخوانی نداشت. بیشترین میزان شاخص شانون در جمعیت‌های زنبورعسل استان‌های خراسان رضوی، زنجان، اردبیل، فارس و کرمان به‌ترتیب در آنزیم‌های *Ssp*I (۰/۰۲۰)، *Dra*I (۰/۰۳۹)، *Pst*I و *Taq*I (۰/۰۵۳)، *Sau*3AI (۰/۰۴۷) و *Eco*RI (۰/۰۴۰) مشاهده شد. بیشترین میزان شاخص شانون با در نظر گرفتن میانگین شاخص شانون هر جمعیت، در جمعیت زنبورعسل استان اردبیل (۰/۰۳۴ ± ۰/۰۱۳) مشاهده شد. بیشتر بودن شاخص شانون در جمعیت زنبورعسل استان اردبیل بیانگر وجود تنوع‌ژنتیکی بالاتر در این جمعیت است. نتایج شاخص شانون، نتایج هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار را تأیید کرد. بیشترین میزان شاخص شانون در جمعیت زنبورعسل ایرانی (کلیه جمعیت‌ها) مربوط به آنزیم‌های *Sau*3AI، *Dra*I، *Pst*I و *Taq*I (۰/۰۰۳۳) می‌باشد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، می‌توان به این نتیجه رسید که در بین آنزیم‌های برشی مورد مطالعه، آنزیم‌های برشی *Sau*3AI، *Dra*I، *Pst*I و *Taq*I دارای بیشترین چندشکلی می‌باشند.

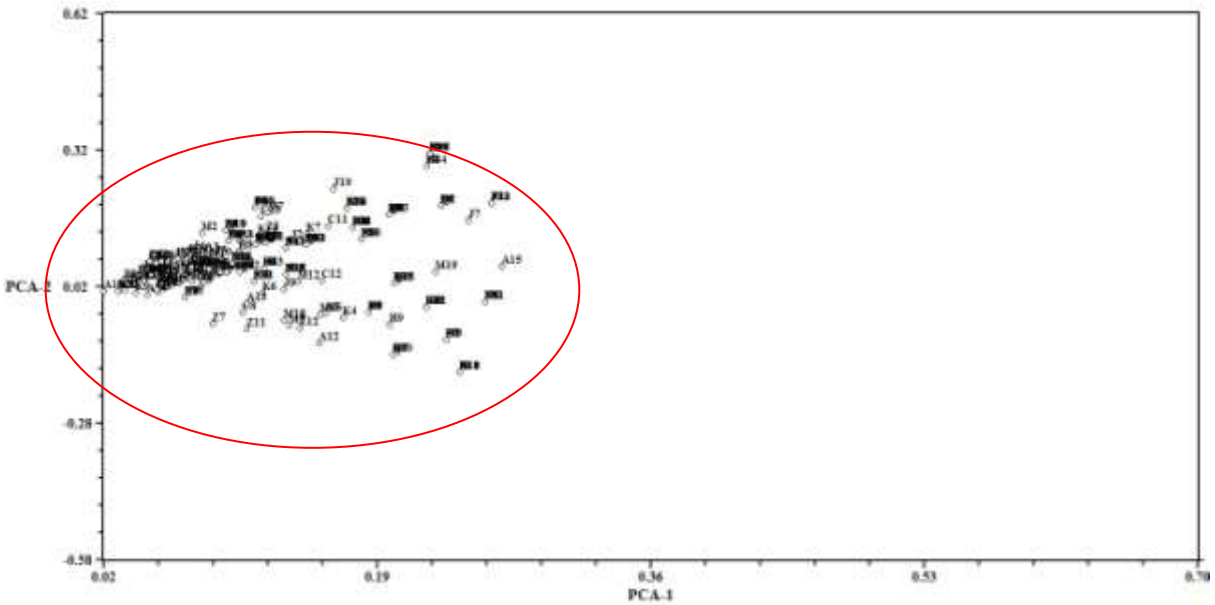
نتایج تجزیه کلاستر با استفاده از داده‌های حاصل از نشانگر PCR-RFLP با استفاده از روش Neighbor-joining و براساس ضریب تشابه جاکارد برای کلیه زنبورهای عسل مورد مطالعه در شکل (۳) ارائه شده است. نتایج حاصل از تجزیه کلاستر نشان داد که ژنوتیپ‌های نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه به‌صورت پراکنده در سرتاسر شاخه‌ها توزیع و در هم ادغام شده‌اند و هیچ‌کدام به تنهایی جمعیت مجزایی را تشکیل نداده‌اند و همگی تشکیل یک گروه واحد را دادند که دلیل این امر شباهت زیاد زنبورهای عسل مورد مطالعه براساس نتایج حاصل از این نشانگر می‌باشد. ضریب همبستگی کوفنتیک ۰/۸۲۲ بود که نشان دهنده‌ی برازش خوب بین کلاستر ترسیم شده و ماتریس تشابه است.



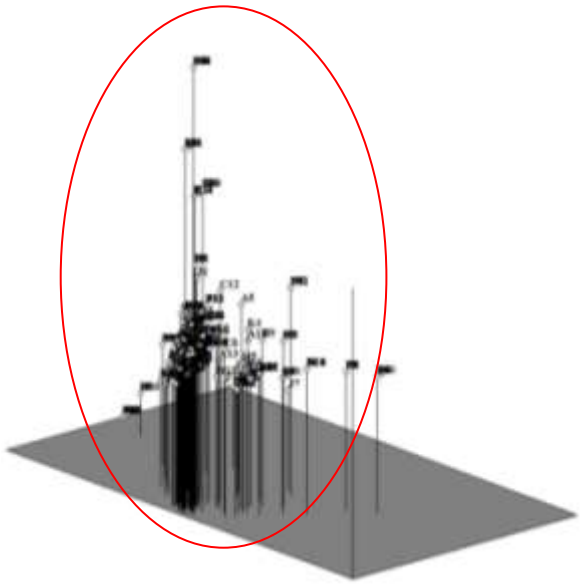
شکل ۳- تجزیه کلاستر حاصل از داده‌های نشانگرPCR-RFLP برای کلیه زنبورهای عسل مورد مطالعه با استفاده از روش Neighbor-joining و بر اساس ضریب تشابه جاکارد

نمودار پراکنش دو بعدی و سه بعدی ژنوتیپ‌های نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه براساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با ضریب تشابه جاکارد در شکل‌های ٤ و ٥ ارائه شده است، نتایج حاصل نشان داد که ژنوتیپ‌های نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه همگی تشکیل یک گروه واحد را دادند و با نتایج تجزیه کلاستر مطابقت داشت.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]



شکل٤- نمودار پراکنش دو بعدی نمونه‌های زنبورعسل مورد بررسی به‌کمک روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و براساس ضریب تشابه جاکارد



شکل ٥- نمودار پراکنش سه بعدی نمونه‌های زنبورعسل مورد بررسی به‌کمک روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و براساس ضریب تشابه جاکارد

با توجه به نتایج حاصل از تجزیه کلاستر (شکل ۳) و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (اشکال ٤ و ٥) می‌توان استنباط کرد که ژنوتیپ‌های نمونه‌های زنبورعسل مورد مطالعه به‌صورت پراکنده در سرتاسر شاخه‌ها توزیع و در هم ادغام شده‌اند و هیچ کدام به تنهایی جمعیت مجزایی را تشکیل نداده‌اند و همگی تشکیل یک گروه واحد را دادند. نتایج تجزیه کلاستر و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی حاصل از داده‌های نشانگر PCR-RFLP با نتایج تجزیه کلاستر و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی حاصل از داده‌های نشانگر SSR و ISSR (Rahimi et al. 2016a,b, 2020) و همچنین نشانگر مورفولوژیکی (Rahimi et al. 2017) برای همین جمعیت‌ها مطابقت نداشت. همچنین، میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و شاخص شانون براساس داده‌های حاصل از این نشانگر، در بیشتر جمعیت‌ها صفر بود و با نتایج نشانگرهای SSR و ISSR (Rahimi et al. 2016a,b 2020) برای

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

همین جمعیت‌ها و نتایج گزارشات Royan et al. (2007)، Mosavi (2011)، Ghassemi-Khademi et al. (2018) مربوط به جمعیت‌های زنبورعسل شمال کشور و Rahimi et al. (2014) برای جمعیت زنبورعسل جنوب کشور همخوانی نداشت. از دلایل این امر می‌توان به ماهیت نشانگر PCR-RFLP، چندشکلی آنزیمی پایین و سیستم تولیدمثلی هاپلودیپلوئیدی زنبورعسل، فعالیت‌های انسانی، خرید و فروش ملکه و کندو بین زنبورداران و داشتن مناطق کوچ و قشلاق- ییلاق مشترک اشاره کرد. بنابراین، با توجه به نتایج مطالعه حاضر و عدم مطابقت آن با نتایج تحقیقات قبلی روی زنبورعسل ایرانی، نشانگر PCR-RFLP برای مطالعات آینده جهت بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبورعسل پیشنهاد نمی‌شود.

منابع

Alattal Y, Alsharhi M, Alghamdi A, Alfaify S, Migdadi H, Ansari M (2014) Characterization of the native honey bee subspecies in Saudi Arabia using the mtDNA COI–COII intergenic region and morphometric characteristics. Bulletin of Insectology 67:31-37.

Alinaghizadeh R, Mohammad Abadi MR, Moradnasab Badrabadi S (2007) Kappa-casein gene study in Iranian Sistani cattle breed (*Bos indicus*) using PCR-RFLP. Pakistan Journal of Biological Sciences 10:4291-4294.

Aljianabi SM, Martinez I (1997) Universal and rapid salt extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research 25:4692-4693.

Anderson JA, Church JE. Autrique SD, Thanksley S, Sorrells ME (1993) Optimizing parental selection for genetic linkage map. Genome 36:181-188.

Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2010) Study of genetic diversity in four populations of Raeini cashmere goat using ISSR markers. Modern Genetics Journal 5:49-56.

Avise JC, Arnold J, Ball RM (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 18:489-522.

Avise JC (2004) Molecular markers, Natural History, and Evoluion. Sinauer Associates, Inc. Publeshers Sunderland, Massachusetts, USA 1-669.

Bahador Y, Mohammadabadi MR, Khezri A, Asadi M, Medhati L (2016) Study of Genetic Diversity in Honey Bee Populations in Kerman Province using ISSR Markers. Research on Animal Production 7: 186-192 (In Farsi).

Behura SK (2006) Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. Molecular Ecology 15: 3087–3113.

Bienefeld K, Tahmasbi Gh, Keller R, Kauhausen-Keller D, Ruttner F (1996) Report on the present situation of *Apis mellifera meda* in Iran.. Apidologie 27:307-308.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. The American Journal of Human Genetics 32:314-331.

Bouga M, Harizanis PC, Kilias G, Alahiotis S (2005) Genetic divergence and phylogenetic relationships of honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) populations from Greece and Cyprus using PCR-RFLP analysis of three mtDNA segments. Apidologie 36:335-344.

Brito RM, Arias MC (2005) Mitochondrial DNA characterization of two *Partamona* species (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) by PCR-RFLP and sequencing. Apidologie 36:431-437.

Channuntapiat C, Sedgley M, Collins G (2001) Sequences of the cDNA and genomic DNAs encoding the SI, S7, S8 and sf alleles from almond, *Prunus dulcis*. Theoretical and Applied Genetics 103:1115-1122.

De La Rua P, Hernandez N, Garcial R, Pedersen BV, Serrano J (2004) Molecular diversity of honeybee *Apis mellifera iberica* L. (Hymenoptera: Apidae) from Western Andalusia. Archivos de Zootechnia 53:195-203.

Ebadi R, Ahmadi AA (2008) Beekeeping. Rah-e Nejat Printing House, Isfahan, Iran (In Farsi).

Estoup A, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (1995) Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of infinite allele and stepwise mutation models. Genetics Society of America 140:679-695.

Ferreira VS, Aguiar CML, Oliveira EJF, Costa MA, Santos GMM, Silva JG (2013) Mitochondrial DNA variability in populations of *Centris aenea* (Hymenoptera, Apidae), a crop-pollinating bee in Brazil. Genetics and Molecular Research 12:830-837.

Franck P, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (2000) Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East. Apidologie 31:167-180.

Ghassemi-Khademi T, Rajabi-Maham M, Pashaei-Rad S (2018) Genetic diversity evaluation of Persian honeybees (*Apis mellifera meda*) in North West of Iran, using microsatellite markers. Journal of Wildlife and Biodiversity 2:37-46.

Ghasemi M, Baghizadeh A, Abadi MRM (2010) Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey cattle population using ISSR markers. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 4:5758-5760.

Kekecoglu M, Bouga M, Soysal MI, Harizanis P (2009) Genetic divergence and phylogenetic relationships of honey bee populations from Turkey using PCR-RFLP's analysis of two mtDNA segments. Bulgarian Journal of Agricultural Science 15:589-597.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

Kekecoğlu M (2010) Honey bee Biodiversity in Western Black Sea and Evidence for a new Honey Bee Ecotype in Yığılca Provinces of Düzce city. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 3:73-78.
Levin MD (1984) Value of bee pollination to United States agriculture. American Bee Journal 124:184-186.
Li Z (2007) Molecular differentiation of the four most commonly occurring *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) species in China. European Journal of Entomology 104:363-367.
Lynch M, Walsh JB (1998) Genetics and analysis of Quantitative trates. Sinauer Assocs., Inc., Sunderland MA.
Mahmoodi M, Ayatollahi A, Mohammadabadi MR (2018) Studying exon 4 of kappa-casein gene in Kermani sheep using PCR-RFLP. Agricultural Biotechology Journal 9:119-128 (In Farsi).
Meral K (2010) Honeybee *(Apis mellifera* L.) in Turkey: biodiversity using geometric morphometrics analysis. The 4th European Conference of Apidologie. Turkey, Metu-Ankara 1 -143.
Mohammadabadi MR (2017). Role of clostridium perfringens in pathogenicity of some domestic animals. Journal of Advances in Agriculture 7:1117-1121.
Mohammadabadi MR, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using Inter Simple Sequence Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. Journal of Research and Development 5:1-5.
Moazeni S, Mohammadabadi MR, Sadeghi M (2016) Association between UCP Gene Polymorphisms and Growth, Brreeding Value of Growth and Reproductive Traits in Mazandaran Indigenous Chicken. Journal of Animal Science 6:1-8.
Mosavi M (2011) Genetic diversity of honey bee populations in Gilan and Mazandaran provinces using microsatellite markers. MSc.Thesis, Zanjan university, Zanjan, Iran (In Farsi).
Muñoz I, Pinto MA, De La Rua P (2014) Effects of queen importation on the genetic diversity of Macaronesian island honey bee populations (*Apis mellifera* Linneaus 1758). Journal of Apicultural Research 53:296-302.
Özdil F, Fakhri B, Meydan H, Yildiz MA, Hall HI (2009) Molecular characterization of Turkish honey bee population (*Apis mellifera*) inferred from mitochondrial DNA RFLP and sequence results. Apidologie 40:570-576.
Özdil F, Aytekin I, Ilhan F, Boztepe S (2012) Genetic variation in Turkish honeybees *Apis mellifera anatoliaca*, *A. m. caucasica*, *A. m. meda* (Hymenoptera: Apidae) inferred from RFLP analysis of three mtDNA regions (16S rDNA-COI-ND5). European Journal of Entomology 109:161-167.
Palmer M, Smith D, Kaftano, AO (2000) Genetic variation and evidence for a fourth lineage of *Apis mellifera* mtDNA. Journal of Heredity 4:42- 46.
Papachristoforou A, Rortais A, Bouga M, Arnol G, Garnery L (2013) Genetic characterization of the cyprian honey bee (*Apis mellifera cypria*) based on microsatellites and mitochondrial DNA polymorphisms. Journal Apiculture Science 57:127-134.
Powell W, Morgante M, Andre C, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsattlite) markers for germplasm analysis. Molecular breeding 2:225-238.
Rahimi A, Asadi M (2010) Morphlogical characteristics of *Apis mellifera meda* (Hymenoptera: Apidae) in saqez. Natura Montenegrina 10:101-107.
Rahimi A, Asadi M, Mahdavi V, Abdulshahi R **(**2013). Morphological characteristics of *Apis mellifera Meda* (Hym.: Apidae) in Kerman (south of Iran). Technical Journal of Engineering and Applied Science 3:614-624.
Rahimi A, Mirmoayedi A (2013) Evaluation of morphlogical characteristics of honey bee *Apis mellifera meda* (Hymenoptera: Apidae) in Mazandaran (North of Iran). Technical Journal of Engineering and Applied Sciences 3:1280-1284.
Rahimi A, Miromayedi A, Kahrizi D, Abdolshahi R, Kazemi E, Yari K (2014) Microsatellite genetic diversity of *Apis mellifera meda* skorikov. Molecular Biology Reports 41:7755-7761.
Rahimi A, Miromayedi A, Kahrizi D, Zarei L, Jamali S (2016a) Genetic diversity of Iranian honey bee (*Apis mellifera meda* Skorikow, 1829) populations based on ISSR markers. Cellular and Molecular Biology 62:53-58.
Rahimi A, Miromayedi A, Kahrizi D, Zarei L, Jamali S (2016b) Study of the genetic diversity and phylogenetic relationships in Iranian subspecies honey bee (*Apis mellifera meda*) populations using morphological and molecular markers. Ph. D thesis, Razi University, Kermanshah, Iran (In Farsi).
Rahimi A, Miromayedi A, Kahrizi D, Zarei L, Jamali S (2017) Morphological diversity and phylogenetic relationships Study of Iranian subspecies honey bee (*Apis mellifera meda*) populations via morphological characteristics. Sociobiology 64:33-41.
Rahimi A, Miromayedi A, Kahrizi D, Zarei L, Jamali S (2018) Genetic Variation in Iranian Honeybees, *Apis mellifera meda* Skorikow, 1829, (Hymenoptera: Apidae) Inferred from RFLP Analysis of two mtDNA Regions (COI and 16S rDNA). Sociobiology 65:482-490.
Rahimi A, Miromayedi A, Kahrizi D, Zarei L, Jamali S (2020) Study of the Genetic Diversity and Phylogenetic Relationships in Iranian Subspecies Honey bee (*Apis mellifera meda*) Populations Using Morphological and Molecular Markers. In: proceedings of 2nd International and 10th National Iranian Honey Bee Congress. Iran, Animal Science Research Institute of Iran 84-84.
Rangel J, Giresi M, Pinto MA, Baum KA, Rubink WL, Coulson RN, Johnston JS (2016) Africanization of a feral honey bee (*Apis mellifera*) population in South Texas: does a decade make a difference? Ecology and Evolution 6:2158-2169.
Roelfs AP, Singh RP, Saari EE (1988) NTSYS-pc numerical Taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.02. Exeter Publications Setauket, New York.
Royan M, Rahimi G, Esmaeilkhanian S, Ansari Z (2007) A study on the genetic diversity of the *Apis mellifera meda* population in the south coast of the Caspian Sea using microsatellite markers. Journal of Apicultural Research and Bee World 46:236-241.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]

Segura JAL (2000) Highly polymorphic DNA markers in an Africanized honey bee population in Costa Rica. Genetics and Molecular Biology 23:317-322.

Solignac M, Vautrin D, Baudry E, Mougel F, Loiseau A, Cornuet JM (2004) A Microsatellite-Based Linkage Map of the Honeybee, *Apis mellifera* L. Genetics 167: 253-262.

Techer MA, Clémencet J, Turpin P, Volbert N, Reynaud B, Delatte H (2015) Genetic characterization of the honeybee (*Apis mellifera*) population of Rodrigues Island, based on microsatellite and mitochondrial DNA. Apidologie 46:445-454.

Yeh FC, Yang RC, Boyil TBJ, Mao JX (1997) POPGENE, the use-friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Alberta.

Zaitoun S, Hassawi DS, Shahrour W (2008) Origin of Jordanian honeybees *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) using amplified mitochondrial DNA. European Journal of Entomology 105:41-44.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.6.8]