ژنتیک نوین
دوره هفدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱
صفحه ۳۲۲ - ۳۰۷

# ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای در هفت گونه مختلف بومادران با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR

# The evaluation of genetic diversity between and within species in seven different species of Achillea accessions using SSR molecular markers

فاطمه نژادی[۱]، عزت کرمی*[۱]، فرزاد فیاض[۱]، هوشمند صفری[۲]، عبدالرحمن رحیمی[۱]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار، استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، کردستان، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

**Nezhadi F[1], Karami E[*1], Fayyaz F[1], Safari H[2], Rahimi A[1]**

1- PhD Student, Assistant Professor, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Kurdistan, Iran
2- Assistant Professor, Faculty member of Kermanshah Agricultural Education and Research Center, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ezzatut81@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳)

## چکیده

**بومادران (*Achillea. spp.* L) یکی از گیاهان دارویی مهم در درمان بیماری‌ها و صنایع غذایی محسوب می‌شود، با این وجود هنوز گزارش‌های محدودی در مورد تنوع و روابط ژنتیکی گونه‌های بومادران در کشور وجود دارد. لذا تحقیق حاضر به‌منظور (۱) ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای برخی گونه‌های خودروی جنس بومادران (Achillea) در سطح شهرستان سنندج و حومه با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR و (۲) بررسی کارآیی و پتانسیل نشانگرهای ریزماهواره‌ایی (SSR) در تفکیک و تمایز گونه‌ها و اکسشن‌های مورد بررسی جنس بومادران انجام گرفت. برای نائل شدن به این هدف، تنوع ژنتیکی در ۲۸ اکسشن بومادران متعلق به هفت گونه خودروی با استفاده از ۱۶ جفت نشانگر SSR ارزیابی شد. استخراج DNA ژنومی به روش CTAB از برگ‌های تازه و نرم گیاهچه‌های دو تا سه هفته‌ای حاصل از کشت بذر اکسشن‌ها به‌صورت بالک صورت گرفت. محصولات حاصل از تکثیر با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز متافور ۲/۵ درصد جدا شده و با دستگاه ژل داکیومنت عکس‌برداری شد. از نرم‌افزارهای PopGene، GenAlEx 6.2، DARwin 5 و PASTv3.18 برای محاسبه پارامترهای ژنتیکی، تجزیه واریانس مولکولی، ماتریس تشابه، تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. تعداد ۱۲ جفت آغازگر پلی‌مورف SSR، مجموعاً ٥٦ الل را در بین گونه‌های مورد بررسی جنس بومادران شناسایی نمودند. متوسط درصد چند شکلی و تعداد الل چند شکل به‌ترتیب برابر ۸۲/٥٦ درصد و ۳/۹۲ بود. متوسط محتوای اطلاعات چند شکلی (PIC) برابر ۰/۳۲٤ بود. بر اساس تجزیه واریانس ملکولی ٦٤ درصد واریانس موجود، درون گونه‌ایی و ۳٦ درصد به واریانس بین گونه‌ایی اختصاص داشت. متوسط ضریب تشابه کل بین گونه‌ها و بین جمعیت‌ها به‌ترتیب ۰/۷٦ و ۰/۵۸۸بود. تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌ها را تا حد بالایی از همدیگر تفکیک نمود (۸۲ ٪) و گونه‌های مورد مطالعه را نیز در سه گروه مجزا قرار داد. نتایج تجزیه به مختصات اصلی با نتایج تجزیه خوشه‌ای و ماتریس تشابه قابل مقایسه و تا حدود زیادی آن‌ها را تأیید نمود. به‌طور کلی اکسشن‌های مورد بررسی بومادران تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی نشان دادند، به طوری‌که بیشترین مقدار آن متعلق به تنوع درون گونه‌ایی بود. همچنین نشانگرهای SSR سودمندی و پتانسیل بالایی در تشخیص تنوع ژنتیکی، تفکیک و تمایز جمعیت‌ها و گونه‌ها داشتند. لذا این نشانگرها در شناسایی ژنوتیپ‌های برتر برای برنامه‌های اهلی نمودن و به‌نژادی این گیاهان کمک شایانی خواهند نمود.**

**واژه‌های کلیدی**

آغازگر
تجزیه به مختصات اصلی
تجزیه خوشه‌ایی
ضریب تشابه
محتوی اطلاعات چند شکلی

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

## مقدمه

جنس بومادران[1] دارای حدود ۱۳۰ گونه است که پراکنش آن از جنوب شرق اروپا تا جنوب شرقی آسیا بوده و از طریق اوراسیا به آمریکای شمالی گسترش یافته است. گونه‌های این جنس سازگاری قابل توجه با شرایط زیست محیطی متفاوت نشان می‌دهند و از بیابان‌ها و سواحل دریایی تا مناطق صخره‌ای گسترش دارند. گیاهان این جنس چند ساله و دگرگرده افشان هستند که گرده افشانی آن‌ها توسط حشرات می‌باشد (Guo et al. 2004). در ایران ۱۹ گونه علفی از این جنس وجود دارد، دیگر گونه‌های این جنس علاوه بر ایران در عراق، آناتولی، سوریه، قفقاز، لبنان، فلسطین، روسیه مرکزی، ماورای قفقاز، ترکمنستان، افغانستان، آسیای جنوب غربی و آسیای مرکزی نیز می رویند (Mozaffarian 2009). از این گیاه در طب سنتی به‌عنوان اشتهاآور، التیام دهنده‌ی زخم، ادرار آور، ضد نفخ، ضد تب، ضد التهاب و مسکن سرفه استفاده شده است (Trumbeckaite et al. 2011). علاوه براین گیاه بومادران از اهمیت بسزایی در صنایع آرایشی و بهداشتی برخوردار است (Cavalcanti et al. 2006). با وجود اینکه بومادران یکی از گیاهان دارویی پرمصرف بازار جهانی در درمان بیماری‌ها و صنایع غذایی محسوب می‌شود، هنوز در کشور ما اطلاعات کافی در زمینه توده‌های بومی خالص شده موجود در کشور وجود نداشته و رقم اصلاح شده‌ای از آن معرفی نشده است (Taheri et al. 2016b).

تنوع ژنتیکی اساس مطالعات اصلاحی در گونه‌های گیاهی است، اما تاکنون فقط یک گام مقدماتی برای شناسایی پتانسیل وسیع آن برداشته شده است. کسب اطلاع از فاصله ژنتیکی در بین افراد یا جمعیت‌ها و آگاهی از روابط خویشاوندی گونه‌های مورد نظر، امکان سازمان‌دهی ذخایر توارثی و نمونه‌گیری مؤثر از ژنوتیپ‌ها و بهره‌برداری بهتر از تنوع در برنامه‌های اصلاحی را فراهم می‌سازد (Guo et al. 2008). مطالعات تنوع ژنتیکی گونه‌های دارویی در دو دهه گذشته عمدتاً با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی، متابولیتی و اخیراً مولکولی انجام شده است. در بررسی تنوع توده‌های یک گیاه دارویی هر یک از انواع این نشانگرها با توجه به هدف و شرایط ممکن است از کارآیی بالاتری برخوردار باشند (Taheri et al. 2016b).

با تحقیقات متعدد ثابت شده است که نشانگرهای مولکولی ابزارهای ارزشمندی برای توصیف و ارزیابی تنوع ژنتیکی در بین گونه‌ها و جمعیت‌ها هستند. همچنین نشان داده شده است که نشانگرهای مختلف ممکن است انواع مختلفی از تغییرات را نشان دهند (Powell et al. 1996). Wallner et al. (1996) کارآیی تکنیک RFLP و روش‌های انگشت‌نگاری مبتنی بر PCR برای تعیین ویژگی کلونی‌های ریز ازدیادی شده Achillea را ثابت نمودند. Wallner et al. (1996) پایداری انگشت نگاره‌های الیگونوکلئوتیدی و نشانگرهای RAPD را برای تشخیص ۲ گونه Achillea در طول ریزازدیادی این گونه‌ها را ارزیابی نمودند. در همین راستا Morsy (2007) تنوع مولکولی ۵ جمعیت (Forssk) *Achillea fragrantissima* در مصر با استفاده از نشانگرهای RAPD و ایزوزیمی[2] را گزارش نمود. Gharibi et al. (2011) نشانگرهای ISSR را برای بررسی تنوع ژنتیکی در دو زیرگونه بومادران *Achillea millefolium* مورد استفاده قرار دادند. Gharibi et al. (2011) نشانگرهای ISSR و مورفولوژیکی را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در چندین اکسشن بومادران از مناطق مختلف جغرافیایی ایران به‌کار گرفتند. با استفاده از ١٤ آغازگر ISSR ۲۲۸ نوار تکثیر شد که ۱۹۹ مورد از آن‌ها (۸۷/۲۸٪) چند شکل بودند. تجزیه و تحلیل خوشه‌ای و مختصات اصلی[3] نشان داد که اکثر ژنوتیپ‌ها بر اساس مناطق جغرافیایی آن‌ها گروه‌بندی شده‌اند. نتایج تجزیه و تحلیل مورفولوژیکی در اکثر موارد با نتایج به‌دست آمده از طریق تجزیه و تحلیل مولکولی مطابقت داشت. Rahimmalek (2012) از نشانگرهای مولکولی ISSR و نشانگرهای مورفولوژیکی برای تشخیص تنوع ژنتیکی در چندین ژنوتیپ *Achillea tenuifolia* از مناطق مختلف جغرافیایی ایران استفاده نمود. طوری‌که با استفاده از ۱۵ جفت آغازگر ISSR در مجموع ٢٤٧ باند حاصل شد که از این تعداد، ٢١٤ باند (٨٧٪) چند شکل بودند. داده‌های حاصل، گروه‌های مناطق شمالی، شمال غربی و مناطق مرکزی را از همدیگر تفکیک نمود. تعداد ۳۷

[1] Achillea

[2] Isozyme

[3] PCoA



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

اکسشن از گونه‌ی *A. millefolum* با استفاده از ۷ آغازگر ISSR مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع ۷۲ باند تولید شد که همه‌ی آن‌ها چند شکل بودند، که بر اساس الگوی باندی به‌دست آمده اکسشن‌ها در ٦ گروه قرار گرفتند و زیر گونه‌ی Elburcensis که بومی شمال ایران بود از دیگر اکسشن‌ها تفکیک شد (Farajpour et al. 2012). Ebrahimi et al. (2012) با استفاده از هفت آغازگر ISSR و نه آغازگر RAPD تنوع ژنتیکی ١٦ اکسشن بومادران متعلق به دو گونه بومی ایران را مورد بررسی قرار دادند. مجموعاً ۱۸۷ قطعه تکثیر شدند، که از این تعداد ۱۵۹ قطعه چند شکل (۸۵٪) بود. ضریب شباهت میان توده‌های *Achillea tenuifolia* بین ٦١ تا ٨٦ درصد و از ٤٠ تا ٨٤ درصد میان اکسشن‌های *A. santolina* متغیر بود. شباهت کمی بین این دو گونه مشاهده شد (میانگین شباهت = ۰/۳٦)، طوری‌که این شباهت کم با توزیع جغرافیایی آن‌ها نیز مطابقت داشت. Badr at al. (2016) در آزمایشی تنوع ژنتیکی ۲۰ جمعیت بومادران از گونه *A. fragragrantissima* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف مصر را با استفاده از نشانگر ISSR و ۲۸ صفت کمی و کیفی مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج به‌دست آمده در میان جمعیت‌های جمع‌آوری شده از ارتفاعات سینا و مناطق دیگر، تنوع معنی‌داری وجود داشت، همچنین تعداد هفت باند اختصاصی مرتبط با خصوصیات کیفی شناسایی شد. در آزمایشی تنوع درون گونه‌ای تعداد ۱۸ جمعیت بومادران گونه *A. collina* با استفاده از ۱۲ آغازگر ISSR مورد ارزیابی قرار گرفت که در مجموع ۱۸۸ باند تولید شد، از این تعداد ۹۷/۳٤ درصد از آن‌ها چند شکل بودند و بر همین اساس گزارش شد که نشانگر ISSR برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بومادران اطلاعات مناسبی را ارائه می‌نماید (Inotai et al. 2016). استفاده از میکروساتلیت‌های SSR رویکرد موفقی را برای انتخاب به کمک نشانگر در برنامه‌های اصلاح نباتات فراهم می‌نماید (Powell et al. 1996).

توسعه و استفاده از توالی‌های ساده تکرار شونده (نشانگرهای SSR) مرتبط با صفات خاص، امکان انتخاب ژنوتیپ‌های مطلوب را به‌جای فنوتیپ‌ها می‌دهد و از این رو می‌تواند برنامه‌های اصلاح نباتاتی را تسریع نماید. بنابراین، توسعه نشانگرهای SSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط فیلوژنتیکی گونه‌های Achillea و حتی جنس‌های مربوط به آن در قبیله Anthemideae بسیار مهم و حیاتی است. Rahimmalek et al. (2011) با استفاده از ۳۰ جفت آغازگر SSR تنوع ژنتیکی ٢٦ اکسشن *A. millefolium* را مورد بررسی قرار دادند که ١٦ جفت از آن‌ها چند شکل بودند. میانگین تعداد آلل‌های تکثیر شده توسط نشانگر SSR برابر ۸/۵ در هر مکان بود و برای تمام مکان‌ها از ۲ تا ١٤ متغیر بود. هتروزیگوسیتی مشاهده شده[1] از ۰ تا ۰/۹٦ با میانگین ۰/۵۲ و هتروزیگوسیتی مورد انتظار[2] از ۰/۰۷ تا ۰/٤۹ با میانگین ۰/۳۹ متغیر بود. بیشترین و کمترین مقدار محتوای اطلاعات چند شکلی میان آغازگرهای مورد استفاده به‌ترتیب مربوط به آغازگرهای Am142 و Am59 با میانگین ۰/۳۳ بود. تجزیه کلاستر و مختصات اصلی[3] اکسشن‌های *A. millefolium* را با توجه به توزیع جغرافیایی آن‌ها طبقه‌بندی نمودند و گونه *A. tenuifolia* را به‌طور کامل از ژنوتیپ‌های *A. millefoliulm* جدا نمودند. Mason (2016) در بررسی نشانگر SSR بیان داشت که SSRها از نشانگرهای بسیار مطلوب برای بررسی ژنوتیپ‌های گیاهی هستند، که در ۲۰ سال اخیر به‌دلیل نشان دادن سطح بالایی از چند شکلی در بین جمعیت‌های گونه‌های گیاهی استفاده وسیعی داشته است و برای سال‌های آینده نیز به‌عنوان یکی از ابزارهای مهم بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی مورد استفاده خواهد بود. Meyer et al. (2017) تنوع ژنتیکی گونه *Ambrosia artemisiifolia* L. را بر اساس ۱۳ آغازگر SSR و ۱۳ آغازگر EST-SSR مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی زیادی بین جمعیت‌های شمال آمریکا و جمعیت‌های اروپا وجود دارد، همچنین آن‌ها بیان داشتند که نشانگر SSR دارای کارآیی بالایی در بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گونه‌ی مورد بررسی می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر (۱) ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای برخی گونه‌های خودروی جنس بومادران در سطح شهرستان سنندج و حومه با استفاده از نشانگرهای مولکولی SSR و (۲) بررسی کارآیی و پتانسیل این

[1] HO
[2] HE

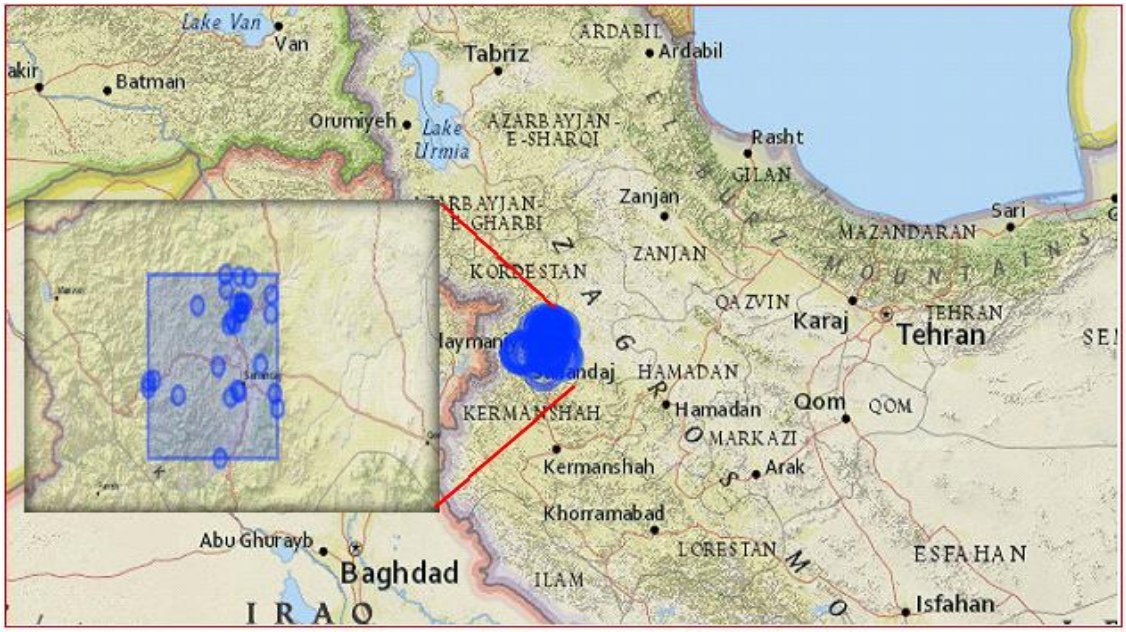


[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

نشانگرها در تفکیک و تمایز گونه‌ها و اکسشن‌های مورد بررسی جنس بومادران بود.

## مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای در برخی گونه‌های خودروی جنس بومادران با استفاده از شاخص‌های مولکولی، ۲۸ جمعیت (با ۳ نمونه) از ۷ گونه شامل *A. millefolium*، *A. vermicularis*، *A. tenuifolia*، *A. aleppica* و *A. talagonica* در محدوده جغرافیایی شهرستان سنندج و حومه آن جمع‌آوری شد. این منطقه در طول جغرافیایی E ۴۵ '۴۶ ۵۹ شرقی و عرض N ۰۰ "۱۹ ۳۵ شمالی واقع شده است. برای این منظور، ابتدا ٤ جمعیت از هر گونه را شناسایی و پس از آن موقعیت جغرافیایی و اطلاعات زمین شناسی آن‌ها با دقت ثبت شد. برای شناسایی هر گونه، نمونه‌ای از هر نقطه جمع‌آوری شد. سپس با استفاده از مشخصات ریخت‌شناسی ذکر شده در فلور گیاهی ایران، نوع گونه در آزمایشگاه به دقت تشخیص داده شد (Ahmadi et al. 2013). شکل (۱) موقعیت جغرافیایی دقیق هر مکان را نشان می‌دهد. مشخصات مواد ژنتیکی مورد مطالعه، با ذکر نام گونه، کد جمعیت، منشاء و مشخصات جعرافیایی محل جمع‌آوری نمونه‌ها در جدول (۱) نشان داده شده است.




شکل ۱- موقعیت نمونه‌های جمع‌آوری شده روی نقشه جغرافیایی منطقه

جدول ۱- کد جمعیت، منشاء و مشخصات جعرافیایی محل جمع‌آوری نمونه‌های ۲۸جمعیت مورد بررسی از ۷ گونه‌ی جنس Achillea

| کد جمعیت | گونه | منشاء | طول جعرافیای | عرض جغرافیایی | ارتفاع از سطح دریا |
|---|---|---|---|---|---|
| AL1 | *A. Alppica* | Park kodak | ٦٧٩٧٣٨ | ٣٩٠٧٦٦٢ | ١٦٩٦ |
| AL2 | *A. Alppica* | Salvat Abad | ٦٩٤١٤٠ | ٣٩٠٧٢٢٣ | ٢٠١٤ |
| AL3 | *A. Alppica* | Hassan Abad | ٦٧٦٣٩٢ | ٣٩٠٦٠١٩ | ١٨٧٧ |
| AL4 | *A. Alppica* | Goyran | ٦٤٣٦٢٢ | ٣٩٠٩٥٧١ | ١٥١٠ |
| BI1 | *A.biebersteinii* | Savarian | ٦٧٢٥٣٨ | ٣٨٨٩٣٢١ | ١٣١٢ |
| BI2 | *A.biebersteinii* | Pichon | ٦٤٥٥٩٩ | ٣٩١٠٢٥١ | ١٤٢٥ |
| BI3 | *A.biebersteinii* | Danikesh | ٦٤٣٣٥٢ | ٣٩٠٧٧٦٧ | ١٣٥٧ |
| BI4 | *A.biebersteinii* | Chelgazii | ٦٧٥١٩٤ | ٣٩٢٥٧٩٣ | ١٦٢٠ |
| MI1 | *A.millefolium* | Salvat Abad | ٦٩٥٢٢٧ | ٣٩٠٣٢٦٥ | ١٩٤٦ |
| MI2 | *A.millefolium* | Babareiz | ٦٨٨٢٠١ | ٣٩١٥١٣٤ | ١٣٨٨ |



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

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| MI3 | *A.millefolium* | Dolbandi | ٦٩١٨٣٩ | ٣٩٢٩١٣٠ | ٢٠٠٩ |
| MI4 | *A.millefolium* | Jebreillian | ٦٩١٩٤٢ | ٣٩٣٤٤٤٤ | ١٦٣٨ |
| TA1 | *A. talagonica* | Chrandoo | ٦٧٦١٩٥ | ٣٩٢٧١٧٣ | ١٦٩٢ |
| TA2 | *A. talagonica* | Biaenchob | ٦٧٩٢٥١ | ٣٩٣٩٠٤٩ | ٢٠٠٠ |
| TA3 | *A. talagonica* | Sofla Mamox | ٦٧٩٤٨٢ | ٣٩٢٩١٧٤ | ١٩٧٥ |
| TA4 | *A. talagonica* | Chrandoo | ٦٧٠٠٥٧ | ٣٩٣١٩٢١ | ٢١٨٥ |
| TE1 | *A.tenuifolia* | Mamox | ٦٨٠٣٠٠ | ٣٩٢٩٤٢٨ | ١٨٦٨ |
| TE2 | *A.tenuifolia* | Chrandoo | ٦٧٨٠٩٩ | ٣٩٣١٣٥٣ | ١٦٩٨ |
| TE3 | *A.tenuifolia* | Bazi Rabab | ٦٨٣٢٨٣ | ٣٩٣٨٦٦٢ | ١٩٣٦ |
| TE4 | *A.tenuifolia* | Sarab Ghamish | ٦٧٧٥٥٦ | ٣٩٢٦٠٢٤ | ١٥٩٨ |
| VE1 | *A.vermicularis* | Ghalvazei | ٦٧٣٩٤١ | ٣٩٣٥٢٧٩ | ٢٢٦٠ |
| VE2 | *A.vermicularis* | Sofla Mamox | ٦٨٠٣١٧ | ٣٩٣١٤٦٠ | ٢٠٧٥ |
| VE3 | *A.vermicularis* | Sangi Sefied | ٦٧٣٨١٩ | ٣٩٣٩٣٨٨ | ٢١٧٦ |
| VE4 | *A.vermicularis* | Dole Rahman | ٦٧٩٠٣٤ | ٣٩٠٨٠٢٧ | ١٨٥١ |
| WI1 | *A.willhelmsii* | Sofla Mamox | ٤٨١٤٧٢ | ٣٩٣١٧١٤ | ٢٠٣٩ |
| WI2 | *A.willhelmsii* | Arandan | ٦٧١٠٩٩ | ٣٩١٤٣٩٩ | ١٨٧٥ |
| WI3 | *A.willhelmsii* | Klatei | ٦٥٥٣٢٤ | ٣٩٠٦١٢٤ | ٢١٤٠ |
| WI4 | *A.willhelmsii* | Gav Dareh | ٦٦٥٢٣٠ | ٣٩٣٠٨١٣ | ١٩٧٠ |

استخراج DNA ژنومی ٢٨ اکسشن بومادران از ٧ گونه مختلف با روش CTAB (ستیل تری متیل آمونیوم بروماید[1]) مطابق روش ارائه شده توسط Doyle and Doyle (1990) با لحاظ نمودن تغییرات اعمال شده توسط Dharajiya et al. (2017) از برگ‌های تازه و نرم گیاهچه‌های دو تا سه هفته‌ای حاصل از کشت بذر اکسشن‌ها به‌صورت بالک صورت گرفت.

تمام نمونه‌های DNA ژنومی در بافر TE 1X (Tris-EDTA) حل شده و برای استفاده بیشتر در دمای ٢٠- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. کیفیت DNA ژنومی استخراج شده از ٢٨ اکسشن بومادران با روش چشمی، با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و ژل آگارز ٠/٨٪ بررسی شد (Primrose and Twyman 2013). کیفیت و کمیت با استفاده از اسپکتروفتومتر نانو قطره[2] (BioSpectrometer, Eppendorf , Germany) بررسی شد. نسبت A260/A280 برای هر نمونه محاسبه و برای انتخاب نمونه‌هایی با کیفیت خوب DNA مورد استفاده قرار گرفت. کمیت (مقدار DNA) به‌طور مستقیم به‌صورت نانوگرم/میکرولیتر اندازه‌گیری شد و بر اساس داده‌های کمی، بخشی از نمونه‌های DNA با مقدار مناسب بافر TE 1X برای تولید غلظت ٥٠ نانوگرم/میکرولیتر جهت انجام آنالیزهای مولکولی و همچنین ذخیره در دمای ٢٠-درجه سانتی‌گراد برای استفاده‌های بیشتر در آینده رقیق شد.

واکنش PCR در حجم ١٤ میکرولیتر حاوی: DNA الگو ٥٠ نانوگرم/میکرولیتر[3] (٢ میکرولیتر)، آغازگرهای مستقیم و معکوس[4] با غلظت 20 pmole/µl به میزان ٢ میکرولیتر، آب دیونیزه به مقدار ٣ میکرولیتر، اجزائ مسترمیکس[5] PCR شامل: بافر 10X PCR، ١٠ dNTPs میلی‌مولار، $MgCl_2$ ٢/٥ میلی‌مولار و ١ واحد از Taq DNA پلیمراز مجموعاً به میزان ٧ میکرولیتر انجام شد. در این آزمایش از ١٢ آغازگر SSR استفاده شد. توالی و مشخصات این آغازگرها در جدول (٢) آورده شده است. آغازگرهای مورد استفاده بر اساس گزارش Rahimmalek et al. (2011) تهیه شدند. پس از مخلوط شدن اجزائ واکنش و تعیین بهترین دمای اتصال برای هر جفت آغازگر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در یک دستگاه ترموسایکر (Eppendorf, Germany) انجام شد.

چرخه‌های حرارتی برای تکثیر DNA با استفاده از آغازگرهای SSR در PCR به شرح زیر تنظیم و بهینه‌سازی شد: واسرشت‌سازی اولیه[6] (در دمای ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٣ دقیقه) و پس از آن ٣٨ چرخه، طوری‌که هر چرخه‌ی آن شامل

[1] cetyl trimethyl ammonium bromide
[2] Nano-Drop Spectrophotometer
[3] ng/µl
[4] Forward and reverse primers
[5] Master mix
[6] Initial denaturation



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

مرحله واسرشت‌سازی (در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه)، اتصال آغازگر[1] (بسته به دمای ذوب آغازگرها (°C) به مدت ٤٥ ثانیه) و توسعه رشته (در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱:۲۰ دقیقه) بود. همچنین توسعه نهایی[2] (در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه) انجام گرفت و سپس محصولات حاصل از تکثیر PCR بعد از خنک شدن در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌همراه نشانگر استاندارد DNA با استفاده از الکتروفورز بر روی ژل آگارز متافور ۲/۵ درصد جدا شده و تحت نور UV با استفاده از دستگاه ژل داکیومنت FluorChem FC2، ( Alpha Innotech Corporation, USA) عکس‌برداری شد.

داده‌های مربوط به حضور (۱) یا عدم حضور (۰) نوارهای قطعات DNA تکثیر شده با PCR به‌عنوان داده‌های دوتایی ثبت شد. ماتریس‌ها برای داده‌های باینری با استفاده از ضریب تشابه جاکارد (Jaccard 1908) و تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش جفت گروه بدون وزن با میانگین حسابی[3] تولید شدند. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با فرکانس بوت استرپ n = 500 در نرم‌افزار $PAST_{v3.18}$ انجام شد (Hammer et al. 2001). از نرم‌افزار AlphaEaseFC نسخه ٦,۰,۰ برای تعیین وزن مولکولی نوارهای جدا شده روی ژل استفاده شد. مقدار محتوای اطلاعات چند شکلی بر اساس فراوانی آلل‌ها با فرمول داده شده محاسبه شد (Prevost and Wilkinson 1999). درصد چند شکلی با فرمول زیر محاسبه شد.

۱۰۰× (تعداد کل نوارها/تعداد نوارهای چندشکلی)= چندشکلی (٪)

از نرم‌افزارهای PopGene، GenAlEx 6.2 و DARwin 5 برای محاسبه پارامترهای ژنتیکی، تعیین تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ها، تجزیه واریانس مولکولی[4]، ماتریس تشابه و تجزیه خوشه‌ای استفاده شد.

## نتایج

تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها و روابط بین گونه‌ای برای گونه‌های مورد بررسی با استفاده از ۱٦جفت آغازگر SSR ارزیابی شد. از مجموع ۱٦ جفت آغازگر مورد استفاده، ٤ جفت آغازگر شامل AmK436، AmK28، AmK111 و AmK31 قابل امتیازدهی نبودند. ۱۲ جفت آغازگر SSR در مجموع توانستند ٥٦ الل را در بین گونه‌های جنس بومادران شناسایی نمایند، که از این تعداد ۹ الل یک شکل و ٤۷ الل چند شکل بودند.

میانگین تعداد الل تکثیر شده توسط هر جفت آغازگر SSR برابر ٤/٦۷ بود (البته بدون در نظر گرفتن چهار جفت آغازگری که تکثیر نداشتند) و متوسط تعداد الل چند شکل ۳/۹۲ بود. بیشترین تعداد الل (۷ الل) متعلق به لوکوس‌های AmK416 و AmK142 و کمترین (۲ الل) آن مربوط به لوکوس AmK59 بود.

[1] Annealing
[2] Final extension
[3] UPGMA
[4] AMOVA

جدول ۲- کد، مشخصات توالی و دمای اتصال ۱۲ جفت آغازگر پلی‌مورف SSR مورد استفاده در تحقیق حاضر (Rahimmalek et al. 2011)

| کد آغازگر | توالی مستقیم (Forward Sequence) | توالی معکوس (Reverse Sequence) | دمای اتصال (°C) |
|---|---|---|---|
| Amk416 | CCCTCATCTCCTTGTGGTGT | GGGGTCTTGGTGTAACTTTAGC | ٥۷ |
| Amk142 | CAAAGTAAGGTGGAACGACGA | CGCAAAATATTATCCTCCTTTGG | ٥٤ |
| Amk344 | CTAAGTGGGGGCATAAATACG | GGGTGGTAGATGATGAACAAGA | ٥۲ |
| AmK230a | CAGAAGCCCCACAACAATC | GAAATGGACAGAGTGCGTTG | ٥٤ |
| AmK435 | AGCTTGGACTTACTATCAATAGGG | AGGGAGTTTGCCATGATAGA | ٥٤ |
| Amk439 | GCAGCCGCATATGGTATTCT | ATGGCAAGTTCCTCCTCCTC | ٥٦ |
| Amk206 | GTTTCACTTCAATCGCCACA | GGGTAAACAAGTTAAATGACATGA | ٥٤ |
| AmK54 | GCCGTGCTAATGCAAGTGAT | TGATCAGGGTGTGTGACCAG | ٥۲ |
| AmK329 | CCTTGAATCGTTCCCAAGC | CGCTTACTGGAGCCACAAAT | ٥٥ |
| AmK230b | CGATCTGTGGGGAAGATGAT | CTAAGTGGGGGCATAAATACG | ٥٥ |
| AmK59 | GGAAGGGTCCATTGGTGTTA | TCTGGGACCATTTGATGTAAAC | ٥۱ |
| AmK244 | TGGCTCACTCACCATCAAAC | CCATTGCATGCGGAACTA | ٥۳ |

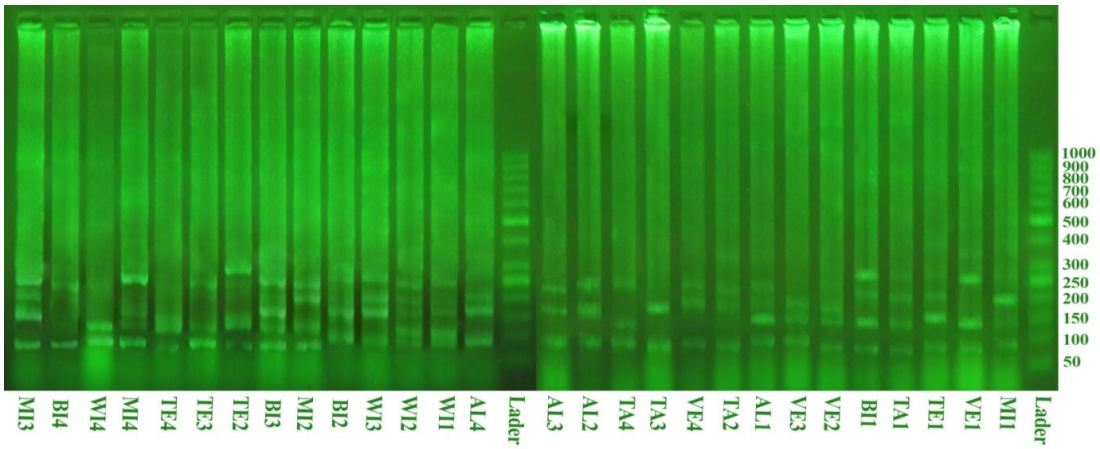


[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

بیشترین تعداد الل تکثیر شده مربوط به جمعیت‌های $TE_4$، $WI_2$، AL1 و $BI_1$ با تعداد ٤٢ الل و کمترین تعداد آن مربوط به جمعیت $MI_2$ با ٣٠ الل بود. شکل (٢) الگوی باندی جمعیت‌های مورد بررسی برای لوکوس AmK435 را نشان می‌دهد.

سه جفت آغازگر AmK416، AmK230a و AmK59 دارای صد در صد چند شکلی بودند و در دیگر جفت آغازگرها درصد چند شکلی بین ٦٦/٦٧ تا ٨٥/٧١ درصد بود. کمترین درصد چند شکلی به جفت آغازگرهای AmK329 و AmK230b به میزان ٦٦/٦٧ درصد اختصاص داشت و متوسط درصد چند شکلی ٨٢/٥٦ درصد بود. متوسط محتوای اطلاعات چند شکلی برابر ٠/٣٢٤ بود. جفت آغازگرهای AmK416، AmK230a و AmK59 با داشتن PIC بیشتر از ٠/٤ نسبت به دیگر جفت آغازگرها در نشان دادن تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای جمعیت‌های مورد بررسی برتر بودند. از طرف دیگر آغازگرهای AmK416 و AmK230a با داشتن بیشترین میزان شاخص نشانگر[1]، برتری خود را نشان دادند (جدول ٣).

[1] MI




شکل ٢- الگوی باندی جفت آغازگر AmK439 در جمعیت‌های مورد بررسی

جدول ٣- تعداد کل باند، باند چند شکل، درصد چندشکلی و شاخص‌های PIC، MI، RP و EMR در آغازگرهای SSR مورد بررسی برای جمعیت‌های جنس بومادران

| کد آغازگر (نام لوکوس) | تعداد الل تکثیر شده | تعداد الل چند شکل | درصد چند شکلی | PIC | MI | EMR | RP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Amk416 | ٧ | ٧ | ١٠٠ | ٠/٤٣٢ | ٣/٠٣ | ٧/٠٠ | ٧/٥٧ |
| Amk142 | ٧ | ٦ | ٨٥/٧١ | ٠/٣٧٢ | ١/٩٢ | ٥/١٤ | ٧/٤٣ |
| Amk344 | ٦ | ٥ | ٨٣/٣٣ | ٠/٢٩٠ | ١/٢١ | ٤/١٧ | ٧/٦٤ |
| AmK230a | ٥ | ٥ | ١٠٠ | ٠/٤٠٣ | ٢/٠٢ | ٥/٠٠ | ٧/٠٠ |
| AmK435 | ٤ | ٣ | ٧٥ | ٠/٢٣٤ | ٠/٥٣ | ٢/٢٥ | ٥/٦٤ |
| Amk439 | ٥ | ٤ | ٨٠ | ٠/٣٣٤ | ١/٠٧ | ٣/٢٠ | ٦/٩٦ |
| Amk206 | ٦ | ٥ | ٨٣/٣٣ | ٠/٣٥٧ | ١/٤٩ | ٤/١٧ | ٧/٩٣ |
| AmK54 | ٤ | ٣ | ٧٥ | ٠/٢١١ | ٠/٤٧ | ٢/٢٥ | ٦/٧٩ |
| AmK329 | ٣ | ٢ | ٦٦/٦٧ | ٠/١٥٩ | ٠/٢١ | ١/٣٣ | ٥/٣٦ |
| AmK230b | ٣ | ٢ | ٦٦/٦٧ | ٠/٢٤٧ | ٠/٣٣ | ١/٣٣ | ٤/٦٤ |
| AmK59 | ٢ | ٢ | ١٠٠ | ٠/٤٩٧ | ٠/٩٩ | ٢/٠٠ | ٢/٠٠ |
| AmK244 | ٤ | ٣ | ٧٥ | ٠/٣٥١ | ٠/٧٩ | ٢/٢٥ | ٥/٧١ |
| میانگین | ٤/٦٧ | ٣/٩٢ | ٨٢/٥٦ | ٠/٣٢٤ | ١/١٧ | ٣/٣٤ | ٦/٢٢ |

محتوای اطلاعات چندشکلی(PIC)؛ شاخص نشانگر(MI)؛ نسبت چندگانه مؤثر(EMR)؛ قدرت تفکیک (RP)



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

جدول ٤- تجزیه واریانس ملکولی برای جمعیت‌های جنس بومادران با استفاده از نشانگرهای SSR

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | واریانس اجزا | درصد واریانس کل | Φ |
|---|---|---|---|---|---|
| بین گونه‌ها | ٦ | ٢١/٠٥ | ٣/٦٣ | ٪٣٦ | **٠/٣٥٧ |
| درون گونه‌ها | ٢١ | ٦/٥٤ | ٦/٥٤ | ٪٦٤ | |
| کل | ٢٧ | - | ١٠/١٦ | ٪١٠٠ | |

** معنی‌دار در سطح ١٪

برای شاخص EMR نیز، جفت آغازگرهای AmK416، AmK142 و AmK230a دارای بیشترین میزان بودند. بیشترین مقدار شاخص قدرت تفکیک[1] نیز به جفت آغازگرهای AmK416، AmK142، AmK344، AmK206 و AmK230a اختصاص داشت که در مجموع می‌توان جفت آغازگرهای AmK416 و AmK230a را به‌عنوان آغازگرهای برتر در شناسایی تنوع ژنتیکی در بین جمعیت‌های مورد بررسی معرفی نمود. هر چند دیگر جفت آغازگرها نیز سطح مناسبی از چند شکلی را نشان دادند. با توجه به اینکه از کاربردهای تجزیه واریانس ملکولی تعیین تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌باشد، از این رو به‌منظور تعیین تفاوت ژنتیکی بین هفت گونه‌ی مورد بررسی تجزیه واریانس ملکولی انجام شد و بر اساس آماره PhiPT در بین گونه‌ها اختلاف معنی‌دار در سطح ١ درصد وجود داشت و ٦٤ درصد از واریانس کل به واریانس بین جمعیت‌های درون گونه‌ها و ٣٦ درصد آن به واریانس بین گونه‌ای اختصاص یافت (جدول ٤). ماتریس تشابه بر مبنای ضریب دایس برای الگوی باندی نشانگر SSR در گونه‌ها محاسبه شد (جدول ٥). متوسط ضریب تشابه کل بین گونه‌ها ٠/٧٦٠ بود. بیشترین تشابه بین گونه‌های *Ac.millefolium* و *Ac.tenuifolia* با متوسط ضریب تشابه ٠/٨٣٦ بود و در مرتبه دوم بین دو گونه‌ی *Ac. Alppica* و *Ac. talagonica* با متوسط ضریب تشابه ٠/٨١٦ بود. کمترین تشابه نیز بین گونه‌های *Ac.biebersteinii* و *Ac.vermicularis* با متوسط ضریب تشابه ٠/٦٥١ بود و در مرتبه دوم گونه‌های *Ac. talagonica* و *Ac. willhelmsii* با متوسط ضریب تشابه ٠/٦٩٦ دارای کمترین تشابه بودند (جدول ٥).

ماتریس تشابه بر مبنای ضریب تشابه جاکارد برای الگوی باندی نشانگر SSR در بین جمعیت‌های مورد بررسی نشان داد (جدول ٦) که متوسط تشابه بین جمعیت‌ها ٠/٥٨٨ می‌باشد. سه جمعیت WI1، WI2 و WI3 دارای بیشترین شباهت با همدیگر بودند، طوری‌که ضریب تشابه بین آن‌ها به ترتیب برابر با ٠/٨٨٦، ٠/٨٦٤ و ٠/٨٤١ بود، همچنین جمعیت AL2 با جمعیت‌های AL3 و AL4 (با متوسط ضریب تشابه ٠/٨٤٢ و ٠/٨١٠) و جمعیت BI1 با BI3 ( با متوسط ضریب تشابه ٠/٨٠٤) دارای شباهت بالایی با همدیگر بودند. در مقابل جمعیت MI2 به‌ترتیب با ٠/٣٨٨ و ٠/٤١٩ کمترین میزان تشابه را با جمعیت‌هایVE1 و VE3 نشان داد.

[1] RP

جدول ٥- ماتریس تشابه بین گونه‌ها بر اساس ضریب تشابه دایس برای نشانگر SSR

| گونه | *Ac. Alppica* | *Ac.biebersteinii* | *Ac.millefolium* | *Ac. talagonica* | *Ac.tenuifolia* | *Ac.vermicularis* |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *Ac.biebersteinii* | ٠/٧٤٨ | | | | | |
| *Ac.millefolium* | ٠/٧٩٨ | ٠/٧٦٥ | | | | |
| *Ac. talagonica* | ٠/٨١٦ | ٠/٧٥١ | ٠/٧٢٥ | | | |
| *Ac.tenuifolia* | ٠/٧٦٨ | ٠/٧٥٢ | ٠/٨٦٣ | ٠/٧٥٣ | | |
| *Ac.vermicularis* | ٠/٧٦٠ | ٠/٦٥١ | ٠/٧٧٩ | ٠/٧٩٨ | ٠/٧٩١ | |
| *Ac.willhelmsii* | ٠/٧٥٤ | ٠/٧٠٢ | ٠/٧٧٨ | ٠/٦٩٦ | ٠/٧٧٤ | ٠/٧٦٦ |



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

جدول ٦- ماتریس تشابه بین جمعیت‌ها بر اساس ضریب تشابه جاکارد برای نشانگرهای SSR مورد بررسی

| جمعیت | AL1 | AL2 | AL3 | AL4 | BI1 | BI2 | BI3 | BI4 | MI1 | MI2 | MI3 | MI4 | TA1 | TA2 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AL2 | ۰/۵۷۱ | | | | | | | | | | | | | |
| AL3 | ۰/۵٤۰ | **۰/۸٤۲** | | | | | | | | | | | | |
| AL4 | ۰/٦۹٤ | ۰/۸۱۰ | ۰/۷٦۷ | | | | | | | | | | | |
| BI1 | ۰/٦٤۷ | ۰/٦۰٤ | ۰/٦۰٤ | ۰/٦٦۰ | | | | | | | | | | |
| BI2 | ۰/۵۷۷ | ۰/۵٦۳ | ۰/۵٦۳ | ۰/٦۵۳ | ۰/۷۸۳ | | | | | | | | | |
| BI3 | ۰/٦۹٤ | ۰/۵۲۰ | ۰/۵۲۰ | ۰/٦۰۸ | ۰/۸۰٤ | ۰/۷٦۱ | | | | | | | | |
| BI4 | ۰/٦۱۲ | ۰/٦۰۰ | ۰/۵٦۵ | ۰/٦۲۵ | ۰/۷۹۵ | ۰/٦۷٤ | ۰/۷۷۳ | | | | | | | |
| MI1 | ۰/۵۸۳ | ۰/۵۳۳ | ۰/۵۳۳ | ۰/٦۳۰ | ۰/۵۸۳ | ۰/۵٤۲ | ۰/۵۳۱ | ۰/۵۷۸ | | | | | | |
| MI2 | ۰/۵۰۰ | ۰/٤۷۷ | ۰/٤۷۷ | ۰/۵٤۳ | ۰/۵۳۲ | ۰/٤۸۹ | ۰/۵٤۳ | ۰/٤۸۹ | ۰/۵٦۱ | | | | | |
| MI3 | ۰/۵۸۳ | ۰/۵۳۳ | ۰/۵٦۸ | ۰/۵٦۳ | ۰/۵۸۳ | ۰/۵۷٤ | ۰/۵٦۳ | ۰/۵۷۸ | ۰/٦۱۹ | ۰/٤۸۸ | | | | |
| MI4 | ۰/۵٤۹ | ۰/۵۳۲ | ۰/۵۳۲ | ۰/٦۲۵ | ۰/٦۸۱ | ۰/٦۳۸ | ۰/۵۹۲ | ۰/٦٤٤ | ۰/۷۷۵ | ۰/٦۳٤ | ۰/٦۱٤ | | | |
| TA1 | ۰/٦٦۰ | ۰/۵۷۸ | ۰/۵۷۸ | ۰/٦۰٤ | ۰/٦٦۰ | ۰/٦۱۷ | ۰/٦۰٤ | ۰/۵۸۷ | ۰/٤۸۹ | ۰/۵۰۰ | ۰/۵۵٦ | ۰/۵۵۳ | | |
| TA2 | ۰/۵۳۷ | ۰/٦۱۷ | ۰/٦۱۷ | ۰/٦٤۰ | ۰/٦۲۷ | ۰/۵۸۸ | ۰/٦۰۸ | ۰/۵۹۲ | ۰/۵٦۳ | ۰/٤۷۹ | ۰/۵۰۰ | ۰/۵٦۰ | ۰/٦۰٤ | |
| TA3 | ۰/۵۰۰ | ۰/۵۸۱ | ۰/٦۱۹ | ۰/۵۷٤ | ۰/۵۰۰ | ۰/٤۹۰ | ۰/٤۸۰ | ۰/٤۸۹ | ۰/۵۲۳ | ۰/٤۳۲ | ۰/۵۲۳ | ۰/۵۲۲ | ۰/۵٦۸ | ۰/٦۸۲ |
| TA4 | ۰/٦۲۰ | ۰/٦۸۲ | ۰/۷۲۱ | ۰/۷۰۲ | ۰/۵۸۸ | ۰/۵۸۰ | ۰/۵٦۹ | ۰/۵۲۰ | ۰/۵۲۱ | ۰/٤٦۸ | ۰/۵۵۳ | ۰/٤۹۰ | ۰/٦۳ | ۰/۷۷۸ |
| TE1 | ۰/۵۹٦ | ۰/٤۷۸ | ۰/۵۱۱ | ۰/۵٤۲ | ۰/٦۳۰ | ۰/۵۲۱ | ۰/٦۰۹ | ۰/۵۲۲ | ۰/۵۲۳ | ۰/۵۳۷ | ۰/۵۹۵ | ۰/۵۹۱ | ۰/۵٦۸ | ۰/۵٤۲ |
| TE2 | ۰/٦۵۲ | ۰/٤٦۸ | ۰/٤٦۸ | ۰/۵۳۱ | ۰/٦۵۲ | ۰/۵٤۲ | ۰/۵۹٦ | ۰/۵۱۱ | ۰/۵۸۱ | ۰/۵٦۱ | ۰/۵۸۱ | ۰/٦۵۱ | ۰/۵۵٦ | ۰/۵۳۱ |
| TE3 | ۰/۷۱۱ | ۰/۵۵٦ | ۰/۵۹۱ | ۰/٦۵۲ | ۰/٦۷٤ | ۰/۵۹٦ | ۰/٦۱۷ | ۰/۵۳۲ | ۰/۵٦۸ | ۰/۵٤۸ | ۰/٦۰۵ | ۰/۵٦۵ | ۰/۵۷۸ | ۰/۵۲۰ |
| TE4 | ۰/۷۵۰ | ۰/۵۱۰ | ۰/۵٤۰ | ۰/۵٦٦ | ۰/٦۱۵ | ۰/۵۷۷ | ۰/٦٦۰ | ۰/٦۱۲ | ۰/۵۸۳ | ۰/٤٤۰ | ۰/٦۸۹ | ۰/۵۸۰ | ۰/۵۹۲ | ۰/۵٦٦ |
| VE1 | ۰/٦۳۳ | ۰/۵۲۱ | ۰/۵۲۱ | ۰/۵٤۹ | ۰/۵٦۹ | ۰/۵۲۹ | ۰/۵٤۹ | ۰/۵۳۱ | ۰/۵۳۲ | **۰/۳۸۸** | ۰/٦۰۰ | ۰/۵٦۳ | ۰/٦٤٤ | ۰/۵۸۰ |
| VE2 | ۰/۵۱۰ | ۰/٦۲۸ | ۰/۵۹۱ | ۰/٦۵۲ | ۰/٦۳۸ | ۰/۵٦۳ | ۰/٦۱۷ | ۰/٦۰۰ | ۰/۵۳۳ | ۰/۵۸۵ | ۰/٦۰۵ | ۰/٦۷٤ | ۰/٤۷۹ | ۰/٦۱۷ |
| VE3 | ۰/٤٦۰ | ۰/۵۷۱ | ۰/۵۳۵ | ۰/۵۳۲ | ۰/۵۲۱ | ۰/٤۷۹ | ۰/۵۰۰ | ۰/٤۷۸ | ۰/٤٤٤ | **۰/٤۱۹** | ۰/۵۱۲ | ۰/۵۱۱ | ۰/٤۵۷ | ۰/۵٦۵ |
| VE4 | ۰/٤۷۱ | ۰/۵۸۱ | ۰/۵٤۵ | ۰/٦۰۹ | ۰/۵۰۰ | ۰/٤٦۰ | ۰/۵۱۰ | ۰/٤۵۸ | ۰/۵۲۳ | ۰/۵۰۰ | ۰/۵۲۳ | ۰/۵۵٦ | ۰/۵۳۳ | ۰/٦٤٤ |
| WI1 | ۰/٦۲۷ | ۰/۵۵۱ | ۰/۵۸۳ | ۰/٦۷۳ | ۰/٦۲۷ | ۰/٦۲۰ | ۰/٦۰۸ | ۰/۵۹۲ | ۰/۵۹٦ | ۰/۵۱۱ | ۰/۷۰۵ | ۰/٦۲۵ | ۰/۵۷۱ | ۰/۵٤۷ |
| WI2 | ۰/٦٤۷ | ۰/٦۰٤ | ۰/٦۰٤ | ۰/۷۲۹ | ۰/٦۱۵ | ۰/٦۰۸ | ۰/۵۹٦ | ۰/٦۱۲ | ۰/٦۵۲ | ۰/۵٦۵ | ۰/٦۸۹ | ۰/٦۱۲ | ۰/۵٦۰ | ۰/۵۹٦ |
| WI3 | ۰/٦٤۰ | ۰/۵٦۳ | ۰/۵٦۳ | ۰/٦۵۳ | ۰/٦٤۰ | ۰/٦۰۰ | ۰/۵۸۸ | ۰/۵۷۱ | ۰/۵٤۲ | ۰/٤۵۸ | ۰/٦٤٤ | ۰/۵۷۱ | ۰/۵۵۱ | ۰/۵۲۸ |
| WI4 | ۰/٦۲۷ | ۰/۵۵۱ | ۰/۵۵۱ | ۰/٦۷۳ | ۰/٦۲۷ | ۰/۵۸۸ | ۰/۵۷۷ | ۰/۵۲۹ | ۰/۵۳۱ | ۰/۵۷۸ | ۰/۵۹٦ | ۰/۵۲۹ | ۰/٦۰٤ | ۰/٦۰۸ |

| جمعیت | TA3 | TA4 | TE1 | TE2 | TE3 | TE4 | VE1 | VE2 | VE3 | VE4 | WI1 | WI2 | WI3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| TA4 | ۰/۷۵٦ | | | | | | | | | | | | |
| TE1 | ۰/۵۰۰ | ۰/۵٦۵ | | | | | | | | | | | |
| TE2 | ۰/۵۵۸ | ۰/۵۲۱ | ۰/۷٦۳ | | | | | | | | | | |
| TE3 | ۰/۵۱۱ | ۰/٦۰۹ | ۰/۷۸۹ | ۰/۷٦۹ | | | | | | | | | |
| TE4 | ۰/۵۰۰ | ۰/۵۸۸ | ۰/٦٦۷ | ۰/٦۱۷ | ۰/٦۰٤ | | | | | | | | |
| VE1 | ۰/٦۱٤ | ۰/۵۷۱ | ۰/٦۱٤ | ۰/٦۰۰ | ۰/۵۵۳ | ۰/۷۳۹ | | | | | | | |
| VE2 | ۰/۵٤۵ | ۰/۵۷٤ | ۰/٦۱۹ | ۰/۵٦۸ | ۰/۵۵٦ | ۰/٦۰٤ | ۰/۵۸۷ | | | | | | |
| VE3 | ۰/۵۲٤ | ۰/۵۵٦ | ۰/۵٦۱ | ۰/۵۱۲ | ۰/٤٦۷ | ۰/٦۲۲ | ۰/٦۸۳ | ۰/۷۸٤ | | | | | |
| VE4 | ۰/۵۳۵ | ۰/٦۰۰ | ۰/۵۷۱ | ۰/٤۸۹ | ۰/۵۱۱ | ۰/۵٦۳ | ۰/٦۵۱ | ۰/۷٤٤ | ۰/۷۷۸ | | | | |
| WI1 | ۰/۵٤۲ | ۰/۵٦۹ | ۰/٦۰۹ | ۰/۵۹٦ | ۰/٦۱۷ | ۰/٦۹٤ | ۰/٦٤٦ | ۰/٦۸۹ | ۰/۵٦۵ | ۰/٦۰۹ | | | |
| WI2 | ۰/۵٦۳ | ۰/٦۲۰ | ۰/۵۹٦ | ۰/۵۸۳ | ۰/٦۳۸ | ۰/٦۸۰ | ۰/٦۰۰ | ۰/٦۷٤ | ۰/۵۵۳ | ۰/۵۹٦ | ۰/۸۸٦ | | |
| WI3 | ۰/۵۵۳ | ۰/۵۸۰ | ۰/۵۸۷ | ۰/٦۰۹ | ۰/٦۳۰ | ۰/٦٤۰ | ۰/۵۹۲ | ۰/٦۳۰ | ۰/۵۱۱ | ۰/۵۲۱ | ۰/۸٤۱ | ۰/۸٦٤ | |
| WI4 | ۰/٤۲۳ | ۰/۵٦۹ | ۰/۵۷٤ | ۰/۵۰۰ | ۰/۵۸۳ | ۰/٦۲۷ | ۰/۵۸۰ | ۰/٦۱۷ | ۰/۵۳۲ | ۰/٦٤٤ | ۰/۷۰۸ | ۰/۷۲۹ | ۰/٦۵۳ |

به‌منظور تعیین بهترین شاخص فاصله و روش محاسبه‌ی ماتریس فاصله برای ترسیم بهتر نمودار خوشه‌ای ضریب کوفنتیک شاخص‌های دایس، جاکارد، اوشیایی و سوکال در برابر روش‌های اتصال میانگین[1] و اتصال مجاور[2] محاسبه شد و بیشترین مقدار به ضریب فاصله‌ی جاکارد با استفاده از روش UPGMA اختصاص یافت، لذا برای ترسیم نمودار از ضریب فاصله جاکارد و روش UPGMA استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای توانست جمعیت‌های گونه‌های جنس بومادران تا حد بالایی از همدیگر تفکیک نماید، که در این میان تفکیک جمعیت‌ها از سایر گونه‌ها برای دو گونه‌ی *Ac.biebersteinii* و *Ac.willhelmsii* به‌طور کامل انجام شد، همچنین مشاهده شد که جمعیت MI3 از گونه‌ی *Ac.millefolium* از گروه خود جدا شده و فاصله‌ی نزدیکی با جمعیت‌های گونه‌ی

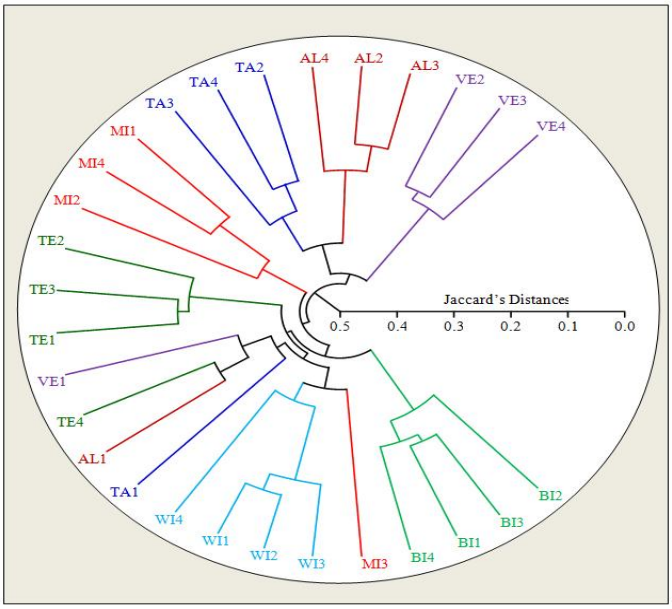
[1] UPGMA
[2] NJ



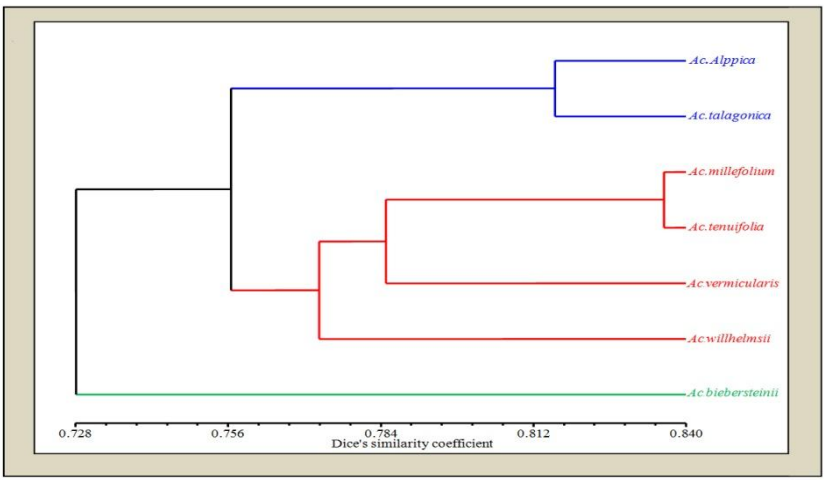
[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

*Ac.willhelmsii* داشت. برای جمعیت گونه‌های *Ac.vermicularis*، *Ac. Alppica*، *Ac. talagonica*، Ac. *millefolium* و *Ac. tenuifolia* تفکیک جمعیت‌ها کامل نبود و از هر گونه سه جمعیت تفکیک یافت. جمعیت‌های TA1، AL1، TE4 و VE1 با فاصله‌ی نزدیکی در یک گروه قرار گرفتند. در هرحال مشاهده شد که ۵ جمعیت از ۲۸ جمعیت مورد بررسی در گروه متعلق به گونه‌های خود قرار نگرفتند و در مجموع ۸۲/۱٤ درصد از جمعیت‌های مورد بررسی بر اساس نشانگر SSR تفکیک شدند و تنها ۱۷/۸٦ درصد از جمعیت‌ها تفکیک نشدند (شکل ۳).

تجزیه خوشه‌ای گونه‌ها با روش UPGMA بر اساس داده‌های مولکولی حاصل از نشانگر SSR و ضریب فاصله دایس گونه‌های مورد مطالعه را در سه گروه مجزا قرار داد، طوری‌که گونه‌ی *Ac.biebersteinii* بیشترین فاصله را با دیگر گونه‌های این جنس داشت. همچنین دو گونه‌ی *Ac. Alppica* و *Ac. Talagonica* در یک گروه و چهار گونه‌ی دیگر نیز در یک گروه قرار گرفتند که از میان این چهار گونه دو گونه‌ی *Ac. millefolium* و *Ac. tenuifolia* کمترین فاصله را از همدیگر داشتند.




شکل ۳- نمودار تجزیه خوشه‌ای بر اساس نشانگر SSR در جمعیت‌ها با استفاده از ضریب جاکارد و به روش UPGMA




شکل ٤- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای گونه‌ها بر اساس نشانگر SSR با ضریب فاصله دایس و به روش UPGMA



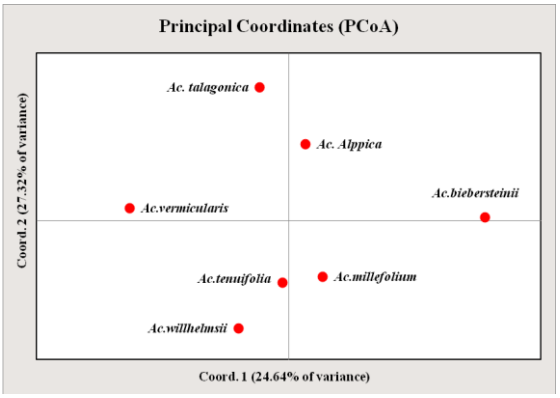
[ Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20 ]

نتایج تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که سه محور نخست مختصات در مجموع ۷۰/۰۸ درصد از واریانس موجود در ساختار داده‌ها را توجیه می‌نمایند (جدول ۷). نمودار دو بعدی مختصات بر اساس دو مؤلفه‌ی اول و دوم ترسیم شد (شکل ۵).

جدول ۷- نتایج حاصل از تجزیه به مختصات اصلی برای گونه‌های مورد بررسی جنس بومادران براساس نشانگر SSR

| گونه | محور ۱ | محور ۲ | محور ۳ |
|---|---|---|---|
| *Ac. Alppica* | ۰/۰۹۹ | ۰/۵۵۱ | ۰/۵۴۳ |
| *Ac.biebersteinii* | ۱/۱٦٤ | ۰/۰۲۳ | -۰/۱٦۱ |
| *Ac.millefolium* | ۰/۱۹۹ | -۰/٤۰۱ | -۰/۲۲۲ |
| *Ac. talagonica* | -۰/۱۷۵ | ۰/۹۵۸ | ۰/۰۳۸ |
| *Ac.tenuifolia* | -۰/۰۳۷ | -۰/٤٤٤ | -۰/۵۹۵ |
| *Ac.vermicularis* | -۰/۹٤۹ | ۰/۰۸۹ | -۰/٤۳۵ |
| *Ac.willhelmsii* | -۰/۳۰۱ | -۰/۷۷٦ | ۰/۸۳۳ |
| درصد از واریانس | ۲۷/۳۲ | ۲٤/٦٤ | ۱۸/۱۱ |
| واریانس تجمعی | ۲۷/۳۲ | ۵۱/۹٦ | ۷۰/۰۸ |

با توجه به نمودار، مشاهده شد که گونه‌های جنس بومادران در چهار منطقه‌ی نمودار قرار گرفتند. گونه‌های *Ac.Alppica* و *Ac.biebersteinii* در یک منطقه و گونه‌های *Ac.Talagonica* و *Ac.vermicularis* در یک منطقه و گونه‌های *Ac.tenuifolia* و *Ac.willhelmsii* در منطقه‌ای دیگر از نمودار قرار گرفتند، همچنین گونه‌ی *Ac.millefolium* به تنهایی در یک منطقه‌ی جداگانه از نمودار قرار گرفت. در مجموع نتایج تجزیه به مختصات اصلی نتایج تجزیه کلاستر و ماتریس تشابه را تا حدود زیادی تأیید نمود (شکل ۵).




شکل ۵- نمودار پراکنش حاصل از تجزیه به مختصات گونه‌های مورد بررسی در جنس بومادران بر اساس الگوی باندی نشانگر SSR

همچنین براساس داده‌های مولکولی تجزیه به مختصات اصلی برای ۲۸ جمعیت جنس بومادران به‌منظور ارزیابی روابط بین جمعیت‌ها انجام شد. سه محور نخست مختصات در مجموع ۳٤/۹۱ درصد از واریانس موجود در ساختار داده‌ها را توضیح دادند. نمودار دو بعدی بر اساس مختصات اول و دوم نیز ترسیم شد ( شکل ٦).

نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که جمعیت‌های متعلق به گونه‌های *Ac.vermicularis*، *Ac.biebersteinii*، *Ac.tenuifolia* و *Ac.willhelmsii* هرکدام به‌طور جداگانه‌ای در نزدیک همدیگر و با فاصله‌ی کمی از هم قرار دارند (شکل ٦). مشاهده شد که یک جمعیت از هرکدام از سه گونه‌ی *Ac.Alppica*، *Ac.talagonica* و *Ac.millefolium* فاصله‌ی بیشتری با دیگر جمعیت‌های آن گونه داشت (TA1، AL1 و MI3)، لذا به‌طور کامل تفکیک نشدند. در هرحال سه جمعیت از گونه‌ی *Ac.Alppica* و سه جمعیت از گونه‌ی *Ac.Talagonica* در یک منطقه‌ی نمودار قرار داشتند. جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.vermicularis* به تنهایی در یک منطقه‌ی نمودار قرار گرفتند. جمعیت‌های گونه‌های *Ac.willhelmsii* و *Ac.tenuifolia* به‌همراه جمعیت MI3 در یک منطقه‌ی نمودار و در نهایت جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.Alppica* به‌همراه سه جمعیت گونه‌ی *Ac.millefolium* و جمعیت‌های TA1 و AL1 در یک منطقه‌ی نمودار جایی گرفتند و کمترین فاصله را با توجه به تجزیه به مختصات اصلی نشان دادند (شکل ٦).

شاخص‌های ژنتیکی برای گونه‌های مورد بررسی در جدول ۹ ارائه شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود بیشترین درصد چند شکلی در مکان‌های اللی مربوط به جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.millefolium* (۵۱/۷۹) و کمترین درصد چند شکلی متعلق به جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.biebersteinii* (۳۳/۹۳) و گونه *Ac.willhelmsii* (۳۳/۹۳) بود. متوسط درصد چند شکلی برابر ٤۲/۰۹ با خطای استاندارد ۰/۹۷ درصد بود. بیشترین میزان اختلاف آللی[1] به جمعیت گونه‌ی *Ac.Talagonica* (۱/۳۸) اختصاص داشت و کمترین اختلاف آللی در بین جمعیت‌های

[1] Na



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

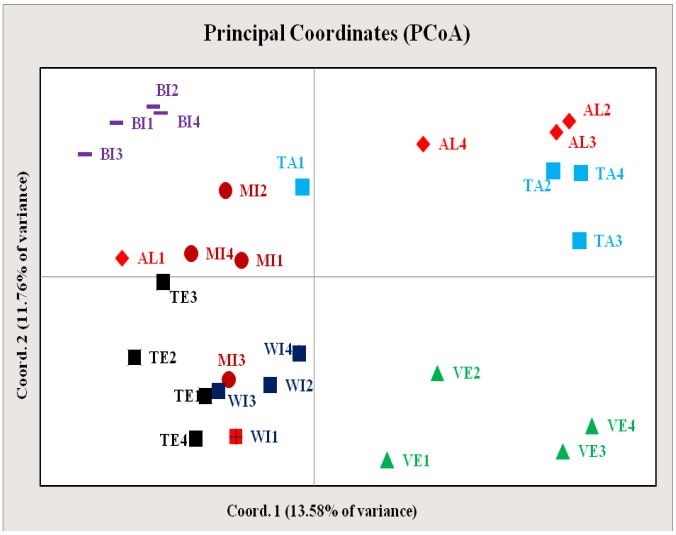
گونه‌های *Ac.willhelmsii* (۱/۲۱)، *Ac.biebersteinii* (۱/۲۰) مشاهده شد. برای شاخص تعداد آلل‌های مؤثر[1] یا به عبارتی تعداد آلل‌های مؤثر در چند شکلی بیشترین میزان (۱/۳۸) در جمعیت گونه‌ی *Ac.millefolium* و کمترین میزان (۱/۲۲) در بین جمعیت‌های گونه‌های *Ac.vermicularis* مشاهده شد. جمعیت گونه‌ی *Ac.millefolium* بیشترین میزان (۰/۳۱) و جمعیت گونه‌ی *Ac.vermicularis* کمترین مقدار شاخص شانون به میزان (۰/۲۰) را به خود اختصاص دادند.

در رابطه با شاخص هتروزنی مورد انتظار[2]، مشاهده شد که جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.millefolium* دارای بیشترین میزان (۰/۲۱) و جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.vermicularis* دارای کمترین میزان (۰/۱۳) هتروزنی مورد انتظار بودند. همچنین جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.millefolium* و جمعیت‌های گونه‌ی *Ac.vermicularis* به‌ترتیب بیشترین (۰/۲۴) و کمترین (۰/۱۵) مقدار شاخص هتروزنی مورد انتظار بدون اریب[3] را دارا بودند.

[1] Ne

[2] He

[3] UHe




شکل ٦- نمودار پراکنش حاصل از تجزیه به مختصات جمعیت‌های مورد بررسی در جنس بومادران بر اساس الگوی باندی نشانگر SSR

جدول ۹- شاخص‌های ژنتیکی محاسبه شده برای گونه‌های مورد بررسی جنس بومادران بر اساس نشانگر SSR

| گونه | میانگین شاخص‌ها و انحراف استاندارد | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | %P | Na + Se | Ne + Se | I + Se | He + Se | UHe + Se |
| *Ac. Alppica* | ٤٤/٦٤ | ۱/۳٦ ± ۰/۰۹ | ۱/۲۹ ± ۰/۰۵ | ۰/۲۵ ± ۰/۰٤ | ۰/۱۷ ± ۰/۰۳ | ۰/۱۹ ± ۰/۰۳ |
| *Ac.biebersteinii* | ۳۳/۹۳ | ۱/۲۰ ± ۰/۰۹ | ۱/۲۷ ± ۰/۰۵ | ۰/۲۱ ± ۰/۰٤ | ۰/۱٤ ± ۰/۰۳ | ۰/۱۷ ± ۰/۰۳ |
| *Ac.millefolium* | ۵۱/۷۹ | ۱/۳٦ ± ۰/۱۰ | ۱/۳۸ ± ۰/۰٦ | ۰/۳۱ ± ۰/۰٤ | ۰/۲۱ ± ۰/۰۳ | ۰/۲٤ ± ۰/۰۳ |
| *Ac. talagonica* | ٤۳/۵٦ | ۱/۳۸ ± ۰/۰۹ | ۱/۲۹ ± ۰/۰۵ | ۰/۲٦ ± ۰/۰٤ | ۰/۱۷ ± ۰/۰۳ | ۰/۲۰ ± ۰/۰۳ |
| *Ac.tenuifolia* | ٤۲/۸٦ | ۱/۳۲ ± ۰/۰۹ | ۱/۲٤ ± ۰/۰٤ | ۰/۲۲ ± ۰/۰٤ | ۰/۱٤ ± ۰/۰۲ | ۰/۱٦ ± ۰/۰۳ |
| *Ac.vermicularis* | ٤۱/۰۷ | ۱/۲۷ ± ۰/۰۹ | ۱/۲۲ ± ۰/۰٤ | ۰/۲۰ ± ۰/۰۳ | ۰/۱۳ ± ۰/۰۲ | ۰/۱۵ ± ۰/۰۳ |
| *Ac.willhelmsii* | ۳۳/۹۳ | ۱/۲۱ ± ۰/۰۹ | ۱/۲٦ ± ۰/۰۵ | ۰/۲۱ ± ۰/۰٤ | ۰/۱٤ ± ۰/۰۳ | ۰/۱٦ ± ۰/۰۳ |
| کل | ٤۲/۰۹ | ۱/۳۰ ± ۰/۰۳ | ۱/۲۸ ± ۰/۰۲ | ۰/۲٤ ± ۰/۰۱ | ۰/۱٦ ± ۰/۰۱ | ۰/۱۸ ± ۰/۰۱ |

%P= درصد چندشکلی؛ Na= اختلاف آللی؛ Ne= تعداد آلل‌های موثر؛ I= شاخص شانون؛ He= هتروزنی مورد انتظار؛ UHe= هتروزنی مورد انتظار تصحیح شده؛ Se=خطای استاندارد



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

## بحث

در تحقیق حاضر میانگین تعداد الل تکثیر شده و تعداد الل چند شکل در هر لوکوس به‌ترتیب ٤/٦٧ و ٣/٩٢ بود. Rahimmalek et al. (2011) به‌طور متوسط ٨/٥ باند به ازای هر آغازگر SSR تولید کردند که تولید باندها برای آغازگرهای مورد استفاده در دامنه‌ی بین ٢ تا ١٤ باند بود. به‌طور کلی، آغازگرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر تکثیر خوبی داشتند و می‌توان از آن‌ها در تجزیه تنوع ژنتیکی در بومادران استفاده کرد. میانگین درصد چندشکلی ژنوتیپ‌های بومادران، شناسایی شده توسط آغازگرهای مورد استفاده SSR در تحقیق حاضر ٨٣ درصد بود که با یافته‌های گزارش‌های قبلی مطابقت و همخوانی داشت (Meyer et al. 2017). از این رو، نتیجه‌گیری می‌شود که آغازگرهای مورد استفاده دارای قدرت خوبی در تمایز ژنوتیپ‌های مورد بررسی هستند. نتایج نشان داد که آغازگرهای SSR مورد استفاده در مطالعه حاضر درصد پلی‌مورفیسم خوبی دارند که امکان استفاده از آن‌ها را برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و مطالعه ساختار ژنتیکی جمعیت فراهم می‌نماید. میانگین مقدار PIC برای ١٢ آغازگر SSR برابر ٠/٣٢٤ بود. آغازگرهای AmK416، AmK230a و AmK59 با داشتن PIC بیشتر از ٠/٤ نسبت به دیگر آغازگرها در نشان دادن تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای جمعیت‌های مورد بررسی برتر بودند. از طرف دیگر آغازگرهای AmK416 و AmK230a با داشتن بیشترین میزان شاخص نشانگر (MI)، برتری خود را نشان دادند که نشان‌دهنده انتخاب مناسب آغازگرها در مطالعه حاضر برای ارزیابی تنوع ژنتیکی است. بسیاری از مطالعات قبلی فاقد محاسبه PIC در تجزیه تنوع ژنتیکی بومادران توسط مارکرهای مولکولی SSR، ISSR و RAPD بودند. با این حال، Rahimmalek et al. (2011) مقدار متوسط محتوای اطلاعات چند شکلی جمعیت‌های بومادران با استفاده از آغازگرهای SSR را (PIC= 0.33)، Gharibi et al. (2011) و Rahimmalek (2012) با استفاده از آغازگرهای ISSR میانگین محتوی اطلاعات چند شکلی جمعیت‌های بومادران را به‌ترتیب برابر با ٠/٣١٦ و ٠/٣٠٦ گزارش نمودند. از آن‌جایی که آغازگرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر دارای مقادیر PIC نسبتاً بالایی هستند، استفاده از آن‌ها در تجزیه تنوع ژنتیکی بومادران امیدوار کننده می‌باشد. بر اساس تجزیه واریانس مولکولی، ٦٤ درصد واریانس موجود به واریانس بین جمعیت‌های درون گونه‌ها و ٣٦ درصد به واریانس بین گونه‌ای اختصاص یافت. Rahimmalek (2012) با انجام تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از داده‌های حاصل از نشانگر ISSR واریانس بین و درون جمعیت‌های بومادران را به‌ترتیب ٦٨ و ٣٢ درصد گزارش نمودند. Gharibi et al. (2011) با تجزیه واریانس مولکولی نشان دادند که تفاوت میان گروه‌ها ٣٢/٥٥٪ از واریانس کل را به خود اختصاص داد، در حالی‌که تفاوت میان و درون جمعیت‌ها به‌ترتیب ٤٠/٩٤ و ٢٦/٥١ ٪ از واریانس کل را توجیه نمودند. ماتریس تشابه بر مبنای ضریب دایس نشان داد گونه‌های *Ac.millefolium* و *Ac.tenuifolia* با متوسط ضریب تشابه ٠/٨٣٦ و گونه‌های *Ac.biebersteinii* و *Ac.vermicularis* با متوسط ضریب تشابه ٠/٦٥١ به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان شباهت ژنتیکی را دارند. Ebrahimi et al. (2012) متوسط ضریب تشابه دو گونه *Achillea tenuifolia* و *Achillea santolina* را در مقایسه با متوسط ضرایب تشابه درون گونه‌ای بسیار کم و برابر با ٠/٣٦ گزارش نمودند. متوسط تشابه بین جمعیت‌های درون گونه‌ای بر مبنای ضریب تشابه جاکارد برابر ٠/٥٨٨ بود. سه جمعیت WI1، WI2 و WI3 دارای بیشترین شباهت با همدیگر بودند، در مقابل جمعیت MI2 به‌ترتیب با ٠/٣٨٨ و ٠/٤١٩ کمترین میزان تشابه را با جمعیت‌های VE1 و VE3 نشان داد. Ebrahimi et al. (2012) متوسط ضریب تشابه میان اکسشن‌های *Achillea tenuifolia* ٠/٦١ تا ٠/٨٦ و میان اکسشن‌های *Achillea santolina* ٠/٤٠ تا ٠/٨٤ بیان نمودند. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضریب فاصله جاکارد و روش UPGMA توانست جمعیت‌های گونه‌های جنس بومادران را تا حد بالایی از همدیگر تفکیک نماید، که در این میان تفکیک جمعیت‌ها از سایر گونه‌ها برای دو گونه‌ی *Ac.biebersteinii* و *Ac.willhelmsii* به‌طور کامل انجام شد، در حالی‌که برای جمعیت گونه‌های *Ac.vermicularis*، *Ac.Alppica*، *Ac.talagonica*، Ac. *millefolium* و *Ac. tenuifolia* تفکیک جمعیت‌ها کامل نبود و در مجموع ٨٢/١٤ درصد از جمعیت‌های مورد بررسی بر اساس آغازگرهای مورد بررسی نشانگر SSR تفکیک شدند. همچنین



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

تجزیه خوشه‌ای گونه‌ها با روش UPGMA بر اساس داده‌های مولکولی حاصل از نشانگر SSR و ضریب فاصله دایس، گونه‌های مورد مطالعه را در سه گروه مجزا قرار داد، طوری‌که گونه‌ی *Ac.biebersteinii* بیشترین فاصله را با دیگر گونه‌های این جنس داشت. همچنین دو گونه‌ی *Ac.Alppica* و *Ac.Talagonica* در یک گروه و چهار گونه‌ی دیگر نیز در یک گروه قرار گرفتند که از میان این چهار گونه دو گونه‌ی *Ac.millefolium* و *Ac.tenuifolia* کمترین فاصله را از همدیگر داشتند. Farajpour et al. (2012) تعداد ۳۷ اکسشن از گونه‌ی *A.millefolum* را با استفاده از ۷ آغازگر ISSR مورد بررسی قرار دادند، بر اساس الگوی باندی به‌دست آمده اکسشن‌ها در ٦ گروه قرار گرفتند و زیر گونه‌ی Elburcensis که بومی شمال ایران بود از دیگر اکسشن‌ها تفکیک شد. Rahimmalek et al. (2011) بر اساس داده‌های مولکولی حاصل از نشانگر SSR و تجزیه کلاستر و تجزیه به مختصات اصلی اکسشن‌های دو گونه‌ی *A.millefoliulm* و *A.tenuifolia* را بر اساس پراکنش جغرافیایی آن‌ها گروه‌بندی کردند، طوری‌که جمعیت‌های دو گونه‌ی *A. Tenuifolia* و *A. millefoliulm* کاملاً از همدیگر تفکیک شدند. از آن‌جایی که گزارش‌های بسیار کمی برای تجزیه تنوع بین و درون گونه‌ای در بومادران با استفاده از نشانگر SSR وجود دارد (Rahimmalek et al. 2011) از این رو، این مطالعه می‌تواند با تجزیه ویژگی‌های مولکولی و تجزیه تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌های بومادران برای کمک به برنامه‌های اصلاحی جهت توسعه ارقام زراعی بومادران در مقیاس بزرگ مؤثر باشد. نتایج تجزیه به مختصات اصلی برای بررسی تنوع بین گونه‌ای نشان داد که سه محور نخست مختصات به‌ترتیب ۲۷/۳۲، ۲٤/٦٤ و ۱۸/۱۱ درصد و مجموعاً ۷۰/۰۸ درصد از کل تنوع ژنتیکی بین گونه‌های مورد بررسی جنس بومادران را توجیه می‌نمایند. لذا سه مؤلفه نخست را می‌توان برای تجزیه PCA استفاده کرد، زیرا بیشتر از ۵۰٪ تغییرات موجود در واریانس را توجیه می‌نمایند. Rajwade et al. (2010) بیان می‌دارند که تجزیه به مختصات اصلی در ترکیب با تجزیه خوشه‌ای ابزار مفیدی برای استخراج حداکثر اطلاعات علمی از داده‌های حاصل از نشانگرهای مولکولی است، با این شرط که دو یا سه مؤلفه نخست بیش از ۲۵ درصد از تغییرات اصلی را توجیه نمایند.

نمودار دو بعدی مختصات بر اساس دو مؤلفه‌ی اول و دوم ترسیم شد. با توجه به نمودار، مشاهده شد که ۷ گونه مورد مطالعه جنس بومادران در تحقیق حاضر در چهار منطقه‌ی نمودار قرار گرفتند. به طوری‌که گونه‌های *Ac.Alppica* و *Ac.biebersteinii* در یک منطقه، گونه‌های *Ac.Talagonica* و *Ac.vermicularis* در یک منطقه و گونه‌های *Ac.tenuifolia* و *Ac.willhelmsii* در منطقه‌ای دیگر از نمودار قرار گرفتند، همچنین گونه‌ی *Ac.millefolium* به تنهایی در یک منطقه‌ی جداگانه از نمودار قرار گرفت. در مجموع نتایج تجزیه به مختصات اصلی با نتایج تجزیه خوشه‌ای و ماتریس تشابه قابل مقایسه بود و تا حدود زیادی آن را تأیید نمود. گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در تجزیه به مختصات اصلی علی‌رغم برخی تفاوت‌های جزئی با تجزیه خوشه‌ای مطابقت داشت. به‌طور مشابه، اختلافات جزئی نیز توسط Oduwaye et al. (2014) در تجزیه آغازگرهای ISSR گزارش شده است. قابل توجه است که در گذشته، Ray and Roy (2007) از تجزیه به مختصات اصلی برای پشتیبانی از تجزیه خوشه‌ای برای آغازگرهای ISSR استفاده کردند.

در مطالعات اخیر نیز توسط Kapuria et al. (2019) و Chaudhari et al. (2019) از تجزیه PCA برای تجزیه تنوع ژنتیکی و پشتیبانی تجزیه خوشه‌ای به‌ترتیب با استفاده از نشانگرهای RAPD و SSR استفاده شده است. تجزیه به مختصات اصلی برای ۲۸ جمعیت جنس بومادران به منظور ارزیابی روابط بین جمعیت‌ها انجام شد، طوری‌که سه محور نخست مختصات در مجموع ۳٤/۹۱ درصد از واریانس موجود در ساختار داده‌ها را توضیح دادند. نمودار دو بعدی با استفاده از دو مؤلفه نخست حاصل از تجزیه به مختصات اصلی نشان داد که جمعیت‌های متعلق به گونه‌های *Ac.vermicularis*، *Ac.biebersteinii*، *Ac.tenuifolia* و *Ac.willhelmsii* هرکدام به‌طور جداگانه‌ای در نزدیک همدیگر و با فاصله‌ی کمی از هم قرار دارند. در اینجا نیز همانند تجزیه خوشه‌ایی مشاهده شد که یک جمعیت از هرکدام از سه گونه‌ی *Ac.Alppica*، *Ac.talagonica* و *Ac.millefolium* فاصله‌ی بیشتری با دیگر جمعیت‌های آن گونه داشت (TA1، AL1 و MI3)، لذا به‌طور کامل تفکیک نشدند. در حال حاضر رؤیای اصلاح گیاه دارویی بومادران با استفاده از برنامه‌های ژنتیک



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

و به‌نژادی محقق شده و به یک ضرورت جهانی تبدیل شده است. برای بهبود ژنتیکی بومادران، به‌عنوان یک محصول دارویی امیدوارکننده، به دانش خوبی در مورد مجموعه‌های ژرم پلاسم نیاز دارد. با این حال، هنوز تنها شواهد محدودی در مورد تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای و روابط موجود در مجموعه‌های ژرم پلاسم بومادران وجود دارد. لذا نتایج مطالعه حاضر می‌تواند درک جدیدی را در مورد آن گزارش نماید، همچنین نتایج این تحقیق بر کارآیی بالای نشانگرهای ریزماهواره‌یی[1] در مطالعات مرتبط با بررسی تنوع ژنتیکی، ساختار ژنتیکی جمعیت و روابط فیلوژنتیکی بومادران دلالت دارد. Mason (2016) گزارش نمود که نشانگرهای SSR از جمله نشانگرهای بسیار مطلوب برای بررسی ژنوتیپ‌های گیاهی هستند و به‌عنوان یکی از ابزارهای مهم بررسی تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی در سال‌های آینده نیز بیشتر از گذشته مورد استفاده خواهد بود. Meyer et al. (2017) با بررسی تنوع ژنتیکی گونه *Ambrosia artemisiifolia* L. بر اساس ۱۳ آغازگر SSR و ۱۳ آغازگر EST-SSR بیان داشتند که نشانگر SSR دارای کارآیی بالایی در بررسی تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های گونه‌ی مورد بررسی می‌باشد.

**نتیجه‌گیری کلی**

با توجه به نیاز کشت و صنعت گیاهان دارویی و صنایع داروسازی کشور به معرفی گونه‌های دارویی جدید با عملکرد بالا از نظر میزان محصول تولیدی و کیفیت مواد مؤثره، بررسی گونه‌های دارای اسانس ارزشمند از جنس بومادران و معرفی اکسشن‌های برتر آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. لذا ضرورت دارد، جهت بهبود پتانسیل کمی و کیفی این دسته از گیاهان و معرفی واریته‌های سازگار با شرایط محیطی مورد نظر، تحقیقاتی به روز و منسجم بر روی این گیاهان در رویشگاه‌های طبیعی و مراکز تنوع آن‌ها در رابطه با تنوع مورفولوژیکی، تنوع فیتوشیمیایی و تنوع ژنتیکی صورت پذیرد. نتایج مطالعه حاضر بر اساس شاخص‌های تعیین کننده کارآیی سیستم نشانگری، بیانگر کارآیی بالا و مناسب نشانگرهای SSR مورد استفاده در این تحقیق برای ارزیابی مولکولی، انگشت‌نگاری و بررسی روابط ژنتیکی میان ژنوتیپ‌های بومادران می‌باشد. این آغازگرها توانستند تا حدود زیادی اکسشن‌های متعلق به گونه‌های مختلف مورد بررسی بومادران را از هم تفکیک و گروه‌بندی نمایند. پارامترهای ژنتیکی محاسبه شده و تجزیه واریانس مولکولی از وجود سطح نسبتاً بالایی از تنوع ژنتیکی بین و درون گونه‌ای در اکسشن‌های گونه‌های خودروی مورد بررسی بومادران در تحقیق حاضر حکایت دارد، طوری‌که بیشتر این تنوع ژنتیکی نیز به تنوع درون گونه‌ای اختصاص داشت. نتیجه کلی اینکه (۱) با اطمینان خاطر می‌توان از سیستم نشانگری ریزماهواره‌ایی در مطالعات ژنتیکی و گروه‌بندی تعداد بیشتری از جمعیت‌های بومادران از گونه‌های مختلف بهره جست و (۲) وجود تنوع ژنتیکی نسبتاً بالا میان جمعیت‌های خودروی بومادران در یک محدوده جغرافیایی کوچک نوید بخش امکان یافتن ژنوتیپ‌های برتر و معرفی آن‌ها به‌عنوان ارقام زراعی جهت توسعه کشت و بهبود کمیت و کیفیت محصول این گیاه دارویی با اهمیت می‌باشد.

**سپاسگزاری**

بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی کرمانشاه به‌خاطر همکاری در انجام بخشی از آزمایشات تشکر و قدردانی می‌شود.

[1] SSR

**منابع**

Ahmadi F, Mansory F, Maroofi H, Karimi K (2013) Study of flora, life form and chorotypes of the forest area of West Kurdistan (Iran). Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 2:11–18.

Badr A, El-Shazly H H, Sayed Ahmed HI, Hamouda M, El-Khateeb E, Sakr M (2016) Genetic diversity of *Achillea fragrantissimain* Egypt inferred from phenotypic variationsand ISSR markers associated with traits ofplant size and seed yield. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization 1-9.

Cavalcanti AM, Baggio CH, Freitas CS, Rieck L, de Sousa RS, Da Silva-Santos JE, Mesia-Vela S, Marques MC (2006) Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats. Journal of Ethnopharmacology 107:277-284.

Chaudhari BA, Patel MP, Dharajiya DT, Tiwari KK (2019) Assessment of genetic diversity in castor (*Ricinus*



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

*communis* L.) using microsatellite markers. Biosciences, Biotechnology Research Asia 16:61-69.
Dharajiya DT, Khadia SM, Pagi NK, Khatrani TJ, Jasani HV, Khunt AD, Ravindrababu Y (2017) Modified method of high quality genomic DNA extraction from mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] suitable for PCR based amplification. Indian Journal of Science and Technology 10:1-7.
Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
Ebrahimi M, Farajpour M, Rahimmalek M (2012) Inter- and intra-specific genetic diversity of Iranian yarrow species *Achillea santolina* and *Achillea tenuifolia* based on ISSR and RAPD markers. Genetics and Molecular Research 11:2855-2861.
Farajpour M, Ebrahimi M, Amiri R, Sanjari S (2012) Assessment of genetic diversity in *Achillea millefolium* accessions from Iran using ISSR marker. Biochemical Systematics and Ecology 43:73-79.
Gharibi S, Rahimmalek M, Mirlohi A, Majidi MM, Tabatabaei BES (2011) Assessment of genetic diversity in *Achillea millefolium* subsp. millefolium and *Achillea millefolium* subsp. elbursensis using morphological and ISSR markers. Journal of Medicinal Plants Research 5:2413-2423.
Guo YP, Ehrendorfer F, Samuel R (2004) Phylogeny and systematics of Achillea (*Asteraceae-Anthemideae*) inferred from nrITS and plastid trnL-F DNA sequences. Taxon 53:657-672.
Guo YP, Saukel J, Ehrendorfer F (2008) AFLP trees versus scatterplots: evolution and phylogeography of the polyploidy complex Achillea millefolium agg. (Asteraceae). Taxon 57:153-169.
Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001) PAST: palaeontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontol Electron 4:9
Inotai K, Gyorgy Z, Kindlovits S, Varady G, Nemeth-Zámbori E (2016) Evaluation of yarrow (Achillea) accessions by phytochemical and molecular genetic tools. Journal of Applied Botany and Food Quality 89:105-112.
Jaccard P (1908) Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bulletin de la Societe Vaudoise Des Sciences Naturelles 44:223-270.
Kapuria M, Dharajiya D, Pachchigar K, Chauhan RM (2019) Molecular characterization and genetic diversity of Indian potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasms using microsatellite and RAPD markers. Biosci Biotechnol Res Commun 12:80-89.
Mason AS (2016) SSR genotyping. Methods in Molecular Biology 1245:77-89.
Meyer L, Causse R, Pernin F, Scalone R, Bailly GA, Chauvel B, De Alye Ch, Corre V L (2017) New gSSR and EST-SSR markers reveal highgenetic diversity in the invasive plant Ambrosia artemisiifolia L. and can be transferred toother invasive Ambrosia species. PLoS ONE 12:e0176197.
Morsy AA (2007) Molecular Variations of Achillea fragrantissima (Forssk.) SCH. BIP. Growing in Five Areas of South Sinai. International Journal of Agriculture and Biology 9:11-17.
Mozaffarian V (2009) Dictionary of Iranian plant names. Contemporary Culture Publications, Tehran. 740 pp.
Oduwaye O, Baránek M, Cechová J, Raddová J (2014) Reliability and comparison of the polymorphism revealed in amaranth by amplified fragment length polymorphism (AFLPs) and inters simple sequence repeats (ISSRs). Journal of.Plant Breeding and Crop Science 6:48-56.
Powell W, M, Andre C, Hanafey M, J, Tingey S and A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding 2:225-238.
Prevost A, Wilkinson MJ (1999) A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. Theor Appl Genet 98:107-112.
Primrose SB, Twyman R (2013) Principles of gene manipulation and genomics. Wiley, New York
Rahimmalek M (2012) Genetic relationships among *Achillea tenuifolia* accessions using molecular and morphological markers. Plant Omics Journal 5:128-135.
Rahimmalek M, Sayed Tabatabaei BE, Arzani A, Khorrami M (2011) Development and characterization of microsatellite markers for genomic analysis of yarrow (*Achillea millefolium* L.). Genes and Genomics 33:475-482.
Rahimmalek M, Sayed Tabatabaei B E, Etemadi N, Hossein Golid S A, Arzania A, Zeinalie H (2009) Essential oil variation among and within six Achillea species transferred from different ecological regions in Iran to the field conditions. Industrial crops and products 29:348-355.
Rajwade AV, Arora RS, Kadoo NY, Harsulkar AM, Ghorpade PB, Gupta VS (2010) Relatedness of Indian flax genotypes (*Linum usitatissimum* L.): an inter-simple sequence repeat (ISSR) primer assay. Molecular Biotechnology 45:161-170.
Ray T, Roy SC (2007) Phylogenetic relationships between members of Amaranthaceae and Chenopodiaceae of lower gangetic plains using RAPD and ISSR markers. Bangladesh Journal of Botany 36:21-28.
Taheri A, Shirzadian Khorramabad R, Sharifi Sirchi G, Sabouri A, Abbaszadeh Kh (2016b) Investigation of genetic diversity of three yarrow wild populations (*Achillea wilhelmsii*) in Hormozgan province using morphological traits. Plant Genetics Research 2: 73-82.
Trumbeckaite S, Benetis R, Bumblauskiene L, Burdulis D, Janulis V, Toleikis A, Viskelis P, Jakstas V, (2011) *Achillea millefolium* L. s.l. herb extract: Antioxidant activity and effect on the rat heart mitochondrial functions. Food Chemistry 127:1540-1548.
Wallner E, Weising K, Rompf R, Kahl G, Kopp B (1996) Oligo-nucleotide fingerprinting and RAPD analysis of Achillea species: Characterization and long-term monitoring of micro-propagated clones. Plant Cell Reports 15:647-652.



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