

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از توده‌های آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) ایران با نشانگرهای نیمه تصادفی

Assessment of Genetic Diversity Among Iranian *Thymus kotschyanus* Accessions Using Semi-Random Markers

احمد اسماعیلی^{۱*} و فرزانه مجیری^۲

تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۴/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۲۲

چکیده

آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی در مراحل مختلف انجام یک پروژه اصلاحی به‌ویژه جهت بهره‌برداری از منابع ژرم‌پلاسمی امری ضروری است. در این مطالعه ۱۸ توده آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) با استفاده از ۳۰ آغازگر نیمه تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. از برگ‌های جوان آویشن DNA ژنومی استخراج شد و محصولات تکثیر شده واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید. نتایج حاصل از باندهای تکثیر یافته این آغازگرها نشان داد که متوسط تعداد باند چندشکل به ازای هر آغازگر و هر توده به ترتیب ۱۹/۸ و ۳۳ عدد بود. بیشترین میزان اطلاعات چندشکلی و شاخص نشانگر را آغازگر IT₁₈₋₁ تشکیل داد. نتایج تجزیه خوشه‌ای به روش میانگین فواصل با نرم‌افزار DARwin5 بیانگر بیشترین شباهت ژنتیکی بین دو توده آویشن کوهی از استان قزوین بود. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که سه مؤلفه اول در مجموع ۱۷/۵۰ درصد از کل واریانس را توجیه نمودند که بیانگر پراکنش مناسب آغازگرهای مورد استفاده در تمام سطح ژنوم می‌باشد. نحوه گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای با گروه‌بندی تجزیه مؤلفه‌های اصلی هماهنگی داشت. نتایج بیانگر تنوع ژنتیکی بالای درون گونه‌ای آویشن کوهی از مناطق مختلف ایران بود.

واژه‌های کلیدی: آویشن کوهی، آغازگر ISJ، تنوع ژنتیکی، چندشکلی

۱. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

* نویسنده مسوول Email: ismaili.a@lu.ac.ir

پیچیدگی کمتر، تکرارپذیری بالاتر و چندشکلی بیشتری دارند. پزرتکویچ و همکاران (Przetakiewicz et al., 2002) و وینینگ و لانگریج (Wening and Langridge, 1991) بیان نمودند که آغازگرهای ISJ برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و جلوگیری از هدف قرار دادن مناطق هتروکروماتینی در ژنوم گیاهان کاربرد دارند. رافالسکی و همکاران (Rafalski et al., 1997) بیان کردند که چندشکلی به‌دست آمده از آغازگرهای ISJ ناشی از تفاوت در تکثیر بخش‌هایی از ژنوم گیاه است که مورد رونویسی قرار می‌گیرند. تاکنون تحقیقی در مورد تنوع ژنتیکی آویشن *T. kotschyanus* با نشانگرهای ISJ در داخل و خارج کشور صورت نگرفته است و بیشتر مطالعات صورت گرفته در مورد تنوع سیتوژنتیکی و فیتوشیمیایی آن بوده است. مهرپور و همکاران (۱۳۸۰) در مطالعه کاریوتیپی سه جمعیت از گونه آویشن *T. kotschyanus* به شمارش تعداد کروموزوم‌ها، تعیین سطح پلوئیدی، طول کل کروموزوم، طول بازوی کوتاه و بلند هر کروموزوم پرداختند. نتایج نشان داد که جمعیت مربوط به ایستگاه سیراچال واقع در جنوب مرکزی البرز تتراپلوئید با تقارن کاریوتیپی بیشتر ($2n=4x=60$) و دو جمعیت تبریز و میانه دیپلوئید با تقارن کاریوتیپی کمتر ($2n=2x=30$) بوده است. بنابراین پیشنهاد شد که دو جمعیت تبریز و میانه برای اهداف اصلاحی مانند هیبریدهای درون گونه‌ای و تنوع ژنتیکی مناسب‌ترند.

در مطالعه‌ای دیگر مهرپور و همکاران (۱۳۸۳) به بررسی کمی و کیفی اسانس سرشاخه‌های گلدار گیاه *T. kotschyanus* و مقایسه اسانس چهار جمعیت از این گونه از مناطق آذربایجان شرقی، سیراچال تهران، میانه و تبریز در شرایط مزرعه و گلخانه پرداختند. نتایج بیانگر بازده بالای اسانس در نمونه‌های مزرعه نسبت به نمونه‌های گلخانه بود اما درصد ترکیبات عمده تیمول و کارواکرول کاهش یافت. ضیاعی‌نسب و همکاران (Ziaei nasab et al., 2012) طی ارزیابی تنوع کاریوتیپی ۱۶ جمعیت از دو گونه آویشن *Thymus daenensis* و *T. kotschyanus* بیان کردند که سطوح پلوئیدی متفاوت دیپلوئید و تتراپلوئید در جمعیت‌های آویشن کوهی با بیشترین کاریوتیپ متقارن دیده شد اما جمعیت‌های آویشن دنیایی فقط سطح پلوئیدی دیپلوئید و کاریوتیپ‌های نامتقارن داشتند. با توجه به اهمیت گیاه آویشن، در این تحقیق به بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های آویشن کوهی با استفاده از نشانگرهای نیمه‌تصادفی ISJ پرداخته شده است.

آویشن (*Thymus spp.*) یکی از قدیمی‌ترین و مهم‌ترین گیاهان دارویی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است و به سبب کاربردهای متعدد در صنایع دارویی، آرایشی و بهداشتی جزء مهم‌ترین گیاهان در عرصه تجارت جهانی بوده و مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است. زرگری (۱۳۵۲) گزارش کرد که آویشن به کلیه گونه‌های تیموس مخصوصاً آویشن منطقه طالقان یا *Thymus kotschyanus* که بیشترین پراکندگی را در ایران به‌خصوص در دامنه‌های البرز و نواحی شمال ایران دارد، گفته می‌شود. این گونه گیاهی چوبی، تقریباً راست، کوتاه‌قد و با انشعاب‌های زیاد است که زمان گلدهی آن اواخر بهار تا اواسط تابستان می‌باشد. جمزاد (۱۳۸۸) بیان کرد که از این گونه یک واریته با نام *T. kotschyanus* var. *eriophorus* در ایران شناسایی و نامگذاری شده است. این واریته گیاهی بوته‌ای، نقره-ای رنگ، ساقه پوشیده از کرک‌های متراکم گسترده، برگ‌ها تخم‌مرغی پهن و پوشیده از کرک‌های سفید است. استاهل بیسکوپ و سائز (Stahl-Biskup and Saez, 2002) گزارش کردند که گونه‌های مختلف جنس آویشن دارای اثرات ضد-باکتری، ضدقارچ، ضدانگل، ضداسپاسم و آنتی‌اکسید می‌باشند.

دورگه‌گیری بین‌گونه‌ای، پلی‌پلوئیدی و تنوع مورفولوژیکی فراوان، شناسایی گونه‌های آویشن را با مشکل روبه‌رو کرده است. به‌همین دلیل استفاده از نشانگرهای مولکولی در ارزیابی تنوع ژنتیکی گیاهان دارویی نقش مهمی را بر عهده دارد. این نشانگرها ابزارهای بسیار مهمی در زمینه ارزیابی روابط خویشاوندی ژنتیکی، انتخاب گیاهان برتر و بررسی شباهت و تفاوت بین نمونه‌های مختلف هستند. مستقل بودن این نشانگرها از اثرات محیطی و مراحل رشد باعث می‌شود که برای دسته‌بندی اختصاصی و منشأیابی ژنوتیپ‌ها مفید باشند. یکی از نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA، نشانگر نیمه‌تصادفی ISJ (Intron-exon Splice Junction) است که توسط وینینگ و لانگریج (Wening and Langridge, 1991) ابداع گردید و سپس توسط رافالسکی و همکاران (Rafalski et al., 1997) اطلاعات کامل‌تری از آن به‌دست آمد. توالی این نشانگرها بر اساس نواحی برش اتصال اینترون-اگزون طراحی شده است و دارای توالی-های ۹ تا ۱۸ نوکلئوتیدی است. نتایج حاصل از مطالعه رافالسکی و همکاران (Rafalski et al., 1997, 2002) بیانگر این مطلب بود که نشانگرهای ISJ به‌علت نیمه‌تصادفی بودنشان نسبت به نشانگر RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

مواد و روش‌ها

هفت چرخه اولیه، دمای اتصال آغازگر دو درجه سلسیوس و در ۳۳ چرخه بعدی شش درجه سلسیوس پایین‌تر از دمای ذوب آغازگر (که به علت متفاوت بودن تعداد نوکلئوتیدهای آغازگرهای ISJ، دمای اتصال آنها متفاوت بود) در نظر گرفته شد. در تمامی چرخه‌ها، تک‌رشته‌ای شدن به مدت ۴۰ ثانیه و در دمای ۹۴ درجه سلسیوس و اتصال آغازگر به مدت یک دقیقه و مرحله سنتز به مدت دو دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس صورت گرفت. مرحله سنتز نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد. سرانجام محصولات تکثیر شده PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد جهت تفکیک باندهای DNA الکتروفورز گردید.

جهت امتیازبندی باندها، از باندهای تولید شده به حضور باند عدد یک و به عدم حضور باند عدد صفر اختصاص داده شد. پس از تهیه ماتریس صفر و یک با استفاده از نرم‌افزار DARwin5 ماتریس تشابه توده‌ها به دست آمد و براساس روش تجزیه خوشه‌ای دندروگرام مربوطه ترسیم گردید. میزان اطلاعات چندشکلی (PIC: Polymorphic Information Content) و شاخص نشانگر (MI: Marker Index) بر اساس فرمول تیماپیاه و همکاران (Thimmappiah *et al.*, 2008) محاسبه شد که در فرمول $PIC = \sum [2p_i(1-p_i)]$ ، p_i فراوانی آلل i ام در یک مکان ژنی است. شاخص نشانگر از حاصل ضرب PIC در تعداد باند چندشکل هر آغازگر به دست می‌آید. تجزیه مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) نیز برای تعیین نحوه پراکنش نشانگرها در ژنوم گیاه با نرم‌افزار NTSYS (Rohlf, 1998) مورد استفاده قرار گرفت.

در این مطالعه ۱۸ توده آویشن *T. kotschyanus* از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور واقع در کرج جمع‌آوری گردید (جدول ۱). در ابتدا DNA ژنومی از ۲۰۰ میلی‌گرم برگ جوان آویشن که قبلاً در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شده بود به چهار روش مختلف خانوجا و همکاران (Khanuja *et al.*, 1999)، دلاپورتا (Dellaporta, 1983)، دوایل و دوایل (Doyle and Doyle, 1990) و روش کاتگ و یانگ (Kang and Yang, 2004) استخراج شد. از بین انواع مختلف روش‌های استخراج، روش خانوجا و همکاران (Khanuja *et al.*, 1999) با اندکی تغییرات از نظر کمیت و کیفیت DNA انتخاب گردید. سپس DNA ژنومی محلول بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد الکتروفورز گردید. پس از الکتروفورز، کمیت و کیفیت DNA با دستگاه بیوفتومتر ارزیابی شد و فقط DNAهایی که فاقد اسمیر RNA روی ژل آگارز بودند و نسبت جذب (OD_{۲۶۰/۲۸۰}) آنها بین ۱/۸-۲ بود انتخاب شدند. سرانجام از DNAهای انتخابی یک محلول پایه (Stock) با غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر تهیه شد و برای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR: Polymerase Chain Reaction) استفاده گردید. در این مطالعه از ۴۲ آغازگر ISJ استفاده شد. واکنش PCR در حجم ۱۵ میکرولیتر برای تمامی نمونه‌ها بهینه شد. برنامه دستگاهی PCR در دو مرحله طبق روش جزرتکویچ و همکاران (Przetakiewicz *et al.*, 2002) در دستگاه ترموسایکلر انجام شد. چرخه‌های حرارتی به ترتیب شامل تک‌رشته‌ای شدن اولیه (Denaturation) در ۹۴ درجه سلسیوس به مدت پنج دقیقه و سپس ۴۰ چرخه دمایی که در

جدول ۱: شماره و محل جمع‌آوری توده‌های آویشن کوهی

Table 1: Number and location of *Thymus kotschyanus* accessions

Accessions	Location of collection	Accessions	Location of collection	Accessions	Location of collection
توده‌ها	محل جمع‌آوری	توده‌ها	محل جمع‌آوری	توده‌ها	محل جمع‌آوری
1	Qazvin قزوین	7	West Azarbaijan آذربایجان غربی	13	Zanjan زنجان
2	Qazvin قزوین	8	Kurdistan کردستان	14	Tehran تهران
3	Zanjan زنجان	9	Qazvin قزوین	15	West Azarbaijan آذربایجان غربی
4	Zanjan زنجان	10	Zanjan زنجان	16	Kerman کرمان
5	West Azarbaijan آذربایجان غربی	11	Zanjan زنجان	17	Kurdistan کردستان
6	Zanjan زنجان	12	Unknown نامشخص	18	West Azarbaijan آذربایجان غربی

نتایج و بحث

بیشترین شاخص نشانگر را آغازگر IT_{18-1} تشکیل داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که آغازگر IT_{18-1} نسبت به سایر آغازگرها پتانسیل بالایی در تولید باند بیشتر داشته و به‌خوبی توانسته است توده‌ها را از هم تفکیک کند. اندرسون و همکاران (Anderson et al., 1993) و پاول و همکاران (Powell et al., 1996) بیان نمودند که شاخص نشانگر علاوه بر مزایای PIC تعداد کل باند و نسبت چندشکلی را نیز در نظر گرفته و پتانسیل هر آغازگر جهت تولید باند بیشتر را نشان می‌دهد. کمترین درصد چندشکلی و شاخص نشانگر را آغازگر ET_{18-6} تشکیل داد (جدول ۲).

در این مطالعه پس از بررسی ۴۲ آغازگر ISJ از نظر کمیت و کیفیت باندهای، ۳۰ آغازگر ISJ مورد استفاده قرار گرفت. کل آغازگرها ۶۱۹ باند تولید کردند که ۵۹۴ باند آنها چندشکل بود. نتایج حاصل از باندهای تکثیر یافته آغازگرهای ISJ نشان داد که آغازگر ET_{15-33} بیشترین درصد چندشکلی (۹۶ درصد) را تولید کرد (جدول ۲). متوسط تعداد باند چندشکل به‌ازای هر آغازگر و هر توده به‌ترتیب ۱۹/۸ و ۳۳ عدد بود. آغازگرهای IT_{18-1} و IT_{18-2} به‌ترتیب بیشترین (۰/۴۲) و کمترین (۰/۲۴) میزان اطلاعات چندشکلی را به خود اختصاص دادند. همچنین

جدول ۲: مشخصات آغازگرها از نظر چندشکلی و شاخصهای مرتبط

Table 2: Polymorphism and related indices of primers

MI	PIC	Percent of polymorphism	Polymorphic bands	Total Bands	Primer name	Row ردیف
شاخص نشانگر	محتوای اطلاعات چندشکلی	درصد چند شکلی	باندهای چندشکل	کل باندها	نام آغازگر	
7.6	0.38	100	20	20	IT ₁₀₋₁	1
7.8	0.39	95	20	21	IT ₁₀₋₂	2
6.72	0.32	95	21	22	IT ₁₀₋₃	3
7.35	0.35	91	21	23	IT ₁₀₋₄	4
6.2	0.31	100	20	20	IT ₁₀₋₅	5
7.92	0.33	100	24	24	IT ₁₀₋₆	6
6.27	0.33	90	19	21	ET ₁₂₋₂₅	7
5.58	0.31	90	18	20	ET ₁₂₋₂₆	8
9.2	0.40	100	23	23	ET ₁₂₋₂₇	9
6.48	0.36	95	18	19	ET ₁₂₋₂₈	10
6.12	0.34	95	18	19	ET ₁₂₋₂₉	11
9.12	0.38	100	24	25	ET ₁₂₋₃₀	12
6.3	0.35	90	18	20	IT ₁₅₋₃₁	13
5.4	0.30	100	18	18	IT ₁₅₋₃₂	14
7.59	0.33	100	23	23	IT ₁₅₋₃₄	15
6.46	0.38	94	17	18	IT ₁₅₋₃₅	16
7.14	0.34	100	21	21	IT ₁₅₋₃₆	17
4.68	0.26	100	18	18	ET ₁₅₋₃₁	18
5.95	0.35	89	17	19	ET ₁₅₋₃₂	19
9.0	0.36	100	25	26	ET ₁₅₋₃₃	20
7.7	0.35	100	22	22	ET ₁₅₋₃₄	21
6.65	0.35	100	19	19	ET ₁₅₋₃₅	22
5.04	0.28	100	18	18	ET ₁₅₋₃₆	23
9.66	0.42	100	23	23	IT ₁₈₋₁	24
4.08	0.24	100	17	17	IT ₁₈₋₂	25
3.96	0.33	80	12	15	ET ₁₈₋₆	26
7.35	0.35	100	21	21	ISJ ₁	27
8.19	0.39	100	21	21	ISJ ₃	28
8.19	0.39	100	21	21	ISJ ₅	29
5.44	0.32	89	17	19	ISJ ₉	30
6.84	0.35	96	19.8	20.63	Mean	

PIC= Polymorphic Information Content

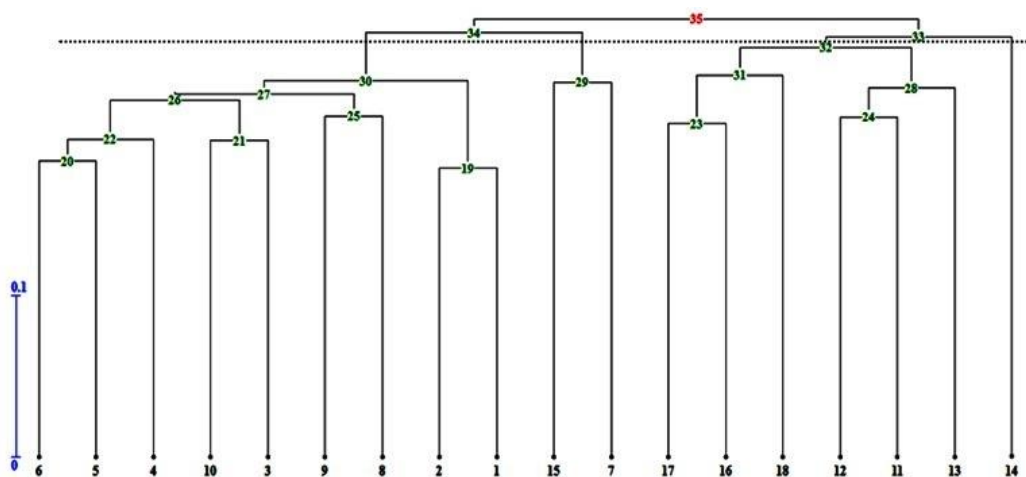
MI= Marker Index

دندروگرام انتخاب شد. توده‌های آویشن *T. kotschyanus* با قطع دندروگرام در محل برش به چهار گروه تقسیم شدند (شکل ۱).

دندروگرام تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و ضریب تشابه دایس (Nei and Li) با نرم‌افزار DARwin5 به‌عنوان مناسب‌ترین

جابه‌جایی بذرها باشد. در گروه چهارم فقط یک توده از تهران قرار داشت که بیشترین فاصله ژنتیکی را با توده‌های از آذربایجان- غربی (شماره ۵) نشان داد. از آنجا که توده‌های آویشن کوهی از مناطقی با اقلیم‌های متفاوت جمع‌آوری شده بودند به علت اثر متقابل ژنوتیپ و محیط، ژنتیک این گیاهان طی تکامل طولانی- مدت از محیط تأثیر پذیرفته است. بنابراین یکی از احتمال‌های ممکن در خصوص توجیه این تفاوت‌ها می‌تواند مربوط به منشأ جغرافیایی آنها و اثر محیط باشد.

گروه اول دندروگرام بیشترین توده را در خود جای داد که همگی از مناطق سردسیری کشور (قزوین، زنجان، آذربایجان غربی و کردستان) بودند. در گروه دوم دو توده با منشأ جغرافیایی مشترک از آذربایجان غربی قرار گرفتند. گروه سوم شامل دو توده از زنجان، یک توده از آذربایجان غربی، یک توده از کردستان، یک توده با منشأ نامشخص و یک توده از استان کرمان بود. علت قرار گرفتن نمونه استان کرمان با هوایی گرم و متفاوت در کنار سایر توده‌های آویشن کوهی از مناطق سردسیر را می‌توان تصادفی تصور نمود و یا ممکن است ناشی از مبادله و



شکل ۱: دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر مبنای روش UPGMA با استفاده از نرم‌افزار DARwin5
 Fig. 1: Dendrogram obtained from cluster analysis based on UPGMA method, using DARwin5 software

بیشترین شباهت ژنتیکی بین دو توده آویشن کوهی از استان قزوین با کمترین bootstrap مشاهده شد. مقادیر bootstrap روی دندروگرام درصد اعتماد بالای گروه‌بندی را نشان می‌دهد. بدین معنا که هر چه مقدار bootstrap روی گروه‌های دندروگرام بیشتر باشد بیانگر آن است که نمونه‌های آن گروه با درصد اعتماد بالایی در یک گروه قرار گرفته‌اند و شباهت ژنتیکی آنها بیشتر است. در مطالعه‌های *رافالسکی* و همکاران (Rafalski et al., 1997) به بررسی تنوع ژنتیکی ۱۲ اینبرد لاین ذرت با استفاده از آغازگرهای RAPD و ISJ پرداختند. آنها بیان کردند که آغازگرهای نیمه تصادفی ISJ کارایی بیشتری نسبت به آغازگرهای RAPD داشتند. همچنین آغازگرهای ISJ در بین ژنوتیپ‌های خویشاوند چندشکلی قابل توجهی را آشکار کردند. پزرتکویچ و همکاران (Przetakiewicz et al., 2002) برای تأیید هیبریدهای سوماتیکی بین لاین‌های دیپلوئید سیب‌زمینی و برآورد فاصله ژنتیکی بین آنها و والدین‌شان از آغازگرهای

ISJ و RAPD استفاده نمودند. در این آزمایش تمامی آغازگرهای ISJ قطعات تکثیری بیشتری نسبت به آغازگرهای RAPD تولید کردند در نتیجه توانستند افراد هیبرید را شناسایی و بهترین هیبرید را با توجه به حداکثر فاصله ژنتیکی تعیین نمایند. *فراهانی و ارزانی* (Farahani and Arzani, 2004) در مطالعه تنوع ژنتیکی ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم به همراه سه هیبرید F_1 و لاین-های پدری آنها با استفاده از نشانگرهای ISJ و مورفولوژیک گزارش کردند که نشانگرهای ISJ به خوبی توانستند ارقام گندم دوروم را از همدیگر تفکیک نماید. اسماعیلی و همکاران (۱۳۸۸) در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم دیم با نشانگر نیمه- تصادفی ISJ گزارش کردند که گروه‌بندی تجزیه خوشه‌ای به خوبی توانست ارقام بهاره از زمستانه و ارقام گندم نان از گندم دوروم را از هم تفکیک نماید.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی برای توده‌های آویشن کوهی انجام شد. نتایج حاصل از آن نشان داد که سه مؤلفه اول ۲۹/۸۷

ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از توده‌های آویشن کوهی ...

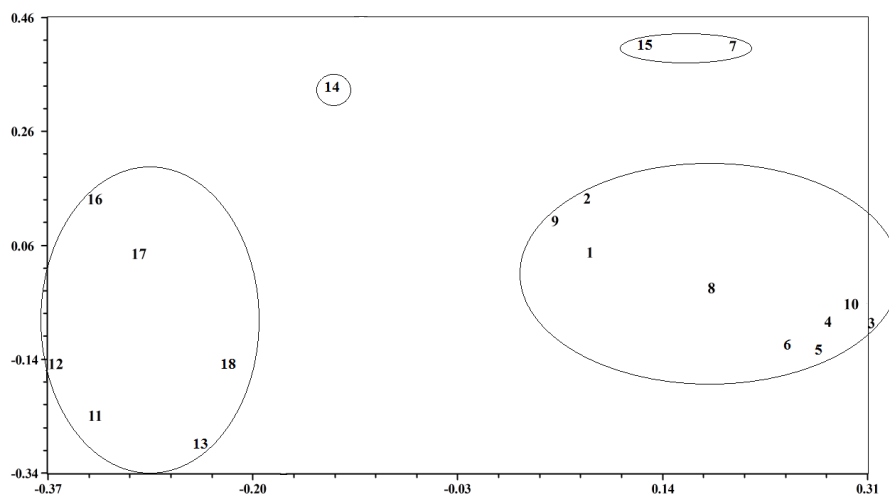
مطابقت کامل گروه‌بندی توده‌ها به روش تجزیه مؤلفه‌های اصلی با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای بود (شکل ۲).

درصد از واریانس کل را در بین توده‌های آویشن کوهی توجیه نموده است که سهم مؤلفه اول به تنهایی ۱۲/۷۰ درصد بود (جدول ۳). نتایج بیانگر توزیع مناسب آغازگرهای ISJ در تمام سطح ژنوم گیاه آویشن کوهی بوده است. این نتایج بیانگر

جدول ۳: مقادیر ویژه، نسبت واریانس توجیه شده توسط هر مؤلفه و واریانس جمعی حاصل از تجزیه مؤلفه‌های اصلی بر اساس نشانگرهای نیمه‌تصادفی

Table 3: Eigen values, proportion of variance explained by each component and the cumulative variance of principle component analysis based on semi-random markers

Cumulative variance واریانس جمعی	Percent of variance درصد واریانس	Eigen values مقادیر ویژه	Main components مؤلفه‌های اصلی
12.70	12.70	2.35	First component مؤلفه اول
21.54	8.84	1.76	Second component مؤلفه دوم
29.87	8.33	1.41	Third component مؤلفه سوم



شکل ۲: نمودار دو بعدی تجزیه مؤلفه‌های اصلی توده‌های آویشن کوهی با نشانگرهای ISJ

Fig. 2: Two dimensional digram for principal component analysis in *Thymus kotschyanus*, using ISJ markers

در این تحقیق تنوع ژنتیکی بالایی بین توده‌های آویشن *T. kotschyanus* مشاهده شد که در انتخاب توده‌های مطلوب می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین به نظر می‌رسد نشانگرهای نیمه‌تصادفی ISJ توانایی مناسبی در تعیین تنوع ژنتیکی درون گونه‌های آویشن *T. kotschyanus* داشتند.

سمیعی و همکاران (۱۳۸۷) در مطالعه خود بیان داشتند که استفاده از آغازگرهای نیمه‌تصادفی ISJ در بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی شبدر ایرانی مناسب بوده است. همچنین آنها گزارش کردند که سه مؤلفه اول ۸۲ درصد از واریانس کل بین توده‌های شبدر ایرانی را توجیه نموده است.

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۲۰-۲۱ متن انگلیسی مراجعه شود.