



مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبور عسل استان کرمان با استفاده از نشان‌گرهای ISSR

یاسر بهادر^۱، محمد رضا محمدآبادی^۲، امین خضری^۳، مهدیه اسدی^۳ و لیلا مدحتی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲- دانشیار، دانشگاه شهید باهنر کرمان، (تویستنده مسؤول): mmohammadabadi@yahoo.com

۳- کارشناس اداره استاندارد و تحقیقات کهکیلویه و بویراحمد

۴- تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۵/۲۱

چکیده

در این پژوهش، تنوع ژنتیکی در جمعیت زنبورهای استان کرمان با استفاده از دو آغازگر ISSR مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این طرح از ۳۰ زنبور در شش جمعیت (کرمان، جیرفت، راین، بردسیر و فلوج) نمونه برداری شد. با استفاده از آغازگرهای G و (AC)_nG (AC)_nGC (AGAC)_n برای جمعیت زنبور عسل جیرفت، راین، بردسیر و براس اساس نشانگر (AC)_nGC (AGAC)_n برای جمعیت زنبور عسل جیرفت، کرمان، فلوج (زنبور بومی جیرفت)، راین، بردسیر به ترتیب ۰/۵۲، ۰/۴۲، ۰/۶۱، ۰/۵۰ و ۰/۱۹ در نظر گرفته شد و بر اساس نشانگر (AC)_nGC (AGAC)_n برای جمعیت زنبور عسل ای با استفاده از روش UPGMA انجام شد. دندروگرام رابطه ژنتیکی بین ۳۰ فرد در ۶ جمعیت به دست آمد. هاپلوتیپ‌ها محاسبه شد و فراوانی‌ها در هر جمعیت مقایسه شد. براساس نتایج کلیه معیارهای ژنتیکی انجام شده در این برسی، می‌توان نتایج گرفت که توده‌های زنبور عسل این استان دارای تنوع بوده، ولی این تنوع ژنتیکی متوسط است. همچنین نتایج این پژوهش می‌تواند اطلاعات ملکولی پایه‌ای برای مطالعه بیشتر زنبورهای عسل بومی با نشان‌گرهای ISSR را فراهم آورد.

واژه‌های کلیدی: نشان‌گرهای ISSR، زنبور عسل بومی، چندشکلی، دندروگرام، UPGMA، هاپلوتیپ

زنبرهای بجهه واروا که یکی از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین آفات کندو در دنیا و کشور ما می‌باشد نیز توسط ریندر و همکاران (۶) اثبات شد. از بین هفت زیر گونه زنبور که در خاورمیانه زندگی می‌کنند یک زیر گونه در ایران وجود دارد که نام علمی آن Apis mellifera meda می‌باشد. از نشان‌گرهای بین ریزماهواره (بین توالی‌های تکراری ساده) یا ISSR برای اولین بار در سال ۱۹۹۴ استفاده شد (۱۲). نشان‌گرهای بین ریزماهواره و احدهای تکراری (۴) تا ۱۲ واحد تکراری) هستند و در بک انتهایشان دو تا چهار نوکلوتید اختیاری (که anchor نامیده می‌شود) دارند. چنین پرایمرهایی امکان می‌دهند قطعاتی از DNA را تکثیر کنیم که بین دو توالی ریزماهواره‌ای به اندازه کافی قرار گرفته‌اند (که معمولاً DNA منحصر به فرد است و در جای دیگری وجود ندارد) (۲). در نتیجه تعداد زیادی قطعه تکثیر می‌شوند که در الکتروفورگرام به صورت باندهای مجرایی دیده می‌شوند. الگوهای محصولات PCR به دست آمده برای هر گونه اختصاصی هستند (۴،۳). نشان‌گرهای ISSR جزو نشان‌گرهای با توارث غالیب است و در مطالعه با وجود یا عدم وجود باند تست می‌شود. مشابه با AFLP و RAPD برای ساخت نشان‌گرهای ISSR نیازی

مقدمه

زنبور جانوری متعلق به دسته حشرات و از راسته پرده‌بالان است. برخلاف اکثر موجودات زنده تعیین جنسیت در زنبور عسل به وسیله آل‌های جنسی^۱ متفاوت (بیش از ۲۰ آل) صورت می‌گیرد. تخم‌های تلقیح شده (2n) با دو آل جنسی متفاوت به افراد ماده (ملکه و کارگر) و تخم‌های تلقیح نشده (n) به نر تبدیل می‌شوند. از تخم‌های تلقیح شده با دو آل جنسی یکسان افراد نر دیپلوفیدی متولد می‌شوند که به دلیل عدم انجام نقشی مهم در آینده کندو توسط کارگران حذف می‌شوند به این پدیده هموزیگوتی آل‌های جنسی یا هم‌خونی^۲ می‌گویند که در واقع حاصل کاهش تنوع ژنتیکی در جمعیت است (۷). با بالا رفتن درصد هم‌خونی جمعیت زنبور عسل در مدت زمان کوتاهی چهار آسیب و کاهش نسل تا ۵۰ درصد می‌شود (۱). کاهش تنوع ژنتیکی در کندوهای زنبور عسل هم‌چنین باعث کاهش یا عدم مقاومت زنبورها در مقابل آفات و بیماری‌های مختلف کندو می‌شود. تاریخی و همکاران (۸) ثابت کردند کندوهایی که دارای تنوع ژنتیکی بیشتری هستند در مقابل قارچ بیماری‌زای Ascophypha apis مقاومت بیشتری داشته و تلفات کمتری داده اند. این موضوع در مورد مقاومت

۹۴ درجه سلسیوس با یک چرخه تکرار، انجام سه گامه زیر با ۳۵ چرخه تکرار شامل تک رشته‌ای شدن DNA به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۹۴ درجه سلسیوس، اتصال آغازگر به cDNA تک رشته‌ای به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۵۵ درجه سلسیوس، بسط آغازگر به مدت ۲ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سلسیوس، سنتز نهایی به مدت ۲ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سلسیوس با یک چرخه تکرار، پس از تکمیل چرخه‌های دستگاه، نمونه‌ها بلا فاصله از دستگاه خارج شده و در دمای ۴۰°C نگهداری شدند. سپس فرآورده‌های تکثیر شده روی ژل آگارز با غلظت ۱٪ کلتروفورز شد. ژل به مدت ده دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید (۱۰٪ g/ml) رنگ‌آمیزی شد. سپس ژل را روی U.V Transluminator قرار داده و پس از مشاهده باندها در زیر نور ماوراء بنفش از ژل عکس برداری شد. الگوی باندهای حاصل از نشانگر ISSR بر اساس وجود یا عدم وجود باند در نمونه‌ها امتیازدهی شد. سپس داده‌ها در نرم‌افزار Excel تنظیم و طبقه‌بندی شدند و با استفاده از نرم‌افزار POPGENE و NTSYS تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام گرفت.

نتایج و بحث

با استفاده از دو آغازگر (AC)₈G₄GC (AGAC)₄GC واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد و محصولات PCR در ژل آگارز کلتروفورز شد (شکل ۱ و ۲). همان‌طور که مشاهده می‌شود تعداد باندهای حاصل (جایگاه‌های مربوط به این نشانگر) برای نشانگر (AC)₈G₄GC بیشتر از نشانگر (AGAC)₄GC می‌باشد. برای آغازگر (AC)₈G₄GC تعداد هشت دامنه باندی و برای آغازگر (AGAC)₄GC نیز تعداد هشت دامنه باندی در نظر گرفته شد که هر دامنه باندی به عنوان یک ژنوتیپ به حساب می‌آید. در مطالعه‌ای که روی زنبورهای لیتوانی با نشانگرهای ISSR انجام شده بود، (۵) برای نشانگر (AC)₈G₄GC تعداد هشت باند مشاهده شده بود که فقط دو باند چندشکل بودند و برای نشانگر (AGAC)₄GC تعداد هفت باند چند شکل گزارش شده بود. این امر نشان می‌دهد که برای این دو نشانگر جمعیت‌های زنبور عسل استان کرمان چندشکلی بالاتری نسبت به جمعیت زنبورهای لیتوانی دارند، که خود اهمیت آنها را به عنوان یک خزانه ژنتیکی خوب نشان می‌دهد. در جدول‌های (۱) و (۲) فراوانی‌های آلتی نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود برای نشانگر (AC)₈G₄GC در کل جمعیت‌ها بیشترین فراوانی آلتی مربوط به جایگاه یک به میزان ۰/۸۵ و برای نشانگر (AGAC)₄GC در کل جمعیت‌ها بیشترین فراوانی آلتی مربوط به جایگاه هشت به میزان ۰/۸۸ می‌باشد. شاخص شانون، که نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی است با آغازگر (AC)₈G₄GC برای

به داشتن توالی نوکلئوتیدی DNA مورد مطالعه از قبل نیست (۱۰). این روش تکرارپذیری خوبی دارد و همراه با AFLP می‌تواند برای کشف و نمایش تغییرپذیری بین و داخل نژادی و شناسایی گونه‌ها، جمعیت‌ها، لاین‌ها و در موارد زیادی برای تعیین ژنوتیپ فردی به کار رود. نشانگرهای ISSR همچنین می‌توانند برای تعیین نقشه ژنوم و نشان‌گذاری صفات اقتصادی استفاده شوند.

تینگ جی و گوهونگ (۹) شش جمعیت زنبور عسل در شرق چین را با استفاده از ۲۱ نشانگر ریزمه‌هاره بررسی کردند. تنوع ژنتیکی به دست آمده برای زنبورهای این منطقه نسبتاً بالا بود ولی فاصله ژنتیکی آنها نسبتاً پایین بود و کلیه جمعیت‌ها تشکیل یک خوشه دادند. جمعیت‌های ایران، به ویژه زنبورهای استان کرمان تاکنون با نشانگرهای ISSR مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند. لذا هدف این پژوهش، مطالعه چندشکلی زنبورهای استان کرمان با نشانگرهای ISSR برای اولین بار بود.

مواد و روش‌ها

در این طرح از ۳۰ زنبور در ۶ جمعیت از استان کرمان (از هر جمعیت ۵ نمونه) نمونه‌برداری شد. این جمعیت‌ها شامل جمعیت کرمان، جیرفت، راین، رابر، بردسر و فلو (بومی جیرفت) بودند. یک زنبور کارگر را از هر کندو به طور تصادفی انتخاب و به درون شیشه‌های مک کارتی که حاوی اتانول ۱۰۰٪ بودند منتقل کرده و برای نگهداری طولانی‌تر در فریز -۲۰°C نگهداری شدند. استخراج DNA از سر و قفسه سینه زنبور کارگر با کیت DIATOM DNA PREP شرکت سینا ژن انجام شد. تعیین غلظت DNA استخراج شده به دو روش بارگیری DNA روی ژل آگارز (۱٪) در کنار DNA می‌باشد. که اندازه آن و طولش مشخص است و استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر از روی جذب در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام شد.

برای انجام واکنش‌های PCR، مواد مورد استفاده به جز DNA و آب مقطر، به صورت تیوب‌های آماده تجاری بودند که از شرکت ژن فناوران تهیه شدند. در مطالعه‌ای که روی زنبورهای لیتوانی با نشانگرهای ISSR انجام شده بود (۵) تعداد ۱۱ نشانگر استفاده شده بود که از بین آنها ۲ آغازگری که بیشترین چندشکلی را در زنبورهای عسل نشان داده بودند انتخاب شدند. لذا، الیگونوکلئوتیدهای مورد استفاده در این پژوهش شامل ۲ آغازگر با توالی (AC)₈G₄GC و (AGAC)₄GC بود که توسط شرکت فناوری سنتر شد. PCR با استفاده از کیت PCR انجام شد. برنامه حرارتی دستگاه PCR شامل: واسرشت‌سازی اولیه DNA به مدت دو دقیقه و دمای

میزان ۰/۱۹ می‌باشد. همچنین بیشترین مقدار این شاخص برای نشان‌گر_{4GC}(AGAC) در جمعیت جیرفت به میزان ۰/۵۲ و کمترین مقدار شاخص شانون در جمعیت بردسیر به میزان ۰/۲۷ برآورد شد. در پژوهشی که با استفاده از نشان‌گرهای ریزماهواره (SSR) روی زنیورهای عسل استان اردبیل انجام شد (۱۱)، میزان شاخص شانون بین ۰/۶۹ تا ۰/۰۶ تا یک متغیر بود که نشان‌دهنده تنوع بالای این زنیورها بود.

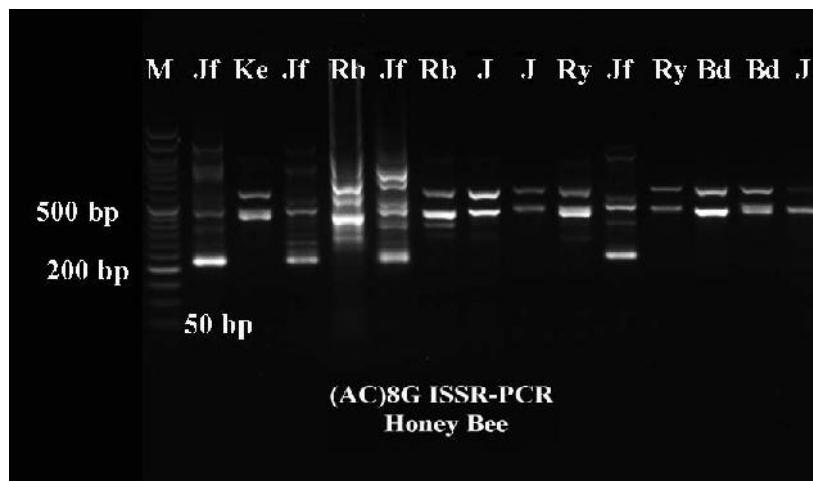
جمعیت‌های بردسیر، رابر، راین، فلو، کرمان و جیرفت به ترتیب ۰/۱۹، ۰/۴۲، ۰/۴۱، ۰/۵۰، ۰/۶۱ و ۰/۳۶ و ۰/۵۱ (جدول ۳) و با آغازگر_{4GC}(AGAC) برای جمعیت‌های بردسیر، رابر، راین، فلو، کرمان و جیرفت به ترتیب ۰/۲۷، ۰/۴۱، ۰/۴۶، ۰/۴۱ و ۰/۵۲ (جدول ۴) محاسبه شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بیشترین مقدار شاخص شانون (I) برای نشان‌گر_{8G}(AC) در جمعیت راین به میزان ۰/۶۱ است. کمترین آن در جمعیت بردسیر به

جدول ۱- فراوانی‌های آللی برای آلل‌های ۸ جایگاه نشان‌گر_{8G}

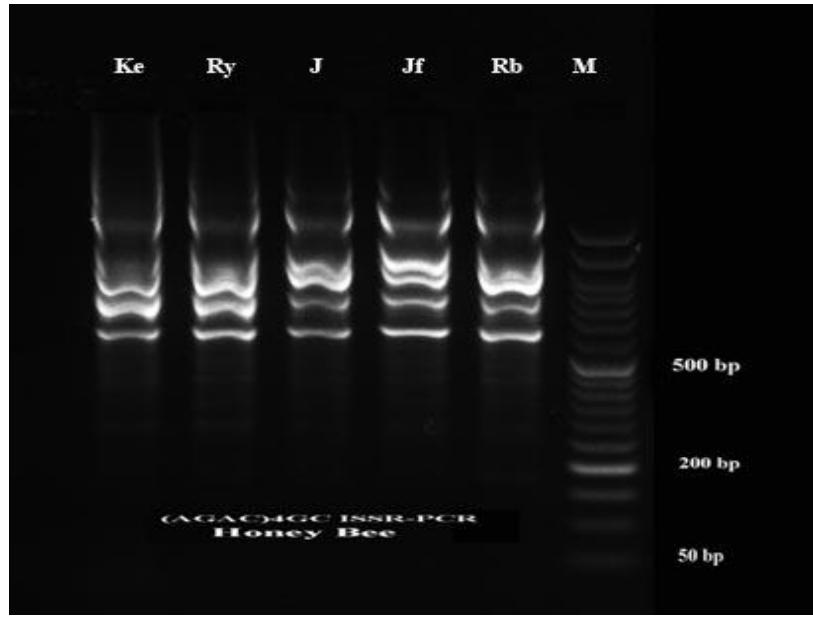
| شهرستان آلل | | | | | | | | | |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------|-------------|
| فراوانی آللی | | | | | | | | | |
| جایگاه ۸ | جایگاه ۷ | جایگاه ۶ | جایگاه ۵ | جایگاه ۴ | جایگاه ۳ | جایگاه ۲ | جایگاه ۱ | جیرفت | |
| ۰/۸۹ | ۰/۸۸ | ۰/۴۶ | ۰/۴۵ | ۰/۶۲ | ۰/۶۳ | ۰/۴۵ | ۱ | + | |
| ۰/۱۱ | ۰/۱۲ | ۰/۵۴ | ۰/۵۵ | ۰/۲۸ | ۰/۳۷ | ۰/۵۵ | ۰ | - | |
| ۰/۶۲ | ۰/۶۳ | ۰ | ۰ | ۰/۷۷ | ۰/۸۹ | ۰/۹۰ | ۰/۸۹ | + | |
| ۰/۳۸ | ۰/۳۷ | ۱ | ۱ | ۰/۲۳ | ۰/۱۱ | ۰/۱۰ | ۰/۱۱ | - | کرمان |
| ۰/۴۴ | ۰/۶۳ | ۰/۴۵ | ۰/۴۴ | ۰/۷۷ | ۰/۷۶ | ۰/۷۸ | ۰/۷۷ | + | |
| ۰/۵۶ | ۰/۳۷ | ۰/۵۵ | ۰/۵۶ | ۰/۲۳ | ۰/۲۴ | ۰/۲۲ | ۰/۲۳ | - | راین |
| ۰/۹۰ | ۰/۸۹ | ۰/۴۵ | ۰/۴۵ | ۰/۴۵ | ۰/۴۴ | ۰ | ۰/۷۷ | + | |
| ۰/۱۰ | ۰/۱۱ | ۰/۵۵ | ۰/۵۵ | ۰/۵۵ | ۰/۵۶ | ۱ | ۰/۲۳ | - | فلو جیرفت |
| ۰/۸۹ | ۰/۴۵ | ۰ | ۰ | ۰/۶۴ | ۰/۶۳ | ۰/۴۵ | ۰/۸۹ | + | |
| ۰/۱۱ | ۰/۵۵ | ۱ | ۱ | ۰/۲۶ | ۰/۳۷ | ۰/۵۵ | ۰/۱۱ | - | رابر |
| ۰/۸۹ | ۱ | ۰ | ۰ | ۰ | ۰/۴۵ | ۰ | ۰/۷۷ | + | |
| ۰/۱۱ | ۰ | ۱ | ۱ | ۱ | ۰/۸۵ | ۱ | ۰/۲۳ | - | بردسیر |
| ۰/۷۸ | ۰/۷۵ | ۰/۲۲ | ۰/۲۲ | ۰/۵۴ | ۰/۶۴ | ۰/۴۳ | ۰/۸۵ | + | |
| ۰/۲۲ | ۰/۲۵ | ۰/۷۸ | ۰/۷۸ | ۰/۴۶ | ۰/۳۶ | ۰/۵۷ | ۰/۱۵ | - | کل جمعیت‌ها |

جدول ۲- فراوانی‌های آللی برای آلل‌های ۸ جایگاه نشان‌گر_{4GC}(AGAC)

| شهرستان آلل | | | | | | | | | |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-------|-------------|
| فراوانی آللی | | | | | | | | | |
| جایگاه ۸ | جایگاه ۷ | جایگاه ۶ | جایگاه ۵ | جایگاه ۴ | جایگاه ۳ | جایگاه ۲ | جایگاه ۱ | جیرفت | |
| ۰/۹۰ | ۰/۷۷ | ۰/۷۸ | ۰/۶۳ | ۰/۴۵ | ۰/۷۸ | ۰/۷۷ | ۰/۸۹ | + | |
| ۰/۱۰ | ۰/۲۳ | ۰/۲۲ | ۰/۷۷ | ۰/۵۵ | ۰/۲۲ | ۰/۲۳ | ۰/۱۱ | - | |
| ۱ | ۰/۷۷ | ۰/۶۳ | ۰/۷۸ | ۰/۶۴ | ۰/۶۳ | ۰/۷۸ | ۰/۷۷ | + | |
| ۰ | ۰/۲۳ | ۰/۳۷ | ۰/۲۲ | ۰/۳۶ | ۰/۳۷ | ۰/۲۲ | ۰/۲۳ | - | کرمان |
| ۰/۸۹ | ۰/۹۰ | ۰/۴۵ | ۰/۷۸ | ۰ | ۰/۴۵ | ۰/۷۷ | ۰/۷۷ | + | |
| ۰/۱۱ | ۰/۱۰ | ۰/۵۵ | ۰/۲۲ | ۱ | ۱ | ۰/۵۵ | ۰/۲۳ | - | راین |
| ۰/۶۴ | ۰/۶۳ | ۰/۴۴ | ۱ | ۰ | ۰/۴۵ | ۰/۸۹ | ۰/۴۵ | + | |
| ۰/۳۶ | ۰/۳۷ | ۰/۵۶ | ۰ | ۱ | ۰/۵۵ | ۰/۱۱ | ۰/۵۵ | - | فلو جیرفت |
| ۰/۸۹ | ۱ | ۰/۶۳ | ۰/۷۷ | ۰ | ۰/۴۴ | ۰/۷۸ | ۰/۷۷ | + | |
| ۰/۱۱ | ۰ | ۰/۳۷ | ۰/۲۳ | ۱ | ۰/۵۶ | ۰/۲۲ | ۰/۲۳ | - | رابر |
| ۱ | ۱ | ۰/۸۹ | ۰/۷۷ | ۰ | ۰/۶۴ | ۰/۶۳ | ۱ | + | بردسیر |
| ۰ | ۰ | ۰/۱۱ | ۰/۲۳ | ۱ | ۰/۳۶ | ۰/۳۷ | ۰ | - | |
| ۰/۸۸ | ۰/۸۵ | ۰/۶۴ | ۰/۷۹ | ۰/۱۸ | ۰/۴۹ | ۰/۷۲ | ۰/۷۷ | + | |
| ۰/۱۲ | ۰/۱۵ | ۰/۳۶ | ۰/۲۱ | ۰/۸۲ | ۰/۵۱ | ۰/۲۸ | ۰/۲۳ | - | کل جمعیت‌ها |



شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد برای نشانگر G₈(AC). M نشان گر اندازه M50 (اندازه قطعات از ۵۰ تا ۱۰۰۰ جفت بار) molecular weight marker، شرکت ژن فن آوران، Jf زنبور بومی جیرفت، Ke زنبور عسل کرمان، Rb زنبور عسل رابر، J زنبور عسل جیرفت، Ry زنبور عسل راین، Bd زنبور عسل بردسیر.



شکل ۲- الکتروفورز محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد برای نشانگر G₄(AGAC). M نشان گر اندازه M50 (اندازه قطعات از ۵۰ تا ۱۰۰۰ جفت بار) molecular weight marker، شرکت ژن فن آوران، Jf زنبور بومی جیرفت، Ke زنبور عسل کرمان، Rb زنبور عسل رابر، J زنبور عسل جیرفت، Ry زنبور عسل راین.

در جمعیت بردسیر نشان داد. در بیشتر ژنتوتیپها تعداد آلل موثر کمتر از آلل واقعی است، که دلیل کاهش تعداد آلل موثر در جمعیت وجود تعداد آلل با فراوانی مساوی در هر ژنتوتیپ است و در ژنتوتیپ‌هایی که تفاوت بین این دو مقدار زیاد باشد، به دلیل وجود فراوانی‌های آللی با

نتایج نشان داد که در آنالیز نشان گر G₈(AC) بالاترین تعداد آلل موثر در جمعیت جیرفت (۲ آلل) و کمترین آن در جمعیت بردسیر (۰/۵۰ آلل) است. آنالیز مربوط به نشان گر G₄(AGAC) بالاترین تعداد آلل را در جمعیت فلو (بومی جیرفت) و کمترین تعداد آلل را

همچنین کمترین سطح تنوع ژنتیکی برای نشان‌گر (AC)₈G مربوط به جمعیت بردسیر با مقدار ۰/۱۳ و نشان‌گر (AGAC)₄GC مربوط به جمعیت بردسیر به میزان ۰/۱۸ بود.

درخت فیلوزنی حاصل از تجزیه خوش‌های مبتنی بر روش UPGAM (با نرم‌افزار POPGENE) برای جمعیت‌های مورد مطالعه بر اساس نشان‌گر (AGAC)₄GC و نشان‌گر (AC)₈G در شکل (۴ و ۵) نشان داده شد.

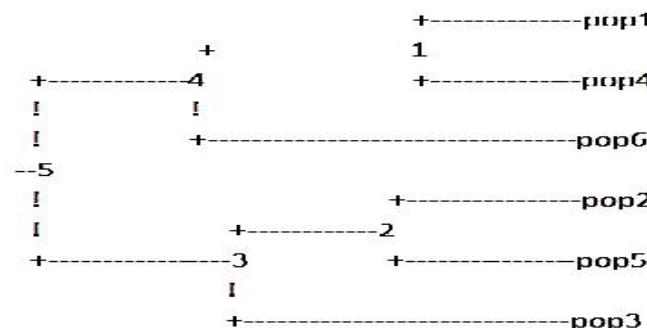
پراکندگی بالا در آن ژنتوپ‌های است. ژنتوپ‌هایی که فراوانی آللی در آنها تقریباً برای تمام آلل‌ها مشابه می‌باشد، تعداد آلل موثر کمتری نشان خواهد داد. برای میانگین شاخص نی (Nei)، که نشان‌دهنده شباهت ژنتیکی و فاصله ژنتیکی چند گروه یا جمعیت را نشان می‌دهد بالاترین سطح تنوع ژنتیکی آنالیز شده با نشان‌گر (AC)₈G (جدول ۳) مربوط به جمعیت راین با مقدار ۰/۴۲ و برای نشان‌گر (AGAC)₄GC (جدول ۴) مربوط به جمعیت کرمان به میزان ۰/۳۵ مشاهده بود.

جدول ۳- مقادیر شاخص نی (Nei) و شانون برای جمعیت‌های مطالعه شده بر اساس نشان‌گر (AC)₈G

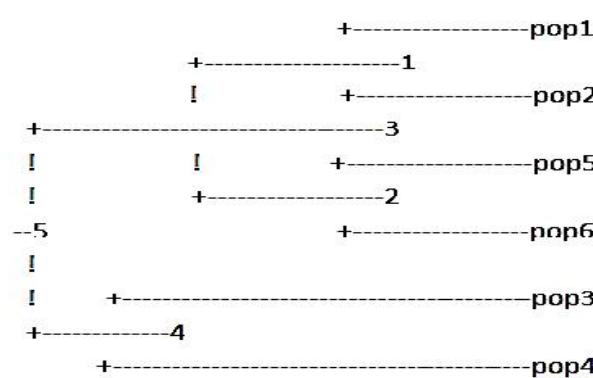
| شهرستان | | | | | | | شاخص |
|---------|--------|------|-----------|-------|------|--------|----------|
| کل | بردسیر | راین | فلو جیرفت | کرمان | راین | بردسیر | نی (Nei) |
| ۰/۳۹ | ۰/۱۳ | ۰/۲۹ | ۰/۷۴ | ۰/۴۲ | ۰/۲۳ | ۰/۳۵ | ۰/۳۵ |
| ۰/۵۸ | ۰/۱۹ | ۰/۴۲ | ۰/۵۰ | ۰/۶۱ | ۰/۳۶ | ۰/۵۱ | شانون |

جدول ۴- مقادیر شاخص نی (Nei) و شانون برای جمعیت‌های مطالعه شده بر اساس نشان‌گر (AGAC)₄GC

| شهرستان | | | | | | | شاخص |
|---------|--------|------|-----------|-------|------|--------|----------|
| کل | بردسیر | راین | فلو جیرفت | کرمان | راین | بردسیر | نی (Nei) |
| ۰/۳۵ | ۰/۱۸ | ۰/۲۷ | ۰/۳۳ | ۰/۴۶ | ۰/۲۶ | ۰/۳۵ | ۰/۳۴ |
| ۰/۵۳ | ۰/۲۷ | ۰/۴۱ | ۰/۴۶ | ۰/۳۹ | ۰/۵۱ | ۰/۵۲ | شانون |



شکل ۴- درخت فیلوزنی حاصل از تجزیه خوش‌های مبتنی بر روش UPGAM (AC)₈G بر اساس نشان‌گر (AC)₈G جمعیت جیرفت، pop1، pop3، pop5، pop6 جمعیت کرمان، pop2، pop4 جمعیت راین، pop6 جمعیت بردسیر.



شکل ۵- درخت فیلوزنی حاصل از تجزیه خوش‌های مبتنی بر روش UPGAM (AGAC)₄GC بر اساس نشان‌گر (AGAC)₄GC جمعیت جیرفت، pop2، pop5، pop6 جمعیت کرمان، pop3، pop4 جمعیت راین، pop6 جمعیت بردسیر.

عسل این استان، دلیلی بارز بر تفاوت درون جمعیتی بوده که این تفاوت‌ها از هم‌جواری با کلندی‌های مختلف و شرایط حاکم بر زنبورستان‌های موجود در هر جمعیت نشأت گرفته است.

براساس نتایج کلیه معیارهای ژنتیکی انجام شده در این بررسی، می‌توان نتیجه گرفت که توده‌های زنبور عسل این استان دارای تنوع می‌باشند، ولی این تنوع ژنتیکی متوسط است. نتایج حاصل از فاصله ژنتیکی به دست آمده در بین جمعیت‌های زنبورهای

منابع

1. Beekman, M., J. Komdeur and F.L.W. Ratnieks. 2003. Effect of inbreeding on Dorian Pritchard colonies. Original Research Article Trend in Ecology & Evolution, 5: 277-282.
2. Lord, E.A., G.H. Davis, K.G. Doods, H.M. Henry, J.M. Lumsden and G.W. Montogomery 1998. Identification of Booroola carriers using microsatellit markers. 6th world congress of Genetics Applied to livestock production. Armidale, NSW, Australia, 27: 19-27.
3. Mohammad Abadi, M.R., T.A. Kovalenko, M.R. Nasiri and G.E. Sulimova. 2005. Inter simple Sequence Repeat (ISSR-PCR) for the identification of polymorphism in some native cattle breed. Proceedings of 3rd Moscow international congress Biotechnology. Moscow Russia March, 14-18: 282.
4. Mohammadabadi, M.R. and N. Askari. 2012. Characterization of Genetic structure using ISSR-PCR markers cattle, goat and sheep populations. LAMBERT Publication, Germany, 120 pp.
5. Paplauskien , V., V. eksteryt , I. Pašakinskien , D. Tamašauskien and J. Ra ys. 2006. The use of ISSR method for the assessment of bee genetic diversity. Biologija, 3: 16-20.
6. Rinderer, T.E., J.H. Harris, G.J. Hunt and L.I. De Guzman. 2010. Breeding for resistance to Varroa destructor in North America. Apidologie, 32: 381-394.
7. Smit, M. 1990. The origin of inbreeding depression in honey bee (*Apis mellifera*). Journal of Apicultural Research, 25: 146-153.
8. Tarpy, D.R. 2003. Genetic diversity within honey bee colonies prevents several infections and promotes colony growth. Proceedings of the Royal Society of London, 4: 99-103.
9. Ting Ji, L., Y. Ling and C. Guohong. 2011. Genetic diversity and population structure of Chinese honeybee (*Apis mellifera*) under microsatellite markers. African Journal of Biotechnology, 10: 1712-1720.
10. Triapitsyna, N.V. and V.I. Glazko. 2005. Polymorphism of DNA. Fragments Flanked by microsatellite loci (ISSR-PCR) in Cattle reproduced under low-dose irradiation condition Tisitol-Genet, 39: 41-50.
11. Zahri, S., A. Asghari and M. Dadkhah. 2013. Morphologic and microsatellite genetic variation of honeybee populations in Ardabil. Cellular and Molecular Research Journal, 26: 462-471.
12. Zietkiewicz, E., A. Rafalski and D. Labuda. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. Genomics, 20: 176-183.

Study of Genetic Diversity in Honey Bee Populations in Kerman Province using ISSR Markers

**Yaser Bahador¹, Mohammadreza Mohammadabadi², Amin Khezri³, Mahdieh Asadi³
and Leila Medhati⁴**

1 and 3- M.Sc. Student and Assistant Professor, Shahid Bahonar University of Kerman

2- Associate Professor, Shahid Bahonar University of Kerman

(Corresponding author: mmohammadabadi@yahoo.com)

4- Expert, Standard and Research Center of Kohkiloueh and Bouyerahmad

Received: August 12, 2014

Accepted: January 5, 2015

Abstract

The aim of this study was assessment of genetic diversity for honey bee populations in Kerman province using two inter simple sequence repeat (ISSR) primers. In this study, 30 samples from 6 populations (Kerman, Jiroft, Raein, Rabor, Bardsir and Flo) were collected. While using (AC)₈G and (AGAC)₄GC primers in PCR, DNA profiles of bees were found to possess 16 polymorphic fragments. The number of fragments produced in the DNA profiles of different bee cities varied from 2 to 8, with their sizes varying within 150-1000 bp. Means of Shanon Index based on (AC)₈G marker for Jiroft, Kerman, Flo (Native bee of Jiroft) Rayen, Rabor and Bardsir honey bee population were 0.51, 0.36, 0.50, 0.61, 0.42 and 0.19 respectively and based on (AGAC)₄GC marker in Jiroft, Kerman, Flo (Native bee of Jiroft) Rayen, Rabor and Bardsir honey bee population were 0.52, 0.51, 0.46, 0.39, 0.41 and 0.27 respectively. A cluster analysis was carried out using unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA) and dendrogram illustrated genetic relationships among 30 individuals in six populations. Haplotypes were constructed computationally and frequencies were compared in each population. Based on all studied genetic criteria, we can conclude that honey bee populations in Kerman have moderate amount of genetic diversity. The results of this study can provide the basic molecular information for future research on native honey bees using ISSR markers.

Keywords: Haplotype, ISSR markers, Native Honey Bee, Polymorphism, UPGMA Dendrogram