بررسی تنوع ژنتیکی بین لاین های زیره سبز ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی AFLP

منصوره کرمانی- حسن مرعشی- محمدرضا نصیری- عباس صفرنژاد- فرج‌الله شهریاری[1]

تاریخ دریافت ۸۵/۱۱/۱۶

چکیده

زیره سبز(*Cuminum cyminum*)، یک گونه داروئی مهم و ارزشمند است که بومی قسمتهای مرکزی و جنوبی آسیا می باشد. در این مطالعه، از نشانگرهای مولکولی AFLP برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ۲۰ لاین زیره سبز ایران استفاده شد. با استفاده از ۸ ترکیب آغازگری(*EcoRI/MseI*)، ۲۲۲ باند قابل امتیاز دهی ایجاد شد که ۵۱ عدد از آنها (۲۳٪) چند شکل بودند. بیشترین تعداد باند چند شکل (۱۳ باند) با استفاده از ترکیب آغازگری (E-ACG/M-CGG) و کمترین تعداد باند چند شکل (۲ عدد) با استفاده از ترکیب آغازگری (E-ACT/M-CGG) تولید شد. محتوای اطلاعاتی چند شکل برای هر جفت آغازگر بین ۰/۲۰ تا ۰/۴۵ متغیر بود. همچنین فاصله ژنتیکی بین جفت نمونه ها نیز بین ۰/۰۸ تا ۰/۹۸ بود. دندروگرام ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA، چهار گروه اصلی را در بین ۲۰ لاین زیره سبز مشخص کرد که تجزیه چند بعدی نیز آنرا تأیید نمود. در این پژوهش، سطح پایینی از چند شکلی (۲۳٪) بین ژنوتیپ های زیره سبز برآورد گردید که می تواند بدین دلیل باشد که: این لاین ها بر اساس بالاترین عملکرد، از بین ۱۰۰ لاین موجود در کشور انتخاب شده بودند و از آنجایی که اکثر آنها به استان خراسان و استانهای هم جوار آن متعلق بودند، سطح پایین چند شکلی را می توان به فواصل کم جغرافیایی بین آنها نسبت داد.

واژه های کلیدی: زیره سبز، نشانگر AFLP، تنوع ژنتیکی، دندروگرام

مقدمه

زیره سبز(*Cuminum cyminum*)، گیاهی یکساله از خانواده چتریان (Apiaceae) است که برای تولید میوه های خشک کشت می شود. این گیاه، گونه ای داروئی و یکی از قدیمی ترین و مهمترین گونه های اقتصادی است که از لحاظ صادرات، درآمد، و نیز افزایش بهره وری و احیاء زمین های مناطق خشک و نیمه خشک و استفاده اندك از آب حائز اهمیت است. این گیاه که بومی مناطق جنوبی و مرکزی آسیا است، به کشورهای زیادی مانند امارات، پاکستان، ژاپن، آلمان، هلند و آمریکا صادر می شود و مصارف داروئی، غذایی و صنعتی فراوانی دارد. در کشور ما رقم اصلاح شده ای از زیره سبز وجود ندارد و توده های بومی مناطق مختلف کشت می شوند و علیرغم اینکه استان خراسان با ۹۰٪ تولید زیره سبز کشور مقام اول را داراست، اما روی جنبه های به زراعی آن پژوهش های کمتری صورت گرفته است(۴).

هدف اصلی در اصلاح گیاهان افزایش عملکرد آنها می باشد و برای افزایش عملکرد می توان از پدیده هتروزیس استفاده کرد. برای دستیابی به نتاج هتروزیس باید انتخاب والدین بطور صحیح انجام گیرد و نمونه هایی که دورترین فاصله ژنتیکی را با هم دارند، تا جایی که از لحاظ کروموزومی و ژنتیکی همولوژی خود را از دست ندهند، انتخاب شوند. بنابراین با استفاده از بررسی تنوع ژنتیکی و اندازه گیری فاصله ژنتیکی بین نمونه ها می توان به چنین هدفی دست یافت(۱۰). بنظر می رسد در زیره سبز نیز می توان با بهره گیری از این تنوع و تولید ارقام اصلاح شده، عملکرد در واحد سطح را افزایش داد.

بررسی روابط ژنتیکی میان توده ها و لاین های زیره سبز، قبلاً با استفاده از صفات مورفولوژیک(۱ و۵)، تنوع برای عکس العمل به شوری(۷)، و نیز عملکرد و صفات رشدی(۶) انجام شده بود. درباره استفاده از نشانگرهای مولکولی در زیره سبز گزارشهای کمی وجود دارد. فقط دو مطالعه بر روی رابطه تکاملی

۱- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیاران گروه بیوتکنولوژی، و گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مشهد استادیار گروه بیوتکنولوژی دانشگاه فردوسی مشهد

بین اعضای خانواده چتریان (از جمله جنس *Cuminum*) با استفاده از تنوع در توالی نوکلئوتیدی منطقه ITS[1] (DNA ریبوزومی) (۸) و نیز تنوع در مکانهای برشی DNA کلروپلاستی (cpDNA) (۱۱) صورت گرفته است. در گیاهان هم خانواده زیره سبز از جمله هویج نیز از نشانگرهای RAPD و AFLP برای بررسی تنوع ژنتیکی بین واریته های مختلف (۱۳) و در *Eryngium alpinum* (*Apiaceae*) از نشانگرهای AFLP و میکروستلایت برای بررسی تنوع و ساختارهای ژنتیکی جمعیت ها استفاده شده است (۹).

از آنجایی که ارزیابی بر اساس فنوتیپ یا صفات قابل اندازه گیری، بدلیل تأثیر عوامل محیطی بر بروز این صفات، سودمندی انتخاب را در برنامه های به نژادی کاهش می دهد، لذا استفاده از نشانگرهای مولکولی برای بررسی تنوع ژنتیکی و اندازه گیری فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ های زیره سبز، برای اهداف اصلاحی آینده ضروری بنظر می رسد.

نشانگر AFLP یکی از انواع نشانگرهای مبتنی بر PCR است که ترکیبی از RFLP و RAPD بوده و شامل هضم DNA ژنومی با آنزیم های برشی خاص و اتصال رابط های چند نوکلئوتیدی کوتاه به انتهای قطعات برش یافته و سپس تکثیر PCR قطعات می باشد. این تکنیک تفاوت در قطعات برش یافته ژنومی را آشکار می کند و از این نظر شبیه RFLP است. با این تفاوت که برای آشکار سازی قطعات بجای ساترن بلاتینگ از تکثیر بوسیله PCR استفاده می شود. AFLP حساسیت بسیار زیادی در آشکار سازی چند شکلی در سراسر ژنوم دارد و بدلیل قابلیت تکرار پذیری بالا بر RAPD ارجحیت دارد. همچنین بدلیل عدم نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ژنوم مورد مطالعه و نیز سرعت و درجه اطمینان بالا، این روش امروزه بطور وسیعی برای تهیه نشانگرهای چند شکل استفاده می شود (۳). از آنجایی که این تکنیک برای تعیین تنوع ژنتیکی در گیاهان کارایی بالایی دارد، فرض بر این است که بتوان از آن در بررسی تنوع و گروه بندی نمونه های مختلف زیره سبز استفاده کرد.

مواد و روشها

در این مطالعه از ۲۰ لاین مختلف زیره سبز که توسط خاوری و همکاران طی سالهای ۱۳۷۵ تا ۱۳۸۰ خالص شده بودند، استفاده شد(۲). استخراج DNA ژنومی از گیاهچه های ۲-۳ هفته ای با استفاده از روش CTAB مخصوص گیاهان دارویی (۱۲) انجام گردید. کمیت و کیفیت DNA بدست آمده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و نیز اسپکتروفتومتری تعیین گردید. تکنیک AFLP بر اساس روش وس و همکاران (۱۹) با اندکی تغییرات صورت گرفت. ۵۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی با ۵ واحد از آنزیمهای محدودگر *Eco*RI و *Tru*9I (ایزوشیزومر آنزیم *Mse*I) تهیه شده از شرکت SibEnzyme روسیه هضم گشته و آداپتورهای *Eco*RI و *Mse*I بمدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷°C به انتهای قطعات برش یافته متصل شدند.

تکثیر قطعات متصل شده به آداپتورها طی دو مرحله انجام گرفت. ابتدا نمونه های حاصل از مرحله قبل به نسبت ۱ : ۵ رقیق شدند و با آغازگرهای *Eco*RI و *Mse*I دارای یک نوکلئوتید انتخابی در انتهای ´۳ (E-A/M-C) با توالی ´۵, GACTGCGTACCAATTC+A-´۳) مورد تکثیر پیش انتخابی قرار گرفتند. محصولات حاصل از این مرحله به نسبت ۱ : ۲۰ رقیق شدند و با ۸ جفت آغازگر دارای ۳ نوکلئوتید انتخابی در انتهای ´۳ (جدول ۱) تحت چرخه حرارتی Touch down تکثیر گردیدند.

برای مشاهده الگوی باندی از ژل پلی اکریلامید واسرشت ۶٪

جدول(۱) ترکیب های آغازگری مورد استفاده در تکثیر انتخابی با ۳ نوکلئوتید در انتهای ´۳

ترکیب آغازگری	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
آغازگرهای E+NNN	E+ACG	E+ACG	E+AGC	E+ACG	E+ACT	E+AGT	E+AGC	E+AGT
آغازگرهای M+NNN	M+CAA	M+CGA	M+CGA	M+CGG	M+CGG	M+CTC	M+CCG	M+CCG

1) Internal Transcribed Spacer region

(۱۹) و رنگ آمیزی ژل به روش نیترات نقره (۱۵) استفاده شد و از الگوی باندی بدست آمده عکسبرداری صورت گرفت.

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات DNA، امتیاز دهی باندها به صورت (۱) و (۰) به ترتیب برای حضور و عدم حضور باند انجام شد. باندهای مبهم و داده های از دست رفته نیز بصورت نقطه (.) مشخص گردیدند. داده ها پس از ورود به نرم افزار Excel جهت تجزیه و تحلیل به نرم افزار Popgene32 (۲۰) منتقل شدند. ماتریس فاصله ژنتیکی با استفاده از فرمول نی (۱۴) بین تمام لاین ها محاسبه گردید و تجزیه خوشه ای[1] با روش UPGMA[2] صورت گرفت. همچنین با استفاده از ماتریس فاصله ژنتیکی، تجزیهٔ چند بعدی (MDS[3]) توسط نرم افزار Statistica (۱۶) انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیهٔ AFLP ۲۰ لاین زیره سبز ایران با استفاده از ۸ جفت آغازگر، مجموعاً ۲۲۲ باند قابل امتیاز دهی ایجاد کرد که اندازه آنها در محدوده ۴۰ bp تا ۱۰۰۰ بود (شکل ۱). در این بین ۵۱ باند، چند شکلی نشان دادند (۲۳٪). میانگین تعداد باندهای تکثیر شده به ازای هر جفت آغازگر ۲۷/۷۵ و میانگین تعداد باندهای چند شکل به ازای هر جفت آغازگر ۶/۴ بود. در این میان، ترکیب آغازگری (E-ACG/M-CGG) دارای بیشترین تعداد باند چند شکل (۱۳ باند) و ترکیب آغازگری (E-ACT/M-CGG) دارای کمترین تعداد باند چند شکل (۲ عدد) بود.

متوسط تعداد آلل مؤثر در هر لوکوس (Ne) برای تمام ترکیبات آغازگری ۰/۲۷۶۸ ± ۱/۵۵۷۵ بود. همچنین محتوای اطلاعاتی چند شکل (PIC[4]) بر اساس داده های بدست آمده از هر جفت آغازگر بین ۰/۲ تا ۰/۴۵ متغیر بود. کمترین مقدار PIC برای ترکیب آغازگری (E-ACG/M-CGG) و بیشترین مقدار PIC برای ترکیب آغازگری (E-ACT/M-CGG) محاسبه شد. به طور کلی از میان ۵۱ باند چند شکل، فقط ۲۹ عدد از باندها PIC ≤ ۰/۳ داشتند. بعبارت دیگر فقط ۱۳٪ از ۲۲۲ باند AFLP، بطور معنی داری در تمایز ژنتیکی بین نمونه ها شرکت داشتند.

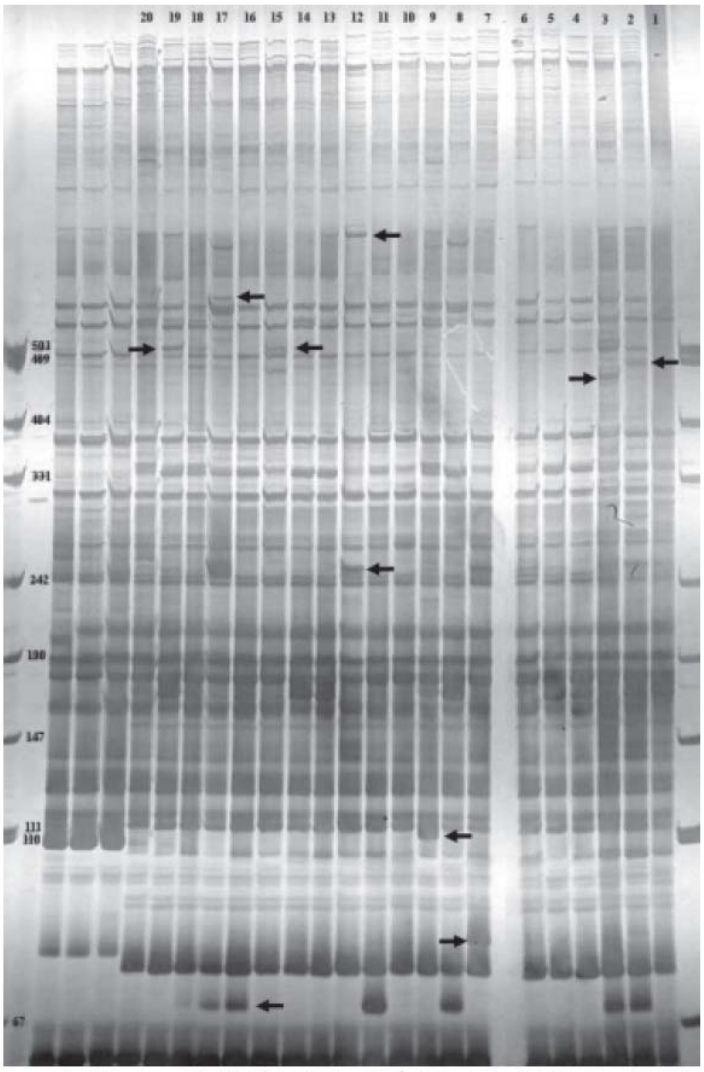
فاصله ژنتیکی جفت نمونه ها بین ۰/۸ تا ۰/۹۸ متغیر بود. جفت نمونه های cm_{70} و cm_{85} و همچنین cm_{72} و cm_{56} در کمترین فاصله ژنتیکی نسبت به هم (۰/۰۸۱) و نمونه های cm_{72} و cm_{33} در دورترین فاصله نسبت به هم (۰/۹۸) قرار داشتند (در شکل شماره ۲ نام منطقه ای که منشأ تولید لاین ها بوده و همچنین علامت اختصاری آنها ذکر شده است).

دندروگرام ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA در فاصله ژنتیکی ۷۵٪، چهار گروه اصلی را در بین ۲۰ لاین زیره سبز مشخص کرد (شکل ۲) که نمودار دو بعدی حاصل از MDS نیز آن را تأیید نمود (نمودار ۱). در گروه اول و دوم، که اکثر اعضا مربوط به استان خراسان هستند، اعضای مربوط به خارج از استان خراسان (cm_{61} با منشأ شاهرود در گروه اول و cm_{59} و cm_{73} با منشأ اصفهان و یزد در گروه دوم) در دورترین فاصله نسبت به سایرین قرار داشتند. از آنجایی که منشأ لاین های مورد مطالعه، توده های بومی بوده است که با روش انتخاب لاین خالص تولید شده بودند، انتظار می رفت که میان پراکنش جغرافیایی توده های بومی که منشأ این لاین ها بوده اند، با فواصل ژنتیکی لاین ها ارتباطی منطقی برقرار شود. اما مشاهده گردید که لاین هایی با منشأ استان خراسان، همگی با هم در یک گروه قرار نگرفته اند و بعضاً با لاین هایی هم گروه شده اند که منشأ آنها خارج از استان خراسان می باشد. این مسئله می تواند بدین دلیل باشد که غالباً توده های بذری که در دست کشاورزان هستند، از منطقه ای به منطقه دیگر منتقل می شوند و کشاورزان بدون اطلاع از منشأ و منطقه بومی آن بذور، اقدام به کشت آنها می کنند. بنابراین نمی توان بطور قطع گفت که مثلاً توده فردوس، در طی سالهای متمادی واقعاً در فردوس کشت می شده است.

مقایسهٔ شاخص های تنوع (درصد باندهای چند شکل و محتوای اطلاعاتی چند شکل) بدست آمده در مطالعهٔ حاضر با پژوهش های سایرین که روی گیاهان هم خانوادهٔ زیره سبز (Apiaceae) و نیز سایر گیاهان انجام شده بود، نکات زیر را در برداشت:

در مطالعه ای بر روی ۱۲ جمعیت ***Eryngium alpinum*** (***Apiaceae***)، درصد باندهای چند شکل در هر جمعیت از

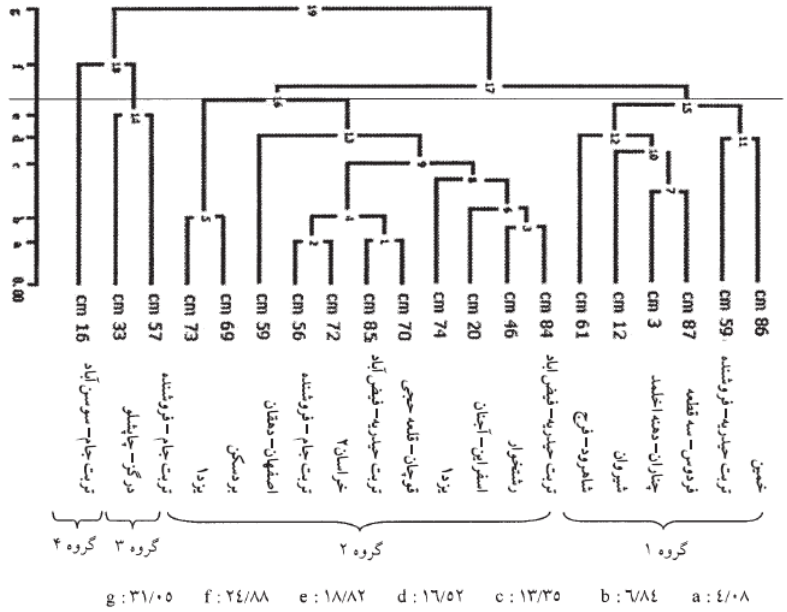
1) Cluster Analysis
2) Unweighted pair- group method with arithmetic averaging
3) Multi Dimensional Scaling
4) Polymorphic Information Content



شکل(۱) پروفیل AFLP تهیه شده با ترکیب آغازگری E-AGT/M-CCG مربوط به ۲۰ لاین زیره سبز

۳۹/۷ تا ۶۵/۱٪ متغیر بود (۹)؛ در حالی که در بررسی حاضر، این عدد ۲۳٪ بود.

محتوای اطلاعاتی چند شکل (PIC) در پژوهشی بر روی ۲۵ رقم موز دارای میانگین ۰/۲۴ (۱۸)؛ و در مطالعه ای دیگر بر روی ارقام سویا دارای میانگین ۰/۱ برای تمام لوکوس ها بود (۱۷). در حالی که میانگین PIC در پژوهش حاضر، ۰/۳۱ بود.

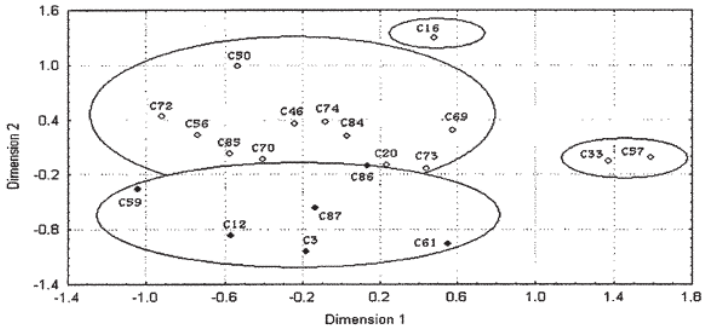


شکل(۲) دندروگرام بدست آمده از روش UPGMA برای ۲۰ لاین زیره سبز با استفاده از نشانگرهای AFLP (به همراه نام منطقه ای که منشأ تولید این لاین ها بوده است).

این مقایسات نشان داد که در این پژوهش، درصد چند شکلی پائینی از ۸ جفت آغازگر AFLP بدست آمده است که می تواند نشان دهندهٔ پایین بودن سطح تنوع ژنتیکی میان ژنوتیپ ها باشد. اما همان تعداد کم باندهای چند شکل، بخوبی توانسته اند از عهده تمایز ژنتیکی و تفکیک بین ژنوتیپ های زیره سبز برآیند. لازم به ذکر است که نمودار دو بعدی حاصل از MDS نیز بخوبی سطح پایین تنوع بین لاین های زیره سبز (بخصوص بین گروه اول و دوم) را نشان می داد (نمودار ۱).

این تنوع کم را ممکن است بتوان اینگونه تفسیر کرد: خاوری و همکاران در سالهای زراعی ۱۳۷۵ تا ۱۳۸۰، با انتخاب ۱۴۷ توده زیره سبز از سرتاسر کشور، ۱۰۰ لاین خالص بدست آورده بودند(۲) که ۲۰ عدد از این لاین ها حائز بیشترین عملکرد شده اند و این ۲۰ لاین، متعلق به استان خراسان (رضوی، شمالی، جنوبی) و استانهای همجوار آن (اصفهان، یزد، سمنان) بوده اند. بعبارت دیگر، ژنوتیپ های متعلق به استان خراسان دارای بیشترین پتانسیل عملکرد در کشور بوده اند و از آنجایی که در پژوهش ما نیز از همان ۲۰ لاین استفاده شد، ممکن است بتوان سطح پایین چند شکلی را به فواصل کم جغرافیایی بین آنها نسبت داد. همچنین خاوری و باقری در سال زراعی ۷۹-۸۰ اقدام به مقایسه میانگین عملکرد ۲۰ لاین انتخاب شدهٔ زیره سبز در ۴ منطقه مشهد، گناباد، اسفراین و تربت حیدریه نمودند که نمونه های cm_{57} و cm_{33} و cm_{16} به ترتیب حائز کمترین عملکرد در بین ۲۰ لاین مورد مطالعه گردیدند (۲)؛ این سه ژنوتیپ، در مطالعه ما نیز دو گروه ۳ و ۴ را تشکیل دادند که در دورترین فاصله نسبت به سایرین قرار داشتند.

بطور کلی این پژوهش نشان داد که هر چند گیاهان مورد مطالعه ما، با نام لاین از هم جدا شده اند ولی اغلب آنها از نظر ژنتیکی بسیار بهم نزدیک می باشند و اگر بخواهیم از این تنوع برای بدست آوردن هتروزیس بهره بگیریم، بهتر است از ژنوتیپ های مناطق دیگر کشور و حتی ژنوتیپ های خارجی نیز استفاده کنیم.



نمودار(۱) نمودار دو بعدی حاصل از MDS بر روی ۲۰ لاین زیره سبز با استفاده از داده های AFLP

منابع

۱. بالندری، ا. ۱۳۷۱. گردآوری و برسی خصوصیات بوتانیکی توده های محلی زیره سبز ایران. سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده خراسان.

۲. خاوری خراسانی، س. و باقری، ع. ۱۳۸۱. گزارش نهایی طرح «بررسی پتانسیل توده های بومی زیره سبز ایران و خالص سازی آنها به منظور دستیابی به ارقام مطلوب». طرح مشترك بین دانشگاه فردوسی مشهد و سازمان تحقیقات و آموزش وزارت جهاد کشاورزی. ۴۰ صفحه.

۳. چاولا. اچ. اس. اصول بیوتکنولوژی گیاهی. (ترجمه فارسی، م. و ذوالعلی، ج.) ۱۳۸۲. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

۴. کافی، م. راشد محصل، م. ح. کوچکی، ع. و ملافیلابی، ع. ۱۳۸۱. زیره سبز فناوری تولید و فرآوری. انشارات دانشگاه فردوسی مشهد

5. Avatar, R. Dashora, S. L. Sharma, R. K. and Sharma, M. M. 1991. Analysis of genetic divergence in cumin (*Cuminum cyminum* L.). Indian Journal of Genetics and Plant Breeding 15: 289-291.
6. Baswana, K. S. Pandita, M. L. and Malik, Y. S. 1983. Genetic variability studies in cumin (*Cuminum cyminum* L.). Haryana Agriculture University Journal of Research 13: 596-598.
7. Dhayal, L. S. Bhargava, S. C. and Mahala, S. C. 1999. Studies on variability in cumin (*Cuminum cyminum* L.) on normal and saline soil. Journal of Spices and Aromatic Crops 8: 197-199.
8. Downie, S. R. Katz-Downie, D. S. and Spalik, K. 2000. A phylogeny of Apiaceae tribe Scandiceae: evidence from nuclear ribosomal DNA: internal transcribed spacer sequences. American Journal of Botany 87: 76-95.
9. Gaudeul, M. Till-Bottraud, I. Barjon, F. Manel, S. 2004. Genetic diversity and differentiation in *Eryngium alpinum* L. (Apiaceae): comparison of AFLP and microsatellite markers. Heredity 92: 508-518.
10. Kumar, L. S. 1999. DNA markers in plant improvement: An overview. Biotechnology Advances

17: 143-182.

11. Lee, B. Y., Dowine, S. R. 2000. Phylogenetic analysis of cpDNA restriction sites and rps16 intron sequences reveals relationships among Apiaceae tribes Caucalideae, Scandiceae and related taxa. Plant Systamatics and Evolution 221: 35-60.
12. Michiels, A. Ende, W. V. D. Tucker, M. Riet, L. V. and Laere, A. V. 2003. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. Analytical Biochemistry 315: 85-89.
13. Nakajima, Y., K. Oeda, and T. Yamamota. 1998. Characterization of genetic diversity of nuclear and mitochondrial genomes in *Daucus* varieties by RAPD and AFLP. Plant Cell reports 17: 848-853.
14. Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 87: 583-590.
15. Sanguinetti, C. J. Dias Neto, E. and Simpson, A. J. G. 1994. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. Biotechniques 17: 915-919.
16. StatSoft, I. 1995. STATISTICA (data analysis software system). Version 5.5. http://www.statsoft.com.
17. Ude, G. N. Kenworthy, W. J. Costa, J. M. Cregan, P. B. and Alvernaz, J. 2003. Genetic diversity of soybean cultivars from China, Japan, North America, and North American ancestral lines determined by amplified fragment length polymorphism. Crop Science 43: 1858- 1867.
18. Ude, G. N. Pillary, M. Ogundiwin, E. and Tenkouano, A. 2003. Genetic diversity in an African plantain core collection using AFLP and RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 107: 248- 255.
19. Vos, P. Hogers, R. Bleeker, M. Reijans, M. Lee, T. V. D. Hornes, M. Frijters, A. Pot, J. Peleman, J. Kuiper, M. and Zabeau, M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research 23: 4407-4414.
20. Yeh, F. C. Yang, R. C. and Boyle, T. 1999. POPGENE, the User- Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada. http://www.ulberta.ca/~fyeh/.

Study of genetic variation of Iranian cumin lines (*cuminum cyminum*) using AFLP markers

M. Kermani – H. Marashi – M. R. Nasiri – A. Safarnejad – F. Shahriari[1]

Abstract

Cumin (Cuminum cyminum) is an important and valuable medicinal species that is native of central and south Asia. In this study, AFLP markers were used to evaluate the genetic variation among 20 lines of Iranian cumin. The 8 primer combinations (EcoRI/MseI) produced 222 scorable bands of which 51 (23%) were polymorphic. The largest number of polymorphic bands (13) were produced using primer combination EcoRI-ACG / MseI-CGG, and the lowest number of polymorphic bands (2) were produced with EcoRI-ACT / MseI-CGG. The polymorphic information content for each primer combination was ranged from 0.20 to 0.45. Also the pair-wise genetic distance was from 0.081 to 0.98. The dendrogram constructed using UPGMA method, distinguished 4 main groups among 20 lines of cumin which was also confirmed by multi dimensional analysis.

Key words: Cuminum cyminum, AFLP marker, Genetic variation, Dendrogram

1- Contribution from College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, and Agricultural and Natural Resources Research Center of Mashhad.