

بخش اول: جمع آوری و نگهداری مواد گیاهی

ابتدا، نمونه های گیاهی از شانزده منطقه مختلف استان لرستان جمع آوری و در مرحله بعد مرکز تحقیقات منابع طبیعی استان لرستان و همچنین پژوهشکده علوم گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی تعیین هویت گردید و سپس غده ها تا انجام آزمایشات بعدی در یخچال و دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

بخش دوم: بررسی مزرعه ای

غده های آلیوم در آذرماه ۱۳۸۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سه تکرار، در هر ردیف ۴ غده از هر اکوتیپ خاص به طور تصادفی انتخاب و سپس با فاصله ۲۰ سانتی متر روی ردیف و ۳۵ سانتی متر بین ردیف کشت شدند.

پس از رویش از سطح خاک، اطلاعات مورفولوژیکی از قبیل طول برگ، عرض برگ، ارتفاع ساقه گلدهنده، تعداد برگ، وزن متوسط غده ها در بوته، تعداد غده در بوته، مدت زمان کاشت تا سبز شدن و مدت زمان کاشت تا گل دهی، در هر بوته اندازه گیری شدند.

بخش سوم: بررسی مولکولی با تکنیک RAPD

الف) کشت در گلخانه: در فروردین ماه ۱۳۸۵ تعداد دو غده از هر اکوتیپ به طور تصادفی انتخاب و در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، در گلدان کشت شدند و پس از رویش از سطح خاک و پس از حدود ۱۰ روز برگهای جوان چیده شده و سریعاً در داخل یخ به آزمایشگاه بیوتکنولوژی پژوهشکده بوعلی محل انجام آزمایشات مولکولی، منتقل گردید و در فریزر و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

ب) استخراج DNA: با روش Doyle and Doyle یا Hot CTAB، DNA ها استخراج و پس از استخراج با دستگاه UVTECH، مشاهده گردیده و عکس برداری شدند. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری کیفیت DNA بررسی شد و نسبت جذب ۲۶۰/۲۸۰ اکثر DNA ها بین ۲-۱/۸ بودند که نشان از کیفیت خوب DNA استخراج شده از لحاظ عدم آلودگی به پروتئین و یا DNA و پلی ساکاریدها و ... بود.

ج) PCR: با کمک ۲۰ آغازگر ساخت دانشگاه بریتیش کلمبیا که ۱۶ تا از آنها چند شکلی خوبی نشان دادند و براساس روش آدامز (۱۹۹۸)، PCR انجام گردید و پس از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ در صد و عکسبرداری از ژل ها، با نرم افزار (NTSYS 2/02) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و براساس الگوریتم UPGMA دندروگرام رسم گردید.

بخش چهارم: بررسی فیتوشیمیایی

از آنجا که اکثر ترکیبات شیمیایی آلیوم ها ترکیبات گوگردی بوده و چیزی حدود ۷۰٪ این ترکیبات را هم آلیسین تشکیل می دهد لذا بررسی فیتو شیمیایی بر روی درصد آلیسین در اکوتیپ های مختلف انجام گردید و عصاره موجود در غده های گیاهان به روش بریتیش فارماکوپه, با مقداری تغییرات استخراج و با روش کاهش جذب در طول موج ۳۲۴ نانومتر و پس از اختلاط با ماده ای به نام ۴- مرکاپتو پیریدین میزان آلیسین اندازه گیری شد.

نتایج حاصل از بررسی مورفولوژیک

پس از ترسیم دندروگرام با کمک نرم افزار SAS شش گروه مختلف مورفولوژیک بدست آمد که تنوع موجود در آنها ارتباط زیادی با تنوع جغرافیایی نداشت. تجزیه واریانس و آزمون دانکن، اختلاف معنی داری را در بین بعضی صفات در اکوتیپ ها نشان داد.