اولین همایش بین المللی وچهارمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار
The first international and the fourth notional conference of Medical Herbs and Stable Agriculture

ارزیابی تنوع ژنتیکی اکوتیپ های بادرنجبویه(*Melissa officinalis* L.) با استفاده از نشانگر RAPD

مهدیه احمدیان یزدلی[1و3]، **دکتر علاءالدین کردنائیج**[2]، **دکتر داریوش طالعی**[3] ، **دکتر آیت الله رضایی**[2]، **امیدرضا فرقانی اله آبادی**[1]

[1]دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران m.ahmadian@shahed.ac.ir
[2]استادیارگروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه شاهد، تهران، ایران a_kordenaeej@Yahoo.com
[3]استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد، تهران، ایران d.talei1348@gmail.com

چکیده

در پژوهش حاضر تنوعژنتیکیدرونوبین 15تودهطبیعی ازگیاه دارویی بادرنجبویه(*Melissa officinalis* L.) با کمک 15 نشانگر RAPD مورد مطالعه قرارگرفت. از مجموع 107 نوار ایجاد شده، 82 نوار چند شکلی حاصل شد و درصد چندشکلی 76٪ بدست آمد. شاخص های تنوع ژنتیکی شامل میانگین تنوع ژنتیکی نی و میانگین شاخص شانون به ترتیب 0/31 و 0/46 محاسبه شدند. میانگین محتوای اطلاعات چند شکلی(PIC) و شاخص نشانگر(MI) به ترتیب برابر با 0/24 و 0/9 بدست آمد.بر اساس نتایج حاصل ازتجزیه و تحلیل خوشه ای، توده ها در 4گروه اصلی طبقه بندی شدند. گروه بندی بر اساس داده های مولکولی انطباق خوبی با گروه بندی جغرافیایی داشت. در تجزیه به مولفه های اصلی سه مولفه اول و دوم و سوم69.73٪از تغییرات را توجیه کردند. نتایج بدست آمده می تواند در گزینش ارقام مطلوب مورد استفاده قرار گیرد به عبارت دیگر می توان از اکوتیپ هایی با فاصله ژنتیکی بیشتر به منظور تلاقی جهت تولید نسل های در حال تفرق، جمعیت های پایه برای مکان یابی ژن ها و بهره مندی از پدیده هتروزیس استفاده کرد.

واژه‌های‌کلیدی: بادرنجبویه، تجزیه خوشه ای، تنوع ژنتیکی ،نشانگرهای مولکولی، RAPD

مقدمه

گونه های گیاهی موجود در تیره Lamiaceae بالغ بر 4000 گونه بوده که در 200 جنس جای داده شده اند. در میان تمام خانواده های گیاهی نعناعیان دارای بیشترین گونه های گیاهی دارویی می باشند. از جمله گیاهان این خانواده، بادرنجبویه می باشد که خواص بسیار زیادی نظیر خاصیت مسکن، تب بر، ضد نفخ، ضد ویروس و ضد قارچ دارد. روغن های ضروری (اسانس ها) این گیاه بعنوان عوامل ضد تشکیل تومور شناخته شده اند (حیدری و همکاران 1393). در ایران این گیاه بطور گسترده ای در تهران، گلستان، آذربایجان، کرمانشاه و لرستان رشد می کند (زرگری 1369). سه زیر گونه M. officinalis وجود دارد که شامل زیر گونه officinalis، زیرگونه inodora و زیرگونه altissima می باشند. با وجود این، تنها زیرگونهofficinalis دارای ارزش تجاری است (Craker & Simon 1992). تنوع ژنتیکی بر اساس آنالیز های شجره نامه‌ای و با استفاده از روش‌های گوناگون شامل (نشانگرهای) مورفولوژیک،نشانگرهای بیوشیمیایی و مولکولی می تواند برآورد شود(Chahal & Gosal,2002). در سالهای اخیر گونه های دارویی که طی برنامه های اصلاحی ثبت و معرفی شده اند افزایش یافته است. بهبود میزان مواد موثره و فعالیت بیولوژیک این گیاهان از جمله اهداف مهم در برنامه های اصلاحی می باشد(Pank 2007). اطلاع از وضعیت تنوع ذخایر زیستی و رابطه فیلوژنی جمعیت ها گام اولیه و اساسی در بهنژادی و مدیریت آنهاست. با توجه به تاثیر تنوع ژنتیکی در پیشبرد لرنامه های بهنژادی، بررسی این تنوع از طریق روش هی مولکولی ریخت شناختی (مورفولوژیک) حائز اهمیت خواهد بود. امروزه بررسی تنوع و قرابت ژنتیکی میان جمعیت های مختلف جانوری و گیاهی با استفاده از نشانگر های مولکولی DNA روشی معمول است (رضایی و همکاران 1391).

نشانگر RAPD به‌دلیل سادگی و عدم نیاز به اطلاعات اولیه در مورد توالی DNA الگو، جهت بررسی تنوع و ساختار ژنتیکی جمعیت های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است و به طور موثری برای بررسی تنوع ژنتیکی گونه های دارویی و زراعی استفاده شده است(طاهری 1393).

در مطالعه(حیدری و همکاران 1393)،روی چهارده توده گیاه بادرنجبویه به همراه 2 توده از گیاهان بادرشبو و ریحان، نتایج تجزیه خوشه ای، توده ها را در هشت گروه مجزا تفکیک نمود و گیاه ریحان در فاصله کمتری در توالی ITS[1] با بادرنجبویه قرار گرفت.

همچنین در پژوهشی دیگر(رحیمی و همکاران 1392) روی تنوع ژنتیکی و مورفولوژیک 9 توده مختلف مرزه باغی با استفاده از نشانگر RAPD،تجزیه خوشه ای بر اساس داده های RAPD توده ها را به 5 گروه و تجزیه خوشه ای بر اساس داده های مورفولوژیک توده ها را به 3 دسته تقسیم کرد، ولی تطابقی بین نتایج حاصل از داده های مورفولوژیک و مولکولی مشاهده نشد.در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین 15 توده بومی زیره پارسی ایران با استفاده از 21 آغازگر RAPD، بر اساس دندروگرام رسم شده داده ها به 4 گروه تقسیم بندی شدند(هاشمی و همکاران 1387).

[1]Internal transcribed spacer

با توجه به اهمیت گیاهان تیره نعناع و پراکنش جغرافیایی آنها، هدف اصلی این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی برخی از اکوتیپ های بادرنجبویه ایران با استفاده از نشانگر RAPDبوده است.

مواد و روشها

مواد گیاهی

جمعیت های مختلف گیاه بادرنجبویه از رویشگاههای نواحی مختلف کشور جمع آوری شد و بذور آنها برای انجام آزمایشات در یخچال $4\ ^{o}C$ نگهداری شد. بذوربادرنجبویهدر گلخانهتحقیقاتی مرکز تحقیقات گیاهان دارویییدانشگاهشاهد بصورت طرح پایه کاملا تصادفی با 3 تکرار درگلدان‌های پلاستیکی در آذر ماه 1393کشت شدند.

استخراج DNA و انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز

استخراج DNA ژنومی از برگ های جوان گیاه با استفاده از روش CTAB انجام شد(Ghaffarian et al 2012).در این آزمایش از 15 آغازگر تصادفی RAPD استفاده شد(جدول 1).

جدول (1)مشخصات نشانگر های RAPD مورد استفاده

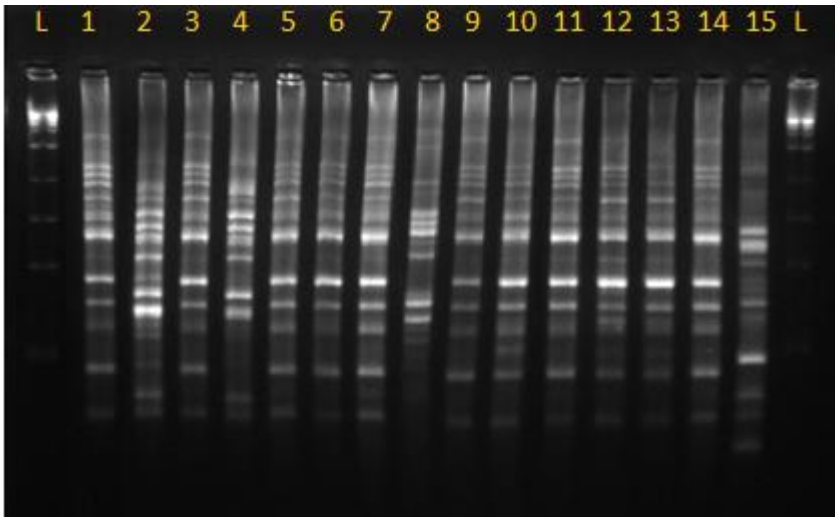
شماره	نام آغازگر	توالی آغازگر	دمای اتصال
1	OPM-33	5′ -GTCGCCGTCA-3′	30
2	OPM-35	5′ -TGAGCGGACA-3′	24
3	OPH-15	5′ -AATGGCGCAG-3′	24
4	OPM-21	5′ -GGTCGGAGAA-3′	27
5	OPM-5	5′ -GATGACCGCC-3′	29
6	OPM-55	5′ -AATGGCGCAG-3′	27
7	OPM-48	5′ -GAGAGCCAAC-3′	25
8	TIBMBE-17	5′ -GGGAAAAGCC-3′	28
9	OPB-14	5′ -TCCGCTCTGG-3′	27
10	OPH-4	5′ -GGAAGTCGCC-3′	37
11	OPC-16	5′ -CACACTCCAG-	26

		3′	
12	OPD-3	5′ -GTCGCCGTCA-3′	30
13	OPD-5	5′ -TGAGCGGACA-3′	30
14	OPM-8	5′ -TGGACCGGTG-3′	27
15	OPF-16	5′ -GAAGTACTTGG-3	25

واکنشهای PCR در حجمی معادل 10 میکرو لیتر(DNAبه حجم3میکرولیتربا غلظت25نانوگرم، 2 میکرولیتر از آغازگر واکنش و 5 میکرولیتر کیت PCR) انجام شد و در دستگاه ترموسایکلر محصول شرکتBIO RADبا برنامه دمایی مناسب قرارگرفت(جدول2). پس ازانجام واکنشPCR محصولواکنش با ماده رنگی ژل رد رنگ آمیزی شد و درچاهک های ژل آگارز،8/5٪ با بافر TAE بارگیری و به مدت 140 دقیقه و شدت جریان80 ولت الکتروفورز شد. سپس بااستفاده ازدستگاه ژل داک تحت اثر نور UV از ژل‌ها عکسبرداری وباند های حاصل مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول(2) برنامه دمایی واکنش زنجیره ای پلیمراز برای نشانگر RAPD

چرخه	نام مرحله	دما	زمان	تعداد تکرار چرخه
1	واسرشته سازی نخست	94°C	دقیقه3	1
2	واسرشته سازی اتصال آغازگر گسترش	94°C 24-40°C 72°C	دقیقه1 دقیقه1 دقیقه1	40
3	گسترش نهایی	94°C	دقیقه 6	1
4	نگهداری	4°C	دقیقه 20	1



1:نیشابور،2:مرند، 3:ملارد، 4:کرج، 5:مشهد، 6:شبستر ، 7:ارومیه، 8:ژاپن، 9:هیر، 10:رشت، 11:لاهیجان، 12:مجارستان، 13:پاکان بذر، 14:اصفهان، 15:همدان

شکل1- نوارهای حاصل از تکثیر نشانگر OPM33

نتایج و بحث

فراوانی آلل های مختلف در طول زمان بدلایل مختلفی چون انتخاب طبیعی و رانش تغییر پیدا می کند و انتخاب طبیعی بدلیل تغییر در شایستگی افراد در بقا و تولید نسل، باعث فراوانی آلل های افزاینده وشایستگی و کاهش آلل های کاهنده آن می شود(Brown, 2002).در این پژوهش تعداد 13 نشانگر از 15 نشانگر RAPD الگوی نوار بندی مناسب ایجاد کردند. این آغازگر ها در مجموع 107 نوار ایجاد کردند که 83 نوار دارای چندشکلی بودند. در بین آغازگر های مورد استفاده بیشترین درصد چند شکلی متعلق به نشانگر OPH4 با مقدار PIC=0/316 و کمترین میزان مربوط به نشانگر POM21 با PIC=0/182بوده است(جدول3).

جدول (3)پارامتر های مربوط به چند شکلی نشانگر

DI	MI	PIC	%P	Np	N	آغازگر
0/246	0/79	0/1985	٪75	6	8	OPM48
0/333	0/98	0/2636	٪88	8	9	OPM55
0/360	0/95	0/2824	٪85	6	7	OPM35
0/297	0/89	0/2334	٪75	6	8	OPM33
0/231	0/48	0/1823	٪57	4	7	OPM21
0/382	0/88	0/2940	٪83	5	6	OPM5

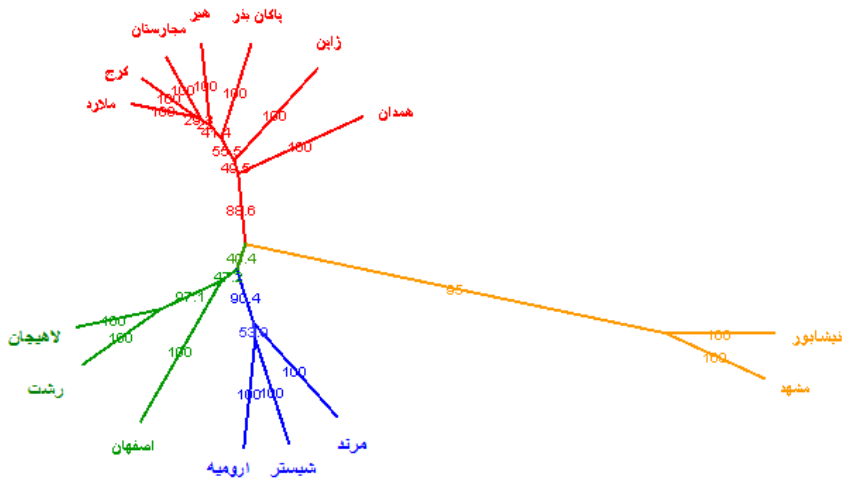
0/295	0/64	0/2340	٪75	6	8	OPM8
0/408	1/8	0/3161	٪91	11	12	OPH4
0/266	0/78	0/2068	٪60	6	10	OPH15
0/251	0/47	0/1954	٪57	4	7	OPD3
0/379	1/40	0/2909	٪81	9	11	OPC16
0/480	0/81	0/2492	٪71	5	7	OPD5
0/320	0/95	0/2555	٪85	6	7	OPF16
				82	107	کل
0/315	0/90	0/2463	٪76			میانگین

بر اساس شاخص تنوع ژنی نی(Nei 1973)، تنوع ژنتیکی درون اکوتیپ های بادرنجبویه بر اساس 13 آغازگر RAPD برآورد شد. بیشترین میانگین سطح این تنوع برای ترکیب آغازگری OPH4 با مقدار 0/408 و کمترین میزان نیز در آغازگر OPM21 با مقدار 0/231برآورد شد. از نظر شاخص اطلاعاتی شانون و ویور (1949) نیز بیشترین مقدار شاخص شانون(0/583) و کمترین مقدار شاخص شانون (0/337) به ترتیب مربوط به نشانگر های OPH4 وOPM21 بودند. بر اساس Ht=0/319تنوع نسبتا خوبی نیز درون بین توده ها وجود داشت.بنابراین می توان نتیجه گرفت که آغازگر OPH4 با بالاترین میزان چند شکلی مارکری مناسب جهت بررسی تنوع ژنتیکی در میان توده های بادرنجبویه است. میزان هتروزیگوسیتی در میان جمعیت ها از 0/19 در جمعیت 3 تا 0/35 در جمعیت 5 متغیر بود. بر اساس شاخص نی کمترین فاصله ژنتیکی (0/16) میان دو جمعیت 1 و 5 و بیشترین فاصله ژنتیکی (0/39) بین دو جمعیت 2 و 4 بوده است. میانگین درصد چند شکلی برای جمعیت ها از 47/66 در جمعیت 3 تا 95/33 در جمعیت 5 متغیر بود و میانگین درصد چند شکلی کل برابر با 65/98٪ برآورد شد که نشان دهنده تنوع نسبتا خوبی در میان توده های مورد مطالعه است.

تجزیه خوشه ای

در این تحقیق تجزیه خوشه ای بر اساس فاصله ژنتیکی نی و به روش UPGMA انجام گرفت. بیشترین فاصله ژنتیکی (0/6475) بین توده های شماره 10(رشت)و12 (مجارستان)و کمترین فاصله ژنتیکی (0/1295) بین توده های 3 (ملارد)و4 (کرج)مشاهده شد.

نمودار درختی به‌دست آمده(شکل2) اکوتیپ ها را به 4 گروه تقسیم کرد. گروه اول شامل توده های کرج، هیر، ملارد، مجارستان، پاکان بذر، ژاپن و همدان، گروه دوم شامل توده های ارومیه، مرند وشبستر، گروه سوم شامل توده های اصفهان، لاهیجان ورشت گروه چهارم شامل توده های نیشابور و مشهد بودند.



شکل(2)نمودار درختی اکوتیپ‌های بادرنجبویه بر اساس داده‌های نشانگر RAPD بر اساس UPGMA

در این گروه بندیبین الگوی تنوع ژنتیکی و الگوی توزیع جغرافیایی شباهت نسبی مشاهده شد و توده هایی که از مناطق با شرایط جغرافیایی و آب و هوایی مشابه هستند در یک گروه قرار گرفتند برای مثال توده های مشهد و نیشابور در یک گروه و توده های کرج، ملارد، هیر و همدان نیز در یک گروه جای گرفتند. در پژوهشی دیگر که توسط (ذوقی و همکاران، 1390) بر روی 25 ژنوتیپ آویشن با استفاده از 9 پرایمر RAPD انجام شد، نتایج دندروگرام بر اساس الگوریتم UPGMA ژنوتیپ ها رابه 8 گروه طبقه بندی نمود که تطابق فراوانی با توزیع جغرافیایی ژنوتیپ ها داشت بطوری که توده های جمع آوری شده از یک استان در یک خوشه قرار گرفتند.

تجزیه واریانس مولکولی

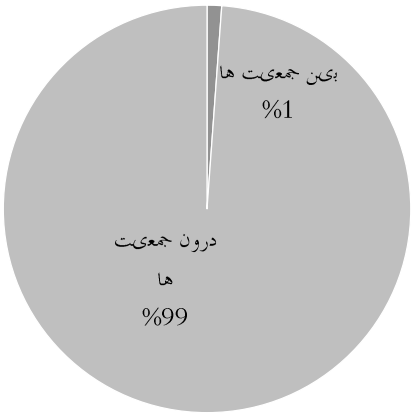
تنوع ژنتیکی بر تنوع آلل های ژن ها در یک خزانه ژنی استواراست که هم بین و هم درون جمعیت ها از طریق جابجایی های ژنی در سطح افراد جمعیت ها رخ می دهد. تنوع ژنتیکی بوسیله جهش های تصادفی، که تغییر پایدار در ساختار شیمیایی ژن ها هستند، بوجود می آید(Mayr 1970).

در واقع، تنوعژنتیکی بوسیله تغییر در بازهای آلی در ساختار نوکلئوتیدهای ژن ها به‌وجود می آید. امروزه فناوری‌هاینوین به دانشمندان اجازه توالی یابی مستقیم DNAرا می‌دهند. تنوعات ژنتیکی مبتنی بر تنوع توالی های مستقیم DNAبیشتر از تنوعات پروتئین هایی می باشد که خود نتیجه بیان آن توالی ها هستند و به کمک الکتروفورز شناسایی می‌شوند. این تنوع هم شامل نواحی کد کننده و هم غیر کد کننده اینترونی ژن می باشد. تنوعات جغرافیایی در ژن ها اغلب در میان جمعیت هایی که در مناطق مختلفبه سر می برند، وجود دارد. تنوعات جغرافیایی ممکن است بدلیل اختلافات در فشار گزینش یا رانش ژنتیکی باشد(Dobzhansky 1970).

برای تجزیه واریانس مولکولی، داده ها در 5 گروه دسته بندی شدند. گروه یک توده های سردسیر (کرج، ملارد، هیر و همدان) گروه دو شرق (مشهد و نیشابور) گروه سه مرکز (اصفهان و پاکان بذر)، گروه چهار توده های خارجی (ژاپن و مجارستان) و گروه

پنجشمال (مرند، شبستر، لاهیجان، رشت و ارومیه). نتایج نشان داد که از کل تغییرات، 1٪ آن مربوط به تنوعات میان جمعیت ها و 99٪ آن مربوط به تنوع درون جمعیت ها بوده است(شکل4). بعد از برآورد واریانس واقعی جمعیت ها پارامترPhiPT بعنوان مبنای آزمون فرض تمایز جمعیت ها محاسبه می شود (محمدی، 1385). و چونP=0/012 محاسبه شده بین 0/05 و0/01 می باشد بنابراین می توان نتیجه گرفت اختلاف میان گروه های بررسی شده در سطح احتمال 0/05 درصد معنی دار است . این بدین معنی است که بین توده های مورد مطالعه تنوع بالایی هست که از این تنوع می توان در برنامه های اصلاحی استفاده کرد. نمودار شکل4 نشان می دهد که بیشترین واریانس مربوط به بین ژنوتیپ های درون هر جمعیت و کمترین آن مربوط به بین جمعیت های مختلف می باشد. نمودار درختی نیز با توجه به عدد Botstrap بدست آمده تا حدودی این مطلب را تایید میکن بنابراین می توان نتیجه گرفت که توده های درون هرگروه باهم شباهت بسیاری دارند ولی با توده های گروه های دیگر متفاوتند. بدلیل دورگ گیری بین گونه ای در گونه های جنس نعناع وجود شباهت بین گونه ای بسیار زیاد می باشد. با توجه به گستره زیاد پراکنش جغرافیایی بادرنجبویه، سطح بالای تنوع درون جمعیت ها و تنوع کم درون هر جمعیت برای گونه های دائمی مانند بادرنجبویه مورد انتظار است. در میان جمعیت های مختلف نیز جمعیت 5 با مقدار واریانس درون جمعیت 107/60و جمعیت 3 با مقدرا واریانس درون جمعیت 25/5 به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تنوع درون خود هستند.(جدول 4) بنابراین توده های مرند، شبستر، ارومیه، لاهیجان و رشت دارای هتروزیگوتی بالایی هستند. کمترین فاصله بین جمعیت ها (0/162) مربوط به فاصله بین دو گروه 1 و 5 بوده و بیشترین فاصله ژنتیکی نیز (0/396) بین دو گروه 4 و 2 مشاهده می شود. (جدول 7)

(Ghaffarian et al 2011) در پژوهشی روی تنوع ژنتیکی 14 توده بادرنجبویه نشان دادند که از مجموع 28 آغازگر(پرایمر) 8 پرایمر دارای چندشکلی 95٪ بودند. شاخص ژنتیکی نی و شانون به ترتیب 0/1 و0/16 برآورد شد. میانگین PIC برابر با 0/27 و میانگین شاخص نشانگر نیز 14/39 محاسبه شد. واریانس مولکولی درون جمعیت ها ٪76/30 و بین جمعیت ها ٪23/70 بودند. بر اساس این گزارش جمعیت های اصفهان، کرج، کردستان و همدان دارای هتروزیگوتی بالا هستند. (زین الدینی و همکاران 1391) در بررسی برخی گونه های جنس نعناع چندشکلی کل ژنوتیپ هارا 94/70٪ برآورد کردند که نشانگر تنوع بالای در میان آنها بود. نتایج تجزیه واریانس مولکولی تنوع درون گونه ای و بین گونه ای را به ترتیب 98٪ و2٪ نشان داد. بدلیل وجود گرده افشانی آزاد بین گونه های نعناع این شباهت زیاد بین گونه ای و شباهت پایین درون گونه ای بوجود آمده است. در بررسیروی تنوع ژنتیکی 8 جمعیت نعناع بومی در تبت با استفاده از نشانگر RAPDبررسی کردند و میزان تنوع بالایی را بین این جمعیت ها گزارش گردید(Liu et al 2006). همچنین(Boussaid & Chograni 2010) روی تنوع ژنتیکی 8 جمعیت از اسطوخودوس (*Lavandula multifida* L.) با استفاده از نشانگرRAPD تنوع زیادی را درون هر جمعیت گزارش کردند. نتایج حاصل از این مطتالعات نشان می دهد که جمعیت هایی که در شرایط جغرافیایی مشابه هستند و یا فاصله کمی باهم دارند دارای شباهت ژنتیکی زیادی هستند.شباهت ژنتیکی بین جمعیت هایی که از نظر جغرافیایی دورازهم بوده و یا شرایط اکولوژیک مشابه ندارند ممکن است بدلیل جابجایی ژرم پلاسم و یا تعداد محدود آغازگر های RAPD باشد(پسر کلو و همکاران 1392).



شکل(4) نمودار توزیع واریانس درون و بین اکوتیپ‌های بادرنجبویه بر اساس داده‌های نشانگر RAPD

جدول(5)تجزیه واریانس مولکولی بین گروه ها

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	اجزای واریانس	درصد تغییرات
میان جمعیت ها	4	108/450	27/113	0/306	٪1
درون جمعیت ها	10	262/350	26/235	26/235	٪99
کل	14	370/800		26/541	٪100

جدول(6)مجموع مربعات درون هر جمعیت

جمعیت 1	جمعیت 2	جمعیت 3	جمعیت 4	جمعیت 5
73/250	30/00	25/500	26/00	107/60

جدول(7)ماتریس فاصله بین گروه ها

جمعیت 1	0/00				
جمعیت 2	0/270	0/00			
جمعیت 3	0/339	0/313	0/00		
جمعیت 4	0/370	0/396	0/366	0/00	
جمعیت 5	0/162	0/261	0/239	0/313	0/00
	جمعیت 1	جمعیت 2	جمعیت 3	جمعیت 4	جمعیت 5

نتیجه گیری

آگاهی از تنوع ژرم پلاسم و رابطه ژنتیکی در میانمواد اصلاحی می تواند کمکی ارزشمند در استراتژی بهبود و اصلاح گیاهان باشد.(Mohammadi & Prasanna 2003). میزان چندشکلی بالا در نشانگرهای RAPD توزیع شده در ساختار ژنتیکی اکوتیپ های مورد مطالعه نشان دهنده کارایی این نشانگرها در ارزیابی تنوع ژنتیکی توده های بادرنجبویه بوده است. با توجه به نتایج به-دست آمده می توان نتیجه گرفت بیشترین تنوع مربوط به درون جمعیت ها بوده است که می توان از این اکوتیپ ها به‌عنوان منبع بالقوه برای ژن های مختلف در برنامه های اصلاحی استفاده کرد کهاین نتیجه ممکن است ناشی از دگرگرده افشانی بالای این گونه ها باشد.(Ghaffarian et al 2011)بیان کردند که توزیع تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت ها در نتیجه وجود جریان ژنی در میان افراد یک جمعیت یا بین جمعیت های مختلف است و گسترش جریان ژنی در یک گونه بستگی به اندازه و درجه ایزوله بودن جمعیت و جابجایی گرده و بذر درمیان جمعیت ها دارد. در جمعیت های دگرگشن تنوع بستگی به فواصل جغرافیایی و میزان جریان ژنی بین جمعیت ها بسته است و چون در گونه های دگر گشن جریان ژنی بالاست بنابراین میزان تنوع کم بین جمعیت ها و تنوع زیاد درون جمعیت ها امری طبیعی است(Hamrick & Godt 1989). با توجه به اینکه برای داشتن برنامه های اصلاحی مناسب و موفق برخورداری از ژنوتیپ‌های والدینی با حداکثر تفاوت ژنتیکی برای بدست آوردن هتروزیس، ضروری است، بنابراین می‌توان گفت که بررسی تنوع ژنتیکی بین گونه ها و انتخاب گونه های دور از هم مفید خواهد بود.

منابع

1. پسرکلو، اقدس، باقریه نجار، محمد باقر، میان آبادی،منیژه، ستاریان، علی، باقی زاده، امین، (1392)، «بررسی تنوع ژنتیکی برخی از جمعیت های کلپوره (*Teucrium polium*) ایران با استفاده از نشانگر های مولکولی RAPD»، دو فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، جلد 21، شماره 1، صفحه 32-24.
2. حیدری، پرویز، مهرابی، علی اشرف، نصر الله زاده نژاد قمی، علی اصغر، (1393)، «بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون توده های گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) با استفاده از نشانگر های ITS»، پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی، سال ششم، شماره 13، صفحه 39-29.
3. ذوقی، مریم، میر لوحی، آقافخر، رحیم ملک، مهدی، بحرینی نژاد، بابک، طالبی مجید، (1390)، «ارزیابی تنوع ژنتیکی توده های آویشن دنایی (*Thymus daenensis* subsp) با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD»، هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، صفحه 95-91، دانشگاه صنعتی اصفهان.
4. رحیمی انالوجه نیره، علیزاده، اردلان، نماینده آنیتا،(1392)، «استفاده از نشانگر مولکولی RAPD برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و مورفولوژیکی برخی از توده‌های مرزه باغی (*Satureja hortensis* L.)»، دانشگاه آزاد اسلامی استهبان.
5. رضایی، لیلا، قادری، اردشیر، ابراهیمی، محمد علی، ریاضی، اعظم السادات، مهرآفرین، علی، نقدی بادی، حسنعلی، (1391)، «بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های گل راعی (*Hypericum perforatum* L.) مناطق مختلف ایران با استفاده از نشانگر های مولکولی AFLP»، فصلنامه گیاهان دارویی، سال 11، دوره 4.
6. زرگری، علی، (1369)، گیاهان دارویی، دانشگاه تهران، جلد 2 .

7. زین الدینی، آرش، فرشادفر، محسن، صفری، هوشمند، شیروانی، هومن، (1391)،«بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ های مختلف نعناع با استفاده از پروتئین های محلول به روش SDS-PAGE»، سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران.

8. طاهری صفورا، ضابط محمد، ایزانلو علی، ایزدی دربندی علی. (1393)،«ارزیابی تنوع ژنتیکی 32 اکوتیپ رازیانه با نشانگر RAPD»،اولین کنگره بین المللی و سیزدهمین کنگره ژنتیک ایران.

9. محمدی، سید ابوالقاسم، (1385)،«تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی از دیدگاه بررسی تنوع ژنتیکی»، مقالات کلیدی نهمین گنگره زراعت واصلاح نباتات ایران. 118-96.

10. هاشمی، هدا، صفر نژاد، عباس، باقری، عبد الرضا، (1387)، «مطالعه تنوع ژنتیکی توده های بومی زیره پارسی (*Bunium persicum Boiss*)»، فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، جلد 16، شماره 2، صفحه 246-238.

11. Brown, Terence A,(2002), Genomes, Wiley- Liss, Oxford.
12. Chahal G.S, Gosal S.S. (2002), Principles and procedures of plant breeding, Biotechnologycal and conventional approaches: Alph ScienceInt'l Ltd.
13. Chograni, Hnia, and Boussaid, Mohamed, (2010), «Geneticdiversity of *Lavandula multifida*L. (Lamiaceae) inTunisia: Implication for conservation»,AfricanJournal of Ecology, 1: 1-11.
14. Dobzhansky, Theodosius,(1970), Genetics of the evolutionary process, Columbia, New York, ISBN 0-231-02837-7.
15. Ghaffariyan, Sara, Mohammadi, Sayed Abolghasem, and Aharizad, Saeid, (2012),«DNA isolation protocol for the medicinal plant lemon balm (*Melissa officinalis,*Lamiaceae)», Genetic & Molecular Research. 11 (2): 1049-1057.
16. Ghaffarian, Sara, Mohammadi, Sayed Abolghasem, Aharizad, Saeid, (2011), «Patterns of Population Diversity in Lemon balm (*Melissa officinalis*L.) as Revealed by IRAP Markers», Journal of Plant Physiology and Breeding, 1(2): 39-51.
17. Hamrick J. L & Godt, N. J, (1989), Allozyme Diversity in Plant Species: 43-63, In: Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L & Weir, B. S, (Eds), Plant Population Genetics; Breeding & Genetic Resources, Sinauer Associates, Sunderland, 440p.
18. Liu, Jimei, Wang, Li, Geng, Yyupeng, Wang, Qingbiao, Luo, Lijun, and Zhong, Yang, (2006), « Genetic diversity and population structure of Lamiophlomis rotata (Lamiaceae)», an endemic species of Qinghai-Tibet Plateau. Genetica, 128: 385.394.
19. Lowe, Andrew, Harris, Stephen, and Ashton, Paul,(2004), Ecological Genetics, Design, Analysis and Application, Blackwell Publishing, Berlin, Germany.
20. Craker,Lyle E, Simon,James E, (1992), Herbs, Spices, and Medicinal Plants, Recent Advances in Botany, Horticulture, and Pharmacology, Volume 1.

21. Mayr, Ernst,(1970), Populations, species, and evolution – An abridgment of Animal species and evolution, The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts and London, England, ISBN 0-674-69013-3.
22. Mohammadi, Sayed Abolghasem,& Prasanna, Boddupalli , (2003),«Analysis of Genetic Diversity in Crop Plants», Salient Statistical Tools and Considerations, Crop Science 43:1235-1248.
23. Nei, Masatoshi, (1973), «Analysis of gene diversity in subdivided populations», Proceedings of theNational Academy of Sciences, 70(12): 3321-3323.
24. Pank, Friedrich ,(2007), Breeding of Medicinal Plants. In: Kayser Oliver, Quax Wim J (Eds) Medicinal Plant Biotechnology:From Basic Research to Industrial Applications. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, pp 417–451.
25. Shannon, Claude E,& Weaver,Warren,(1949), The mathematical theory of communication (Urbana,IL). In The mathematical theory of communication (Urbana,IL): University of Illinois Press IL.