مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره چهارم، شماره سیزدهم، زمستان ۱۳۹۲

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی تنوع ژنتیکی در آویشن گونه *Thymus Pubescens* براساس نشانگر RAPD

سید محمود ضابطی[۱]، احمد اسماعیلی*[۲]، حسن مداح عارفی[۳]، فرهاد نظریان فیروزآبادی[۴]، عبدالحسین رضایی‌نژاد[۵]، فرزانه مجیری[۶]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان
[۲] استادیار،گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان و عضو شورای مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
[۳] دانشیار موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال
[۴] استادیارگروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان
[۵] استادیارگروه تولیدات گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان
[۶] مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

چکیده

سابقه و هدف: آویشن یکی از بزرگترین و معروفترین جنسهای خانواده نعناعیان است. گونه های آویشن معمولاً به عنوان جوشانده گیاهی، ادویه، چاشنی غذا و گیاه دارویی استفاده میشوند. گونه *Thymus Pubescens* اغلب میتواند در مناطق شمال و غرب ایران رشد کند. توصیف گیاهان بوسیله نشانگرهای مولکولی یک راهکار مطلوب برای اصلاح و حفاظت از منابع ژنتیکی گیاهی است.

مواد و روش ها: دوازده توده *T.Pubescens* که از نواحی مختلف ایران جمعآوری شده بودند، بوسیله ۳۰ آغازگر تصادفی جهت ارزیابی چندشکلی غربال شدند. استخراج DNA ژنومی از نمونه ها بر اساس روش خانوجا و همکاران با کمی تغییرات انجام گرفت. تشابه ژنتیکی بوسیله ضریب تشابه جاکارد محاسبه شد و دندوگرام بوسیله روش UPGMA ترسیم گردید.

یافته ها: از کل آغازگرها، ۲۷ آغازگر انتخاب شده ۳۶۰ باند تولید کردند که ۲۷۳ باند چندشکل بودند. میانگین تعداد باند برای هر آغازگر ۱۳/۳۳ بود که ۱۰/۱۱ باند چندشکل بودند. میانگین محتوای اطلاعات چندشکلی ۰/۳۵ برآورد شد. تجزیه کلاستر اطلاعات بوسیله الگوریتم UPGMA و همچنین تجزیه به مولفههای اصلی این ۱۲ توده را به سه گروه عمده تقسیم نمودند.

بحث: نتایج نشان داد که روش RAPD، برای برآورد تنوع ژنتیکی در جمعیت های آویشن کوهی مناسب و مفید است. در مجموع نیمرخ RAPD توده های آویشن را براساس توزیع جغرافیایی از همدیگر تمیز داد.

کلمات کلیدی: *Tymus Pubescens*، چندشکلی، نشانگر RAPD

مقدمه

جنس آویشن متعلق به خانواده نعناعیان است و دارای حدود ۲۱۵ گونه علفی و درختچهای کوچک در دنیا است (۲۱). گونه آویشن کوهی (*T.Pubescens*) بیشترین پراکنش را در شمال و غرب ایران دارد و هرچه به سمت جنوب و شرق ایران می-رویم از پراکنش این گونه کاسته میشود. به طور کلی این گونه جزو پوشش طبیعی مراتع است و به لحاظ تاج پوشش گسترده و وسیعی که دارد علاوه بر نقش دارویی و معطر بودن در حفاظت خاک نیز از اهمیت خاصی برخوردار می-باشد (۹). از نظر ترکیبات عمده اسانس، این گونه به علت بالا بودن مجموع کارواکرول و تیمول، از کیفیت نسبتاً بالایی برخوردار است (۲). این گونه دارای ۳۷/۹٪ تیمول و ۱۴/۱٪ کارواکرول میباشد (۲۶). البته محتوای فنلی گونه ها علاوه بر ژنوتیپ تحت تاثیر شرایط محیطی هم قرار میگیرد به طوری که سه گونه *T.kotschyanus*، *T.pubescens*و *T.Caucasicus* از لحاظ محتوای فنلی و خاصیت ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند که گونه *T.pubescens* کمترین میزان محتوای فنلی را نشان داد (۲۴). مطالعات تنوع زیستی مختلفی در این گونه انجام گرفته است؛ از جمله اینکه در تحقیقی انگشتنگاری در تعدادی از گونه ها از جمله گونه *T.Pubescens*، بوسیله تکنیک TLC انجام گرفت و یک باند اختصاصی در این گونه به دست آمد که یک روش مناسب برای شناسایی این گونه ارائه می-داد (۷).مطالعات ژنتیکی و اصلاحی محدودی بر روی گیاه

آدرس نویسنده مسئول : دانشگاه لرستان دانشکده کشاورزی گروه زراعت و اصلاح نباتات
Email :ahmad_ismaili@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۹/۲
تاریخ پذیرش : ۹۲/۲/۲۴

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.4.3]

T. pubescens در کشور صورت گرفته است. در تحقیقی دو سطح پلوئیدی (دیپلوئید و تتراپلوئید) با عدد پایه کروموزومی ۱۵ برای این گونه گزارش گردیده است (۱۷). میرزایی ندوشن و همکاران با تجزیه علیت در صفات موثر بر اسانس *T.pubescens* گزارش نمودند که بین صفات مورفولوژیکی و اسانس، میزان همبستگی روابط قابل توجه است (۸). محافظت از تنوع زیستی یکی از مهمترین دغدغه های بشر میباشد. نشانگرهای مولکولی یک ابزار ارزشمندی را برای توصیف و ارزیابی تنوع ژنتیکی درون گونهها فراهم کردهاند (۳۲). نشان داده شده است که نشانگرهای مختلف، کلاسهای متفاوتی از تنوع را نشان میدهند (۵). در میان انواع نشانگرهای مولکولی، RAPD یک روش ارزان و سریع و بدون نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ژنوم مورد نظر است (۴). آنالیز RAPD اطلاعاتی را فراهم میکند که میتواند در تعیین تمایز گونه ها و روابط فیلوژنتیکی در سطح مولکولی کمک کند (۲۹). در این گونه چندین تحقیق در مورد تنوع ژنتیکی براساس نشانگرهای مولکولی هم انجام گرفته از جمله اینکه در تحقیقی تنوع ژنتیکی این گونه با گونه های آویشن دنایی، *T. migricus* و *T.kotschyanus* بوسیله نشانگر RAPD مورد آنالیز قرار گرفت (۱). در تحقیقی دیگر گونه *T.pubescens* با ۱۴ گونه مختلف آویشن جهت شناسایی تنوع ژنتیکی بوسیله نشانگر RAPD مورد بررسی قرار گرفت که در این تحقیق بیشترین تشابه ژنتیکی را با گونه *T.leucotrichus* نشان داد (۳۰). در پژوهشی دیگر تنوع ژنتیکی سه گونه *T. pubscens*، *T. kotschyanus* و *T.persicus* بوسیله الکتروفورز پروتئینهای ذخیرهای بذر انجام گرفت که نمونه های گونه *T.pubescens* همگی در یک کلاستر جداگانه نسبت به بقیه گونهها قرار گرفتند (۱۸).هدف از این تحقیق برآورد روابط ژنتیکی بین توده های مختلف *Thymus Pubescens* جمعآوری شده از نواحی متفاوت ایران به منظور بهره برداری های اصلاحی بود.

مواد و روش ها

تعداد ۱۲ توده از بانک ژن موسسه تحقیقات مراتع و جنگلهای کرج که از مکانهای مختلف ایران بودند جمع آوری شد(جدول ۱).

جدول۱- فهرست توده های *T.Pubescens* و جزئیات مکان جمع آوری

		Collection site	State	
1	C1	Sjahkal	Gilan	Iran
2	C2	Zanjan	Zanjan	Iran
3	C3	Ghažvin	Ghažvin	Iran
4	C4	Piranshahre	Azarbaijangharbi	Iran
5	C5	unknown	Unknown	Iran
6	C6	unknown	Unknown	Iran
7	C7	Zanjan	Zanjan	Iran
8	C8	Maragheh	Azarbaijansharghi	Iran
9	C9	Gharehchaman	Azarbaijansharghi	Iran
10	C10	Saghez	Kordestan	Iran
11	C11	Zanjan	Zanjan	Iran
12	C12	Tehran	Tehran	Iran

استخراج DNA ژنومیک از برگهای هر کدام از توده های *T.Pubescens* با کمی تغییرات (۲۰) براساس دستورالعمل استخراج به روش خانوجا(۱۱) انجام گرفت. کمیت DNA ژنومیک استخراج شده بوسیله دستگاه بیوفتومتر با اندازهگیری جذب در ۲۶۰ نانومتر محاسبه شد و خلوص DNA هم مورد بررسی قرار گرفت. ذخیره DNA جهت انجام واکنش PCR، به حجم ۱۰ نانوگرم بر میکرولیتر رسانده شد. خلوص DNA همچنین بوسیله بارگذاری نمونه ها بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ انجام شد و غلظت آن هم با مقایسه با یک نشانگر DNA، λ (۲۵) مورد ارزیابی قرار گرفت. واکنش PCR در یک دستگاه ترموسایکلر طبق دستورالعمل موجود در جدول ۲ با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر براساس روش ویلیامز و همکاران (۳۱) انجام گرفت.

جدول ۲- مواد مورد نیاز برای واکنش PCR و غلظتهای آنها

مواد واکنش	غلظت پایه	غلظت نهایی	مقدار برای حجم نهایی **۲۵µl**
بافر PCR	×۱۰	۱×	۲/۵µL
کلرید منیزیم	۵۰mM	۱/۵میلیمول	۰/۷۵µL
dNTP	mM	۲ mM/۰	۰/۵µL
آغازگر	10 p. mol	۰/p.mol٤	۱µL
-Taq DNA پلیمراز	5unit	۱/۲۵Unit	۰/۲۵µl
آب مقطر استریل	------- ------ ---	-------- ---	۱۹µL
DNA	10□□	۰/ng٤	۱µL

در مجموع ۳۰ آغازگر از شرکت فزاپژوه تهران در این پژوهش مورد آنالیز قرار گرفت که در جدول ۳ لیست آغازگرهای مورد استفاده آورده شده است. الگوهای نشانگر براساس حضور (۱) یا عدم حضور (۰) باند برای هر جایگاه امتیازدهی شدند. محدوده کدگذاری باندها از ۱۵۰۰bp تا ۳۰۰ bp انتخاب شد. جهت کلاستربندی نمونه ها، ماتریس فواصل ژنتیکی نی اندازهگیری شد (۲۳)، دندوگرام بوسیله نرمافزار داروین براساس الگوریتم UPGMA ترسیم شد (۲۸). همبستگیهای کوفنتیک همچنین

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.4.3]

برای آزمایش وابستگی بین ورودی و خروجی ماتریس فاصله (۱۵) توسط برنامه MXCOMP در نرمافزار NTSYS ویرایش ۲/۰۲ انجام گرفت. ارتباط میان ۱۲ توده *T.Pubescens* به صورت گرافیکی در دندوگرام به تصویر کشیده شد. تکنیک تجزیه به مولفههای اصلی (PCA) کمک میکند یکسری از متغیرها به تعداد کمی تبدیل شوند به این صورت که ژنوتیپهای مورد مطالعه را میتوان به صورت یک فضای دو بعدی یا سه بعدی به تصویر کشید (۱۴).

جدول۳-آغازگرهای ۱۰ نوکلئوتیدی برای نشانگر RAPD

	توالی آغازگر 3’ 5’	کد مشخصه آغازگر	توالی آغازگر 5’ 3’	کد مشخصه آغازگر
۱	ACGGCGTATG	E19	AGGGGTCTTG	A05
۲	AACGGTGACC	E20	GTGATCGCAG	A10
۳	TGCCGAGCTG	OPA-2	GGACTGGAGT	B04
٤	CAGCACCCAC	OPA-13	TGCTCTGCCC	B06
٥	GTTTCGCTCC	OPB-1	GTCCACACGG	B06*
٦	TGCGCCCTTC	OPB-5	GTAGACCCGT	B11
۷	GGTGACGCAG	OPB-7	GGAGGGTGTT	B15
۸	GTCCACACGG	OPB-8	GTCGCCGTCA	D03
۹	CTGCTGGGAC	OPB-10	TGAGCGGACA	D05
۱۰	TCTCAGCTGG	OPH-16	GGTCTACACC	D10
۱۱	CACTCTCCTC	OPH-17	GGGGTGACGA	D13
۱۲	GAATCGGCCA	OPH-18	CATCCGTGCT	D15
۱۳	CTGGGGCTGA		GGTGCGGGAA	E02
۱٤	AGAGCCGTCA	OPY-7	GGTGACTGTG	E16
۱٥	CCGACAAACC	OPZ-10	GGACTGCAGA	E18

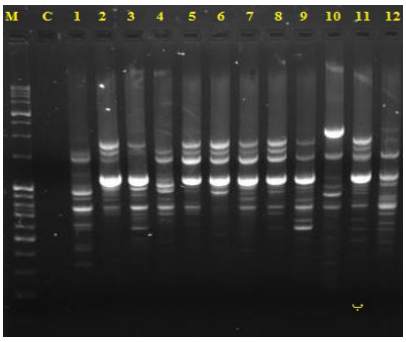
یافته ها

از ۳۰ آغازگر اولیه ۲۷ آغازگر چندشکلی قابل قبولی را نشان دادند و برای آنالیزهای بعدی انتخاب شدند. جزئیات آغازگرهای انتخاب شده برای تولید محصولات PCR، درصد چندشکلی، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و شاخص نشانگر (MI) در جدول ۴ آورده شده است. از کل ۳۶۰ باندی که در میان تمام تودهها تکثیر شد، ۲۷۳ باند چندشکل (۷۵/۸۳٪) و ۸۷ باند یک شکل (۲۴/۱۷٪) بودند. تعداد باندهای چندشکل از ۴ باند (D۱۳) تا ۱۷ باند (*B۰۶و B۰۶) برآورد گردید. میانگین تعداد باند چندشکل برای هر آغازگر ۱۰/۱۱ باند بود و درصد چندشکلی از ۵۰٪ برای آغازگرهای D۱۳، E۱۸ و OPY۷ تا ۱۰۰٪ برای آغازگرهای B۰۶، D۰۵، OPA۲، OPB۵و OPZ۱۰ متغیر بود (جدول۴). بنابراین نتایج موجود توانایی متفاوت آغازگرها را در مشخص کردن تنوع در مطالعه تودهها نشان داد (شکل۱). یک ماتریس تشابه ژنتیکی از شاخص تشابه جاکارد جهت تعیین کمیت تفاوتها در میان تودهها محاسبه گردید؛ ماتریس تشابه ژنتیکی بین تودهها در محدوده ۰/۱ تا ۰/۷۷ قرار داشت (جدول۵). ضریب همبستگی نسبتاً بالایی که بدست آمد (r=۰.۸۷) نشان داد که تجزیه خوشهای توانسته است بخوبی دادهها را برازش کند. دندوگرام توده های *T.Pubescens* بر پایه اطلاعات RAPD با ۱۰۰ بار نمونهبرداری (Bootstrap samples) برای تعیین کارایی روشهای مورد استفاده، ترسیم شد (شکل۲). همه تودهها در ابتدا در سه گروه اصلی قرار گرفتند. گروه یک شامل نمونه های C۴، C۱،C۳و C۱۲؛ گروه دو شامل توده های C۷، C۲، C۶و C۵ و بالاخره گروه سوم نمونه های C۱۱، C۹، C۸و C۱۰ بود.

جدول۴- نام و اطلاعات چندشکلی آغازگرها

	Primer	PIC	%P	MI	Primer	PIC	%P
1	B04	0.28	82	3.9	E20	0.36	54
2	B06*	0.34	85	5.78	OPA2	0.4	100
3	B06	0.42	100	7.14	OPA8	0.28	90
4	B11	0.33	63	2.28	OPA13	0.29	62
5	B15	0.41	84	6.54	OPB1	0.35	64
6	D03	0.41	50	3.28	OPB5	0.36	100
7	D05	0.38	100	5.7	OPB7	0.29	90
8	D10	0.35	66	2.08	OPH16	0.36	87
9	D13	0.47	50	1.88	OPH17	0.38	78
10	D15	0.35	84	3.82	OPH18	0.23	55
11	E02	0.39	77	2.7	OPI13	0.44	81
12	E16	0.3	55	1.48	OPY7	0.32	50
13	E18	0.33	50	1.65	OPZ10	0.37	100
14	E19	0.26	72	2.06			
					میانگین	0.35	

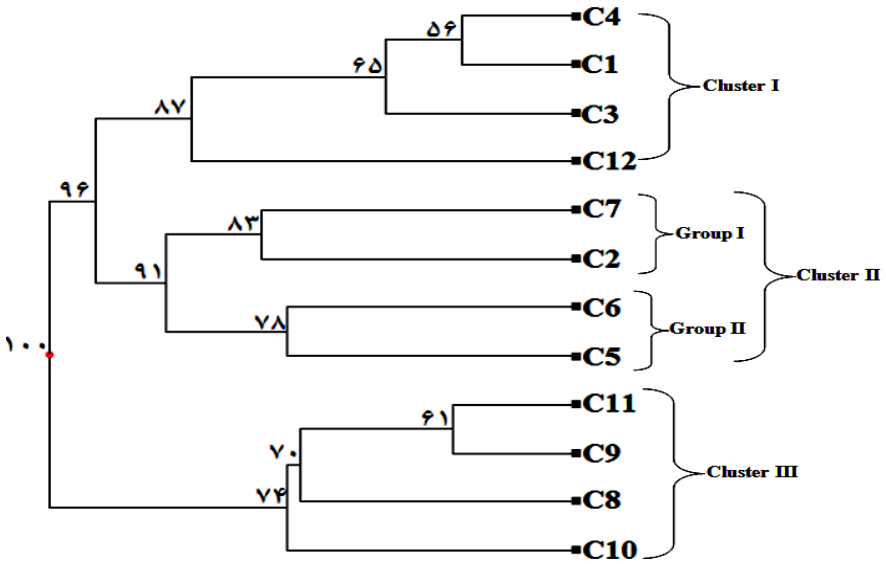
PIC: polymorphism information content. ٪P: percentage of polymorphism, MI: marker index



شکل۱- چندشکلی نمایان شده RAPD در میان توده های *T.Pubescens* بوسیله دو آغازگر B۰۶(الف) و OPZ۱۰(ب). M: نشانگر اندازه؛ C: کنترل منفی؛ خطوط ۱ تا ۱۱: کد توده های *T.Pubescens*.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.4.3]

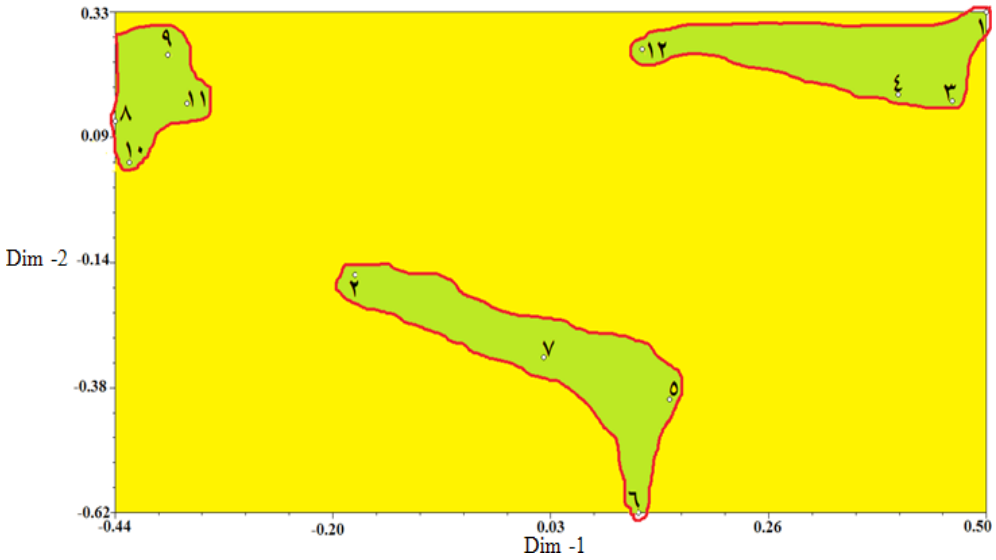


شکل۲- دندوگرام توده های *T. Pubescens* برپایه اطلاعات RAPD. اعداد روی شاخه ها (Bootstrap) با ۱۰۰ تکرار می باشند.

جدول ۵- ماتریس تشابه ژنتیکی در میان توده های *T.Pubescens*

	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
C1	1											
C2	0.11	1										
C3	0.33	0.15	1									
C4	0.35	0.20	0.29	1								
C5	0.17	0.24	0.21	0.26	1							
C6	0.14	0.17	0.17	0.17	0.26	1						
C7	0.14	0.25	0.17	0.19	0.19	0.23	1					
C8	0.73	0.21	0.10	0.10	0.15	0.12	0.16	1				
C9	0.15	0.25	0.13	0.20	0.15	0.14	0.19	0.31	1			
C10	0.77	0.19	0.11	0.11	0.16	0.14	0.12	0.26	0.29	1		
C11	0.14	0.27	0.10	0.16	0.16	0.13	0.18	0.23	0.34	0.24	1	
C12	0.20	0.20	0.21	0.24	0.16	0.11	0.21	0.17	0.19	0.12	0.17	1

برای تجسم جزئیات ارتباط ژنتیکی بین توده های *T.Pubescens* آزمون PCA برای ۲۷۳ باند تولید شده توسط ۲۷ آغازگر RAPD انجام گرفت. نتایج آنالیز نمودار دوبعدی در شکل۳ نشان داده شده است.



شکل۳- تجزیه به مولفه های اصلی توده های *T.Pubescens*بوسیله نشانگر RAPD

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.4.3]

گروه بندی به دست آمده با گروه بندی دندوگرام حاصل از تجزیه خوش های مطابقت داشت.

بحث

همانطور که در شکل۲ دیده میشود، کلاستر اول (با ارزش Bootstrap ۸۷٪) نمونه هایی از استانهای شمالی و غربی ایران هستند. بیشترین شباهت را در این گروه سه نمونه گیلان، قزوین و آذربایجان غربی دارند که همگی از مناطقی با ارتفاع یکسان (۱۵۰۰ متر) جمعآوری شدهاند و همچنین احتمال میرود این نمونه ها دارای یک ژرمپلاسم مشترک باشند. کلاستر دوم (با ارزش Bootstrap ۹۱٪) خود به دو گروه Iو II تقسیم میشود، که نمونه های گروه I (با ارزش Bootstrap ۸۳٪) هر دو از استان زنجان در مناطق مشابهی با ارتفاع ۱۴۰۰ متر به طول جغرافیایی "۲۳ ′۴۹ و عرض جغرافیایی "۱۶ ′۳۶ جمعآوری شده اما نمونه های گروه II (با ارزش Bootstrap ۷۸٪) مکان جمعآوریشان نامعلوم است ولی چون ریشه کلاسترشان نسبتاً بالا است (۷۸٪) این احتمال را میتوان داد که این دو نمونه از یک خزانه ژنی نسبتاً مشابه منشا گرفتهاند. در کلاستر سوم (با ارزش Bootstrap ۷۴٪) نمونه هایی از مناطق سردسیر ایران وجود دارد که این تشابه اقلیمی میتواند دلیلی بر شباهت این نمونه ها باشد. همچنین نزدیکی استانهای این نمونه ها احتمال وجود یک مخزن ژنی مشترک را تقویت میکند. با توجه به اینکه درون هر کلاستر مقادیر ریشه کلاسترها به مراتب کمتر میشود این موضوع را نشان میدهد که مجموعههای ژرمپلاسم مورد مطالعه از لحاظ ژنتیکی تفاوت نسبتاً زیادی دارند. مجموعه ژرمپلاسم *T.Pubescens* موجود در این تحقیق دارای تنوع ژنتیکی نسبتاً بالایی هستند که می-تواند به سطح بالای دگر گشنی در این جنس نسبت داده شود (۱۹، ۱۲). تنوع بالای نشان داده شده بوسیله RAPD با این موضوع که گیاهان دگرگشن قادرند تنوع قابل توجهی را حفظ کنند، همخوانی دارد. این موضوع بارها در مطالعات نشانگرهای مولکولی تایید شده است (۱۰، ۸، ۱۳). نگهداری از تنوع ژنتیکی بالا درون جمعیتها بوسیله سیستمهای ژنتیکی گونهها از قبیل جریان ژنی، جهش و دگرگشنی و غیره مورد توجه اصلاح-گران میباشد (۱۶). همانطور که در شکل ۳ مشخص است *T.Pubescens* پراکندگی بیشتری را بر روی پلات PCA نشان میدهد که این بازتاب یک پایه ژنتیکی وسیعی است. در کل نتایج به دست آمده از PCA با نتایج حاصل از دندوگرام بر پایه روش UPGMA مطابقت داشت. این موضوع تایید کننده روابط ژنتیکی مشخص شده در تجزیه کلاستر میباشد (۲۷). تفاوتهای اکولوژیکی و جغرافیایی دو عامل مهم هستند که بر استراتژیهای نمونهبرداری و اصلاح گیاهان تاثیر میگذارد (۲۲). تغییر در تنوع ژنتیکی درون گونهها معمولاً ارتباط به محدوده جغرافیایی، روش تولید مثل، سیستم جفتگیری، پراکندگی و باروری بذر دارد (۶). تنوع ژنتیکی برآورد شده در این تحقیق میتواند به علت تمام این عاملهای ذکر شده باشد. این نتایج با نتایجی که باقرزاده و همکاران به دست آوردند مطابقت داشت، آنها پایه ژنتیکی وسیعی را در آویشن گزارش کردند (۳). نتایج مطالعه موجود نشان داد که *T.Pubescens* در داخل ایران دارای یک پایه ژنتیکی گسترده است. از الگوی کلاستربندی و روابط ژنتیکی به دست آمده بوسیله نشانگرهای RAPD، اصلاحگران ژنوتیپهایی را در کلاسترهای مختلف میتوانند انتخاب کنند و آنها را در برنامههای اصلاحی بعدی به کار ببرند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.4.3]

منابع

[1]Alamdary SBL,Safarnejad A,Rezaee M. Evaluation of Genetic Variation between Thymus Accessions Using Molecular Markers. J Basic ApplSci Res. 2011; 1(12): 2552-2556.

[2]Askari F,SefidkonF,Rezaei MB. 2003. Quantitative and Qualitative analysis of the Thymus pubescensBoiss. etKotschy ex Celak oil from different locality of lar valley. Pajouhesh and Sazandegi.2003; 56&57. pp:20-27(full text in Persian).

[3]Bagherzadeh F, Shahriari FA, Marashi, H. Assessment of Genetic Diversity of Inter and Intera Species Amongst Thymus Using RAPD technique. The 6th National Biotechnology Congress of Iran.2009; Tehran-Iran. (full text in Persian).

[4]Bardakci F. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers.TurkJBiol. 2000;25: 185-196.

[5]GhasemiPirbaloutiA,KarimiA,YousefiM,EnteshariS,Golparvar AR. Diversity of Thymus daenensisCelak in Central and West of Iran.Journal of Medicinal Plants Research. 2011; 5(4), pp. 319-323.

[6]Gupta S, SrivastavaM,MishraGP,NaikPK,Chauhan RS. Analogy of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among different Jatrophacurcasgenotyps.Afr J Biotechnol. 2008; 7:4230-4243.

[7]Hajimehdipoor H, Khanavi M, Zahedi H, Abedi Z, KalantariKhandani N, Adib N, PiraliHamedani M.. Fingerprint Study of Thymus spp. by TLC. Journal of Medicinal Plants.2009; 8.31.pp: 19-24.

[8]Hamrick JL,Godt MJW.Allozymes diversity in plant species. In: Brown AHD, editor. Plant Population Genetics. Breeding and Genetic Resources.Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA. 1989; pp. 43-63.

[9]Hassani J. The Identification and Ecological study of two Genuses of aromatic plants (Thymus &Ziziphora) in Kurdistan Province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research.2002; 20:1.

[10]Heywood JS. Spatial analysis of genetic variation in plant populations.Annu Rev Ecol Syst. 1991; 22: 335- 355.

[11]Khanuja SPS, Shasany AK, Darokar MP, Kumar S. Rapid Isolation of DNA from Dryand Fresh Samples of Plants Producing Large Amounts of Secondary Metabolites and Essential Oils. Plant Molecular Biology Reporter.1999; 17: 1–7.

[12]Lopez-Pujol J,Bosch M,Simon J,Blanche C. Allozyme Diversity in the Tetraploid Endemic Thymus loscosii(Lamiaceae). Annals of Botany.2004; 93: 323-332.

[13]Loveless MD, Hamrick JL. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annu Rev Ecol Syst. 1984; 15: 65-95.

[14]Ludwig AJ, Reynolds FJ. A primer on methods and computing, in Statistical ecology.John Wiley and Sons, Inc., New York, USA. 1988; pp:234-235.

[15]Mantel NA. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Res. 1967; 27:209-220.

[16]Matyas C. Climatic adaptation of tree: Rediscovering provenance tests. Euphytica.1996; 92:45-54.

[17]Mehrpure SH, MirzaeiNodoushan H, Majd A,Sefidkon F. Karyotypic studies of two Thymus species. Cytologia. 2002; 67(4): 343-346.

[18]Mehrpour SH, MirzaeiNodoushan H, Sefidkon F. Study of Genetic Diversity of three Thymus species by seed storage protein electrophoresis. Research Institute of Forests and Rangelands. 2005; 13:153-162(full text in Persian).

[19]MirzaeiNodoushan H, Mehrpour S, Sefidkon F. Path analysis of the characters influencing essential oil in three Thymus species. Pajouhesh and Sazandegi.2007; 70: 88-94(full text in Persian).

[20]Mojiri F,Zabeti SM,Ismaili A, Nazarian-Firouzabadi F, Madah-Arefi H, Ahmadi H. Optimization genomic DNA extraction method in medicine leaf of plant in Thymus sp. Proceeding of the 4th Regional Congress on Advances in Agricultural Research Sanandaj. University of Kurdistan. 2010. p. 100(full text in Persian).

[21]Morales R.The history, botany and taxonomy of the genus Thymus. In: Stahl-BiskupE,Saez F, editors. Thyme: The Genus Thymus. London: Taylor and Francis. 2002; pp. 1-43.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.4.3]

[22]Namkoong G. Genetic and the forests of the future.Unasylva.1986; 152:2-18.

[23]Nei M. Estimation of average heterozygosity and geneticdistance from a small number of individuals.Genetics.1978; 89:583–590.

[24]Pourmohamad F, Enteshari S, Sariri R. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of the Methanolic Extracts of Three Thymus Cultivars Grown in Iran. Pharmacologyonline.2011; 1: 851-860.

[25]Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T editors. Molecular cloning-A laboratory manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, USA. 1989; pp: 567-570.

[26]Sefidkon F, Askari F,Ghorbanli M. Essential oil composition of Thymus Pubescens from Iran. JEOR. 2002; 14(2): 116-117.

[27]Shashidhara G. Genetic evaluation of elite sandle wood (Santalum album L.) clones using RAPD markers. PhD thesis, University of agriculture sciences, Bangalore, India, 2002.

[28]Sneath PHA, Sokal RR editors. Numerical Taxonomy. Freeman. San Francisco. 1973; pp:345-346

[29]Subramanyam K, MuralidharaRao D, Devanna N. Novel molecular approach for optimization of DNA isolation and PCR protocol for RAPD analysis and genetic diversity assessment of Jatrophacurcas(Euphorbiaceae). CurrBiotica. 2010; 3: 1-13.

[30]Sunar S, Aksakal O, Yildirim N, Agar G, Gulluce M, Sahin F. Genetic diversity and relationships detected by FAME and RAPD analysis among Thymus species growing in eastern Anatolia region of Turkey. Romanian Biotechnological letters. 2009;14(2): 4313-4318.

[31]Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA,Tingey SV. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers is useful as genetic markers. Nucl Acids Res. 1990; 18: 6531-6535.

[32]Zoghlami N, Chrita I, Bouamama B, Gargouri M, Zemni H, Ghorbel A, Mliki A. Molecular based assessment of genetic diversity within Barbary fig (Opuntiaficusindica (L.) Mill.) in Tunisia.ScientiaHorticulturae. 2007; 113: 134-141.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-02]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.4.13.4.3]