DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2013.3090

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۱، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۳۲-۲٤ (۱۳۹۲)

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از جمعیت‌های کلپوره *(Teucrium polium)* ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD

اقدس پسرکلو*[۱]، محمدباقر باقریه‌نجار[۲]، منیژه میان‌آبادی[۳]، علی ستاریان[٤] و امین باقی‌زاده[٥]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس‌ارشد، فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه گلستان، گرگان
پست‌الکترونیک: apesaraklu@yahoo.com
۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان
۳- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان
٤- استادیار، گروه منابع طبیعی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد
٥- دانشیار، بخش بیوتکنولوژی، پژوهشکده علوم محیطی، مرکز بین‌المللی علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی کرمان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰٤/۰٤

چکیده

در این مطالعه تنوع ژنتیکی ٦ جمعیت کلپوره (*Teucrium polium*) جمع‌آوری شده از استان‌های گلستان، خراسان‌شمالی و سمنان با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور از برگ‌های جوان، DNA ژنومی استخراج شد و واکنش PCR با استفاده از ۸ آغازگر RAPD بر روی DNA ژنومی جمعیت‌های مورد مطالعه انجام گردید. براساس نتایج، در مجموع ٦۸ نوار تشکیل شد که ٦۱ نوار (۸۹/۷۱ درصد) چندشکلی نشان دادند. پس از تهیه ماتریس صفر و یک از نوارها با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc و ضریب تشابه جاکارد، ماتریس تشابه محاسبه و تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA انجام شد. محدوده تشابه ژنتیکی ژنوتیپ‌ها بین ۰/۳۳ تا ۰/۵۸ بدست آمد. جمعیت رامیان بیشترین تفاوت را با سایر جمعیت‌ها نشان داد و در گروهی مجزا قرار گرفت. بیشترین شباهت نیز بین جمعیت مراوه‌تپه و گرماب مشاهده شد. نتایج این مطالعه اطلاعات لازم را برای برآورد سطح تنوع ژنتیکی در مجموعه‌های ژرم‌پلاسمی جمعیت‌های کلپوره مورد بررسی برای استفاده در مطالعات ژنتیکی و اصلاح نباتات فراهم نمود. همچنین نتایج حاصل بیانگر آن است که RAPD روش مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در میان جمعیت کلپوره می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کلپوره، تنوع ژنتیکی، نشانگر مولکولی، RAPD.

مقدمه

کلپوره (*Teucrium polium*) متعلق به تیره نعناع است که دارای خواص ضدمیکروبی، ضداسهال، ضدالتهاب، ضددرد، ضداسپاسم، ضدتشنج، کاهنده چربی و قند خون می‌باشد. این گیاه دارویی با ارزش پراکندگی وسیعی در نقاط مختلفی از ایران ازجمله شمال، مغرب، جنوب و مرکز، همچنین منطقه البرز، اطراف تهران مخصوصاً در غالب نواحی نیمه بایر و کوهستان‌های نیمه‌خشک دارد (Mir Heidar, 2004; Zargari, 1997).

یکی از کاربردهای اصلی تکنیک‌های مولکولی در بررسی و برآورد سطح تنوع ژنتیکی در مجموعه‌های ژرم‌پلاسمی و جمعیت‌ها برای استفاده بهینه از آنها در مطالعات ژنتیکی و اصلاح نباتات است (Mohammadi & Prasanna, 2003). نشانگر مولکولی RAPD یک ابزار مفید برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت‌های گیاهان معطر و دارویی می‌باشد (Fracarro *et al*., 2005; konate *et al*., 2007; Messaoud *et al*., 2007; Solouki *et al*., 2008; Zheng *et al*., 2008) که در خانواده نعناع نیز به شکل مؤثری مورد استفاده قرار گرفته است. ازجمله، Momeni و همکاران (۲۰۰۳) با استفاده از نشانگر RAPD روابط ژنتیکی ۱۷ گونه جنس نعناع (*Mentha*) را مطالعه نمودند. در تحقیقی دیگر Vieira و همکاران (۲۰۰۳) برای تمایز گونه‌های جنس *Ocimum* از یکدیگر از نشانگر RAPD استفاده کردند. بررسی تنوع ژنتیکی در ۲۸ نمونه مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) با استفاده از این نشانگر توسط Hadian و همکاران (۲۰۰۸) نیز انجام شده است. همچنین Trindade و همکاران (۲۰۰۸) تنوع ژنتیکی ۳۱ تک بوته از گونه آویشن (*Thymus caespititius*) جمع‌آوری شده از سه جزیره را به کمک نشانگر RAPD مورد بررسی قرار دادند و Boussaid و همکاران (۲۰۱۰) با استفاده از این نشانگر به بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار ۷ جمعیت کلپوره در کشور تونس پرداختند. در مطالعه آنها ۷ جمعیت کلپوره براساس داده‌های حاصل از آزمایش ۸ آغازگر RAPD، توسط نمودار درختی حاصل گروه‌بندی شدند و میزان تنوع ژنتیکی آنها مطالعه گردید.

با توجه به پراکنش وسیع و اهمیت دارویی گیاه کلپوره در ایران، هدف اصلی در این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی برخی از جمعیت‌های کلپوره ایران به‌منظور تأکید بر حفظ منابع ژنتیکی با استفاده از نشانگر RAPD می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

جمعیت‌های گیاه کلپوره از شش منطقه شامل سه منطقه از استان گلستان (روستای شش‌آب شهرستان رامیان، روستای کریم‌ایشان شهرستان مراوه‌تپه و جنگل گلستان)، دو منطقه از استان خراسان شمالی (روستای جوزک شهر آشخانه، منطقه گرماب شهرستان مانه و سملقان) و یک منطقه از استان سمنان (شهرستان شاهرود) جمع‌آوری شد (جدول ۱). نمونه‌ها در ظروف پلی‌اتیلن حاوی یخ به آزمایشگاه برای انجام تجزیه‌های مولکولی منتقل شدند.

جدول ۱- موقعیت جغرافیایی مناطق نمونه‌برداری گیاه کلپوره

جمعیت	موقعیت منطقه	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
۱	شاهرود	۱۴۵۰	۳۶° ۲۵′	۵۴° ۵۷′
۲	مراوه‌تپه	۳۰۵	۳۷° ۳۹′	۵۵° ۴۳′
۳	گرماب	۶۰۰	۳۷° ۴۳′	۵۶° ۲۶′
۴	آشخانه	۱۲۳۵	۳۷° ۲۵′	۵۶° ۳۸′
۵	جنگل گلستان	۹۴۰	۳۷° ۲۰′	۵۶° ۰۰′
۶	رامیان	۱۳۷۰	۳۶° ۵۵′	۵۵° ۲۷′

استخراج DNA و انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

استخراج DNA ژنومی از برگ‌های جوان گیاه با استفاده از روش CTAB (Khanuja, *et al.*, 1999) انجام شد. در این آزمایش از ۸ آغازگر تصادفی RAPD استفاده شد که این آغازگرها براساس آزمایشهای Boussaid و همکاران انتخاب شدند (جدول ۲).

جدول ۲- تعداد نوارهای چندشکل و درصد چندشکلی مشاهده شده در نمونه‌های کلپوره

نام آغازگر	توالی آغازگر	تعداد نوار چندشکل	تعداد کل نوارها	درصد چندشکلی
TP01	5'CCCGGCATAA3'	۱۵	۱۵	۱۰۰
TP02	5'TCGTTCCGCA3'	٦	٦	۱۰۰
TP03	5'CCTCTCGACA3'	٦	٦	۱۰۰
TP04	5'AAGCCCGAGG3'	٤	٦	٦٦
TP05	5'ACTCCTGCGA3'	٦	۹	٦٦
TP06	5'CCACACTACC3'	۸	۸	۱۰۰
TP07	5'CTGCTTAGGG3'	۹	۱۱	۸۱
TP08	5'ACGCCAGTTC3'	۷	۷	۱۰۰
مجموع	-	٦۱	٦۸	-
میانگین	-	۷/٦	۸/۵	۸۹/۷۱

واکنش‌های PCR در حجمی معادل ۲۵ میکرولیتر (DNA به حجم ۲ میکرولیتر با غلظت ۵۰ نانوگرم، مخلوط نوکلئوتیدی (dNTP) ۲ میکرولیتر با غلظت ۰/۲ میلی‌مولار، پرایمر ۲ میکرولیتر با غلظت ۱ میکرومولار، ۰/۱۲۵ میکرولیتر از آنزیم *Taq* DNA polymerase، ۲/۵ میکرولیتر از بافر واکنش X ۱۰، ۱/۵ میکرولیتر MgCl2 با غلظت ۲ میلی‌مولار و آب مقطر استریل) انجام شد و در دستگاه ترموسایکلر محصول شرکت BIO RAD با برنامه دمایی مناسب براساس جدول ۳ قرار گرفت. پس از انجام واکنش PCR، محصول واکنش در چاهک‌های ژل آگاروز ۱/۵٪ تهیه شده با بافر TBE بارگیری و به مدت ۱٤۰ دقیقه و شدت جریان ٦۰ ولت الکتروفورز شد. پس از این مرحله، ژل به مدت ۱۵ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید ۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر رنگ‌آمیزی شد و پس از شستشو با آب مقطر با استفاده از دستگاه عکسبرداری از ژل تحت نور UV نوارهای تکثیر یافته DNA مشاهده و عکسبرداری شدند.

جدول ۳- زمان و دمای لازم برای مراحل واکنش PCR

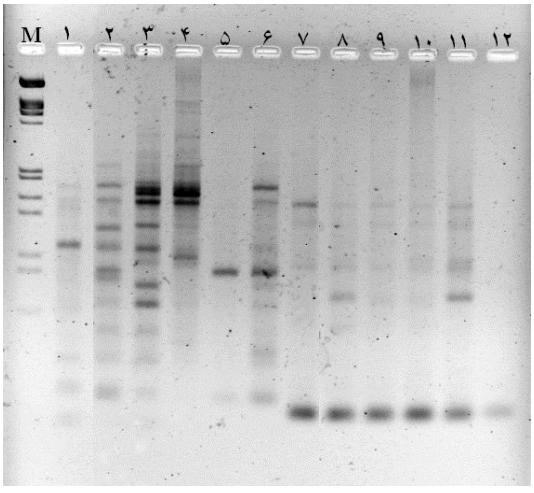
مرحله	مرحله انجام شده	تعداد دوره	زمان	درجه حرارت (C º)
۱	شروع باز شدن رشته DNA	۱	۲ دقیقه	۹٤
۲	تک رشته‌ای شدن DNA		۳۰ ثانیه	۹٤
	اتصال آغازگر	٤٥	۱ دقیقه	۳٦
	بسط آغازگر		۲ دقیقه	۷۲
۳	تکمیل بسط	۱	۱۰ دقیقه	۷۲

محاسبات آماری

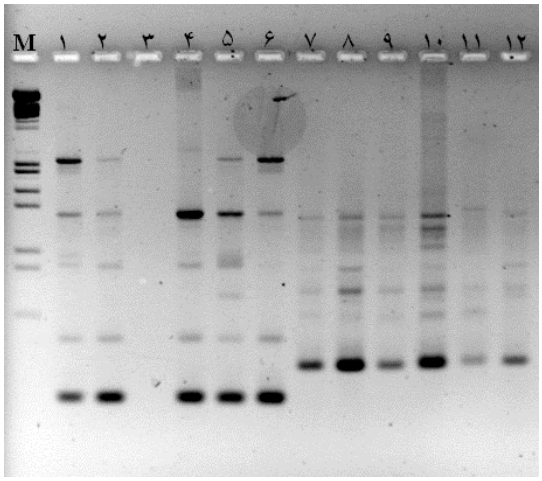
نوارهای باندی براساس وجود (۱) یا عدم وجود (۰) کدگذاری شدند. پس از تهیه‌ی ماتریس صفر و یک با استفاده از نرم‌افزار NTSYS-pc (نسخه ۲/۰۲) و با استفاده از ضریب تشابه جاکارد ماتریس تشابه محاسبه گردید و براساس آن تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA انجام و نمودار درختی آن ترسیم گردید.

نتایج

با استفاده از ۸ آغازگر تصادفی RAPD بر روی DNA ژنومی نمونه‌های کلپوره، در مجموع ٦۸ نوار تشکیل شد که در این میان ٦۱ نوار (۸۹/۷۱ درصد) چندشکلی نشان دادند و تنها ٦ نوار از کل نوارهای ایجاد شده تک‌شکل بودند (جدول ۳). از ۸ آغازگر استفاده شده ۵ آغازگر نوارهای ۱۰۰ درصد چندشکل (پلی‌مورفیک) ایجاد کردند. در بین آغازگرها بیشترین نوار باندی تکثیر شده مربوط به آغازگر TP01 با ۱۵ نوار تکثیر شده می‌باشد که تمامی این نوارها چندشکل بودند. آغازگر TP04 نیز با ٤ نوار چندشکل کمترین تعداد نوار را به خود اختصاص داد. الگوی باندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی نمونه‌های کلپوره مربوط به آغازگرهای TP01، TP02، TP03 و TP04 در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است.



شکل ۱- الگوی باندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی نمونه‌های کلپوره توسط آغازگر TP01 (شماره ۱ تا ٦) و آغازگر TP02 (شماره ۷ تا ۱۲). M: مارکر؛ ۱ و ۷: نمونه شاهرود؛ ۲ و ۸: نمونه مراوه‌تپه؛ ۳ و ۹: نمونه گرماب؛ ٤ و ۱۰: نمونه آشخانه؛ ۵ و ۱۱: نمونه جنگل گلستان؛ ٦ و ۱۲: نمونه رامیان



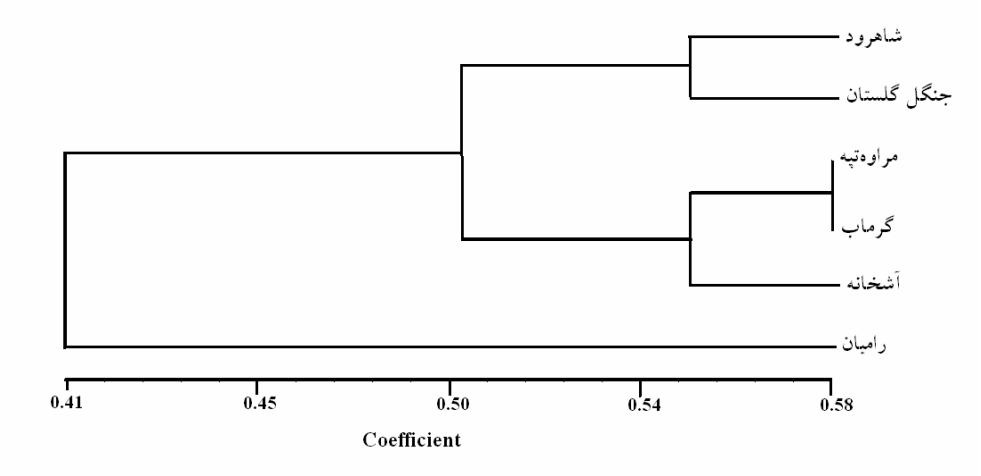
شکل ۲- الگوی باندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی نمونه‌های کلپوره توسط آغازگر TP03 (شماره ۱ تا ٦) و آغازگر TP04 (شماره ۷ تا ۱۲) M: مارکر؛ ۱ و ۷: نمونه شاهرود؛ ۲ و ۸: نمونه مراوه‌تپه؛ ۳ و ۹: نمونه گرماب؛ ٤ و ۱۰: نمونه آشخانه؛ ۵ و ۱۱: نمونه جنگل گلستان؛ ٦ و ۱۲: نمونه رامیان

بررسی ماتریس تشابه که در جدول ٤ آورده شده است نشان می‌دهد که محدوده تشابه ژنتیکی ژنوتیپ‌ها در گستره‌ای از ۰/۳۳ تا ۰/۵۸ قرار داشت و میانگین تشابه نیز برابر ۰/٤۸ بود. بیشترین تشابه بین جمعیت کلپوره مراوه‌تپه و گرماب با میزان تشابه ۰/۵۸ و کمترین تشابه بین جمعیت رامیان و آشخانه با میزان تشابه ۰/۳۳ مشاهده گردید که به‌ترتیب نشان‌دهنده میزان نزدیکی و دوری ژنتیکی این جمعیت‌ها نسبت به یکدیگر می‌باشد. پس از تجزیه خوشه‌ای، جمعیت‌های شاهرود و جنگل گلستان در یک خوشه قرار گرفتند و جمعیت‌های مراوه‌تپه، گرماب و آشخانه در خوشه دیگر واقع شدند، درحالی‌که جمعیت رامیان به علت داشتن بیشترین تفاوت با سایر جمعیت‌ها در گروهی مجزا قرار گرفت (شکل ۳).

در محاسبه ضریب کوفنتیکی که بیانگر همبستگی بین ماتریس تشابه و نمودار درختی حاصل می‌باشد، مقدار ۸۵ = r بدست آمد که نشان‌دهنده همبستگی مناسب ماتریس تشابه و نمودار درختی می‌باشد.

جدول ٤- ماتریس تشابه نمونه‌های کلپوره با استفاده از ضریب تشابه جاکارد

نمونه	شاهرود	مراوه‌تپه	گرماب	آشخانه	جنگل گلستان	رامیان
شاهرود	۱					
مراوه‌تپه	۰/۵	۱				
گرماب	۰/٤٤	۰/۵۸	۱			
آشخانه	۰/٤۸	۰/۵۲	۰/۵۷	۱		
جنگل گلستان	۰/۵۵	۰/٤۷	۰/۵٤	۰/۵٤	۱	
رامیان	۰/٤۷	۰/٤۳	۰/٤۰	۰/۳۳	۰/۳۹	۱



شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های کلپوره با استفاده از روش UPGMA و ضریب جاکارد

بحث

تعیین میزان شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها و ارقام مختلف گیاهان، اطلاعات پایه‌ای را برای برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی بدست می‌دهد (Hamrick & Godt, 1989). نتایج بررسی حاضر حکایت از تنوع ژنتیکی در حد مطلوب در بین جمعیت‌های مورد مطالعه داشت. چندشکلی قابل ملاحظه‌ای در الگوی باندی بدست آمد که بیانگر مناسب بودن تکنیک RAPD به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف کلپوره می‌باشد. در مطالعه‌ای Liu و همکاران (۲۰۰۶) به بررسی تنوع ژنتیکی ۸ جمعیت از گیاه *Lamiophlomis rotate* از خانواده نعناع بومی تبت با استفاده از نشانگر RAPD پرداختند که تنوع بالایی را در درون هر جمعیت گزارش نمودند. همچنین Chograni و Boussaid (۲۰۱۰) با استفاده از این نشانگر تنوع بین و درون ۸ جمعیت اسطوخودوس *Lavandula multifida* L. از خانواده نعناع در تونس را بررسی کردند که تنوع وسیعی در هر جمعیت گزارش نمودند. همچنین Boussaid و همکاران (۲۰۱۰) نیز با استفاده از نشانگر RAPD تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیت گیاه کلپوره را در کشور تونس مورد بررسی قرار داده و تنوع ژنتیکی بالایی درون جمعیت این گیاه بدست آوردند. همچنین، نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که جمعیت‌هایی که در شرایط اکولوژیک مشابه رویش دارند و همچنین جمعیت‌هایی که فاصله جغرافیایی نزدیکی با همدیگر دارند، دارای شباهت‌های ژنتیکی بیشتری هستند.

شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های مراوه‌تپه، گرماب و آشخانه را می‌توان براساس فاصله جغرافیایی کم و شرایط اکولوژیک مشابه حاکم بر این جمعیت‌ها تفسیر کرد. از طرف دیگر، تفاوت ژنتیکی جمعیت رامیان با بقیه جمعیت‌های مورد بررسی را می‌توان به شرایط اکولوژیک متفاوت و فاصله جغرافیایی بسیار دور این جمعیت از بقیه جمعیت‌ها ارتباط داد.

در مطالعه‌ای Alpert و همکاران (۱۹۹۳) در جمعیت‌های مختلف گونه‌ای از توت فرنگی وحشی نشان دادند که شباهت ژنتیکی جمعیت‌ها با میزان فاصله

جغرافیایی بین آنها کاملاً همبستگی دارد؛ بدین نحو که جمعیت‌هایی که دارای فاصله جغرافیایی کم هستند، بیشترین شباهت ژنتیکی را نشان دادند. در مطالعه‌ای که بر روی جمعیت‌های مختلف گیاه برنج با استفاده از نشانگرهای RAPD و SSR صورت گرفته ارتباط معنی‌داری بین فاصله جغرافیایی و شباهت ژنتیکی دیده شده است (He *et al.*, 2004). همچنین Nosrati و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی جمعیت‌های وحشی اسپرس زراعی با استفاده از نشانگرRAPD نشان دادند که جمعیت‌هایی که در شرایط اکولوژیک مشابه رویش دارند و همچنین جمعیت‌هایی که فاصله جغرافیایی نزدیکی با همدیگر دارند، دارای شباهت ژنتیکی بیشتری هستند.

شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌های گلستان و شاهرود با توجه به دور بودن این جمعیت‌ها از نظر جغرافیایی با یکدیگر، ممکن است به دلیل جابه جایی ژرم‌پلاسم و یا تعداد محدود آغازگرهای RAPD باشد.

در نهایت نتایج این تحقیق ثابت کرد که RAPD روش مناسبی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در میان جمعیت کلپوره می‌باشد که در برنامه‌های اصلاحی گیاه کلپوره به‌منظور تعیین سریع، دقیق و صحیح تنوع ژنتیکی و بررسی روابط خویشاوندی این گیاه دارویی قابل استفاده می‌باشد. بنابراین در تحقیقات آینده پیشنهاد می‌شود با بکارگیری آغازگرهای بیشتر RAPD و همچنین نشانگرهای مولکولی با کارایی دقیق‌تر از قبیل SSR به بررسی جمعیت‌های بیشتری از گیاه کلپوره جهت حفاظت از ژرم‌پلاسم و برنامه‌های اصلاحی این گیاه دارویی ارزشمند پرداخته شود.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم دانشگاه گلستان جهت فراهم آوردن هزینه انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Alpert, P., Lumaret, R. and Giusto, F.D., 1993. Population structure inferred from allozyme analysis in the clonal herb *Fragaria obiloensis* (Rosaceae). American Journal of Botany, 80: 1002-1006.
- Boussaid, M., Boulia, A., Bejaui, A. and Messaoud, C., 2010. Genetic diversity and population structure of *Teucrium polium* (Lamiaceae) in Tunisia. Biochemical Genetics, 48: 57-70.
- Chograni, H. and Boussaid, M., 2010. Genetic diversity of *Lavandula multifida* L. (Lamiaceae) in Tunisia: Implication for conservation. African Journal of Ecology, 1: 1-11.
- Fracarro, F., Zacaria, J. and Echeverrigaray, S., 2005. RAPD based genetic relationships between populations of three chemotypes of *Cunila galioides* Benth. Biochemical Systematics and Ecology, 33: 409–417.
- Hadian, J., Tabatabaei, S.M.F., Naghavi, M.R., Jamzad, Z. and Ramak-Masoumi, T., 2008. Genetic diversity of Iranian of *Satureja hortensis* L. based on horticultural traits and RAPD markers. Scientia Horticulturae, 115: 196-202.
- Hamrick, J.L., and Godt, M.J.W., 1989. Allozyme diversity in plant species, In: Plant population genetics, breeding and genetic resources (eds. Brown, A. H.D., Clegg, M.T., Kahler, A.L. and Weir, B.S.) 43-63. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- He, H.Q., Jia, X.L., Liang, Y.Y., Shen, L.H., Song, B.Q., Guo, Y.C., Liang, K.J. and Lin, W.X., 2004. Assessment of genetic diversity of allelopathic rice germplasm based on RAPD and SSR. Acta Genetica Sinica, 31: 888-894.
- Khanuja, S., Shasany, A., Darokar, M.P and Kumar, S., 1999. Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary metabolites and essential oils. Plant Molecular Biology Reporter, 17: 1–7.
- Konate, I., Filali-Maltouf, A. and Berraho, E-B., 2007. Diversity analysis of Moroccan Carob (*Ceratonia siliqua* L.) accessions using phenotypic traits and RAPD markers. Acta Botanica Malacitana, 32: 79–90.
- Liu, J., Wang, L., Geng, Y., Wang, Q., Luo, L. and Zhong, Y., 2006. Genetic diversity and population structure of *Lamiophlomis rotata* (Lamiaceae), an endemic species of Qinghai-Tibet Plateau. Genetica, 128: 385.394.
- Messaoud, C., Afif, M., Boulila, A., Rejeb, M.N. and Boussaid, M., 2007. Genetic variation of Tunisian *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) populations assessed by isozymes and RAPDs. Annals of Forest Science, 64: 845–853.
- Mir-Heidar, H., 2004. Encyclopedia of Medicinal Plant of Iran. Islamic Culture Press, Vol. 4, 547 p.
- Mohammadi, S.A and Prasanna, B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants: Salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43: 1235-1248.
- Momeni Dehaghi, S., Razmjoo, K.H., and Shirvan, S.B., 2003. Evaluation of genetic relationships of some Mint native species using RAPD molecular markers. Proceedings of Third National Conference of Biotechnology. Tehran, Iran, 429-433.
- Nosrati, H., Hosseinpour Feizi, M.A., Seyed Tarrah, S. and Razban Haghighi, A., 2011. A study of the relationship between eco-geographical factors and genetic similarity in different populations of *Onobrychis viciifolia* using RAPDs. Journal of Plant Biology, 7: 85-96.
- Solouki, M., Mehdikhani, H., Zeinali, H, and Emamjomeh, A.A., 2008. Study of genetic diversity in Chamomile (*Matricaria chamomilla*) based on morphological traits and molecular markers. Scientia Horticulturae, 117: 281-287.
- Trindade, H., Costa, M.M., Sofia, B.L.A., Pedro, L.G., Figueiredo, A.C. and Barroso, J.G., 2008. Genetic diversity and chemical polymorphism of *Thymus caespititius* from Pico, Sao Jorge and TerceiraIslands (Azores). Biochemical Systematics and Ecology, 36: 790-797.
- Vieira, R.F., Goldsbrough P. and Simon J.E., 2003. Genetic diversity of basil (*Ocimum* spp) based on RAPD markers. Journal of the American Society for Horticultural Science, 128: 94-99.
- Zargari, A., 1997. Medicinal Plants. Tehran University Press, Vol 4, 923 p.
- Zheng, W., Wang, L., Meng, L. and Liu, J., 2008. Genetic variation in the endangered *Anisodus tanguticus* (Solanaceae), an alpine perennial endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau. Genetica, 132: 123–129.

Genetic diversity of different populations of Iranian *Teucrium polium* L. using RAPD markers

A. Pesaraklu[1]*, M. Mianabadi[2], M.B. Bagherieh Najjar[3], A. Sattarian[4] and A. Baghizadeh[5]

1*- Corresponding author, M.Sc., Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, I.R.Iran.
E-mail: apesaraklu@yahoo.com
2- Assist. Prof., Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, I.R.Iran
3- Assist. Prof., Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, I.R.Iran
4- Assist. Prof., Department of Natural Resources, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbad University, Gonbad Kabus, I.R.Iran.
5- Assoc. Prof., Department of Biotechnology, Institute for Environmental Sciences, International Center Science High Technology and Environmental Sciences, Kerman, I.R.Iran.

Received: 01.22.2013 Accepted: 04.29.2012

Abstract

Genetic diversity of 6 populations of *Teucrium polium* L., collected from different locations of Iran, was evaluated using random amplified polymorphic DNA (RAPD) data. Total genomic DNA was extracted from young leaves of plants and polymerase chain reaction (PCR) was performed using 8 RAPD primers. Sixty eight bands were obtained of which, 61 bands (89.71%) were polymorphic. All amplified fragments in each sample were scored based on presence (1) or absence (0). Matrix of genetic similarity was calculated by Jaccard's similarity coefficient. Cluster analysis was carried out according to UPGMA algorithm using NTSYS-pc software. The genetic similarity between genotypes ranged from 0.33 to 0.58. Results showed the population Ramian had maximum difference with other populations and classified in a separate group. Maximum similarity was observed between populations Garmab and Maraveh-Tappeh. Our results showed an appropriate level of genetic diversity among the investigated populations. Moreover, our data indicated that the RAPD method is a suitable approach for assessing genetic diversity of *T. polium* populations with high accuracy.

Key words: *Teucrium polium* L., Genetic diversity, Molecular markers, RAPD.