مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره ۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲)

بررسی تنوع ژنتیکی برخی از جمعیت‌های گیاه دارویی دم شیر در ایران با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD

ابوذر سورنی*[۱]، وحیده ناظری[۲]، محمد رضا فتاحی مقدم[۳]، الهه احدی دولت‌سرا[٤]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

[۲]دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

[۳]دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

[٤]دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/٤/٤، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/٦/٤

چکیده

گیاه دم‌شیر با نام علمی *Leonurus cardiaca* از خانواده Lamiaceae (نعناعیان) و زیر خانواده Lamioideae تنها گونه موجود از جنس *Leonurus* در ایران است. وجود ترکیبات مختلفی چون فلاونوئیدها، ایریدوئیدها، تری‌ترپن‌ها، تانن‌ها، استرول‌ها، کاروتنوئیدها خواصی چون درمان بیماری‌های قلب و معده و اختلالات عصبی را برای این گیاه به همراه دارد. در این تحقیق نشانگر مولکولی RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم ٤۷ نمونه گیاهی از ٦ جمعیت وحشی جمع‌آوری شده گیاه دارویی دم-شیر در ایران مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ٦۰ آغازگر تصادفی در انجام واکنش PCR روی DNA ژنومی استخراج شده از برگ آزمایش شد که ۲۸ آغازگر نوارهای چند شکلی تولید نمودند و در کل ۳٦٤ نوار DNA بدست آمد که تعداد ۳۲۵ نوار چند شکل بودند. تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌ها بر اساس ضریب تشابه دایس و به روش UPGMA انجام گرفت. میزان حداقل تشابه ژنتیکی در این تحقیق ۰/۰۸ بین نمونه‌های درگز ۱ و ساری ۵ و حداکثر آن بین نمونه‌های ساری ۷ و ساری ۳ معادل ۰/۸۷ بدست آمد. در تجزیه کلاستر ژنوتیپ‌ها در فاصله ۲۰ دو کلاستر اصلی ایجاد شد که یکی از آن‌ها شامل نمونه‌های درگز و کلاستر دیگر شامل نمونه‌های خوانسار، کرمان، سراب، طالقان و ساری بود. بررسی تنوع درون جمعیت‌ها با استفاده از میانگین تنوع ژنتیکی نی و شاخص اطلاعاتی شانون نشان داد تنوع ژنتیکی در درون جمعیت سراب و طالقان (I =۰/۱۵ ,h =۰/۱۰) نسبت به سایر جمعیت‌ها، بیشترین و در جمعیت ساری (I = ۰/۰۸, h = ۰/۰۵) کم‌ترین بوده است. تلاقی ژنوتیپ‌های جمعیت درگز با دیگر جمعیت‌ها با توجه به فاصله ژنتیکی تعیین شده در این مطالعه می‌تواند گزینه مناسبی برای تولید هیبریدهایی با عملکردهای مورد نظر باشد.

کلمات کلیدی: گیاه دم‌شیر، *Leonurus cardiaca*، چند شکلی، جریان ژنی، اصلاح

*نویسنده مسئول: ابوذر سورنی تلفن: ۰۹۳٦۳٦۲۳۰۲۰ Email: soorni64@ut.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

دم‌شیر (*Leonurus cardiaca*) از خانواده Lamiaceae (نعناییان) و زیر خانواده Lamioideae تنها گونه موجود از جنس *Leonurus* در ایران است (Mozafarian, 1996).

دم شیر گیاهی علفی پایا با ریزومی گسترده به ارتفاع ۵.۰ تا ۵.۱ متر با ساقه مستقیم، منشعب، چهارگوش، کم و بیش توخالی با بافت نسبتاً چوبی شده و ۲۰ تا ۲۵ چرخه گل در هر ساقه است.

شکل ۱- نمایی کلی از گیاه دارویی دم‌شیر.

Figure 1-An overview of the vegetative organs of medicinal plants *Leonurus cardiaca.*

گل‌ها پوشیده از کرک‌های تک سلولی با کوتیکول نازک به رنگ گلی با خال‌های ارغوانی که به شکل مجتمع (۸ تا ۱۱ گل) در زاویه برگ‌های قسمت فوقانی ساقه قرار دارند (Zargari, 1990; Omidbeigi, 2010; Popescu, 2009; Ali & Nasir, 1990;).

مواد موثره شناسایی شده از عصاره اندام‌های هوایی (برگ‌ها، گل‌ها و ساقه) گیاه دم‌شیر شامل فلاونوئیدها (آگلیکن‌ها و گلیکوزیدها)، پلی‌فنل‌کربوکسیلیک اسید، ایریدوئیدها، تری‌ترپن‌ها (آگلیکن‌ها و گلیکوزیدها)، تانن‌ها، استرول‌ها، کاروتنوئیدها، مونوساکاریدها، پلی‌ساکاریدها (موسیلاژها) و ترکیبات نیتروژن‌دار غیر از آلکالوئیدها می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که برگ‌ها بالاترین میزان فلاونوئیدها و پلی‌فنل‌کربوکسیلیک اسید را دارا هستندو گل‌ها در رده بعدی قرار دارند. ساقه‌ها پایین‌ترین میزان مواد فوق را دارا هستند (Popescu, 2009).

با توجه به نیاز برای تامین داروهای گیاهی با کیفیت مناسب و قابل اعتماد، روش هایی اصلاحی برای کشت تجاری و فرآیندهای پس از برداشت در دست بررسی است. Heuberger و همکاران (2010) برنامه‌هایی برای روش‌هایی اصلاحی، کشت تجاری و فرآیندهای پس از برداشت در شرایط جنوب آلمان برای انتخاب گونه‌های گیاهی جنس *Leonurus* مورد استفاده در چین از سال ۱۹۹۹ توسعه دادند. نتایج حاصل از آزمایشات مزرعه‌ای، روش‌های اصلاحی،

Archive of SID

www.SID.ir

خصوصیات گیاهی و شیمیایی مواد آزمایشی، مقایسه تجربی (آزمایشی) و وارداتی مواد گیاهی با توجه به کیفیت دارویی آن‌ها، انتقال روش‌های تولید و مواد گیاهی به کشاورزان متخصص، کاربرد دارویی و در نهایت اطلاع رسانی برای کاربران در زنجیره تولید در مورد مزایای تولید محلی مواد گیاهی مورد بررسی قرار گرفت. Heuberger . و همکاران (۲۰۱۰) از روش انتخاب همسانه برای اصلاح گونه‌های *Leonurus* استفاده کردند.

اهلی کردن یک گیاه دارویی فرآیندی طولانی است ولی اگر کار از یک ژنوتیپ مناسب آغاز شود فرآیند کوتاه‌تر خواهد شد. یکی از مهم‌ترین شاخص‌ها برای تعیین ارقام و توده‌های مناسب اهلی سازی استفاده از صفات موفولوژیک است اما نتایج آن کاملاً دقیق نیست چون این خصوصیات به شدت تحت تأثیر شرایط محیطی قرار دارند. شناسایی و بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان به طور گسترده‌ای با استفاده از نشانگرهای مولکولی انجام می‌شود. این تکنیک‌ها تنوع ژنتیکی را به طور مستقیم در سطح مولکول DNA بررسی می‌کنند و همچنین مشکلات تاثیر-پذیری از محیط را ندارند. با بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان با استفاده از روش‌های مولکولی می‌توان میزان تفاوت و تشابه بین گیاهان را مورد بررسی قرار داد. همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی امکان شناسایی و جداسازی ژن‌های مسئول در تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی وجود دارد (Kumar & Kumar Gupta, 2008). نشانگرهایی مانند SSR و AFLP به طور وسیعی برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان به کار می‌روند. نشانگر RAPD نیز روشی مناسب برای بررسی تنوع ژنتیکی است (Williams *et al*., 1990). زیرا قادر است با استفاده از مقادیر اندک DNA اختلاف موجود بین گیاهان را در سطح DNA شناسایی نموده در عین حال نیاز به اطلاعات قبلی از ژنوم مورد مطالعه ندارد. مطالعات نشان داده است که بخش زیادی از نوارهای RAPD در صورتی که در آزمایشات با رعایت دقت لازم تکرار شود دارای تکرارپذیری بالا و نتایج قابل اعتمادی خواهد بود (Chalmers *et al*., 1994). از این تکنیک نیز به طور گسترده برای بررسی تنوع در انواع گیاهان دارویی استفاده شده است.

در پژوهشی Chen *et al* (2009) از نشانگر مولکولی ISSRجهت بررسی تنوع در ۱۹ ژنوتیپ *Leonurus japonicus* یکی دیگر از گونه مهم جنس *Leonurus* استفاده کردند که در نتیجه تولید ١٦٤ نوار، ۱۱۷ قطعه چند شکلی نشان دادند. YU Qi et al (2009) با استفاده از نشانگر AFLP تنوع ١٦ ژنوتیپ *Leonurus japonicus* را مورد بررسی قرار دادند. از ۱۸۲ نوار تولیدی ١٤٤ نوار چند شکلی نشان دادند. Momeni dehghi et al (2001) بررسی روابط ژنتیکی در ۱۷ نژاد بومی جنس نعناع (*Menta*) را با استفاده از نشانگرهای RAPD در ایران با استفاده از ۱۷ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی انجام دادند

Archive of SID

www.SID.ir

که از ایـن ۱۷ آغـازگر ۲۵ آغـازگر چنـد شـکلی بالایی نشان دادند.

در پژوهشی Pejman mehr et al (2001) تنوع ژنتیکی در بین و درون شش تـوده مختلـف زیره پارسی (*Bunium persicum*) در ایران را بـا استفاده از نشانگرهای RAPD مورد مطالعه قـرار دادند و ثابت کردند که تـوده‌هـای مـورد بررسـی کاملاً از هم متمایز بوده و تکامل مستقل دارند.

Sing et al (2004) روابـط ژنتیکـی ۳۰ تـوده متعلـق بـه ۵ گونـه ریحـان را بـا اسـتفاده از نشـانگرهای RAPD مـورد بررسـی قـرار دادنـد. نتایج نشان داد کـه نشـانگرهای RAPD تکنیکـی مناسب، دقیق و مـوثر در تجزیـه ژنتیکـی جـنس ریحـان مـی‌باشـد. Hadian et al (2007) تنـوع ژنتیکی ۲۸ توده ایرانی مـرزه تابسـتانه (*Saturea hortensis*) را با استفاده از نشانگر RAPD مـورد بررسی قرار دادند. از ١٦ آغازگر مورد استفاده در این تحقیق ۲۱۸ نوار چند شکل تولید گردیـد کـه ۱۸۱ نوار بین تمام توده‌ها چندشکل بود. ماتریس تشابه و نتایج حاصل از دندروگرام تولید شـده از داده‌های RAPD نشان داد کـه ایـن نشـانگرها در تعیین روابط بین توده‌های بومی مرزه تابسـتانه در ایران از دقت خوبی برخوردار است.

درکشور ایران به دلیل عدم شناخت ذخایر ژنتیکی و ژن‌های مطلوب، برنامه‌هـای اصـلاحی درخـور تـوجهی روی گیاهـان دارویـی صـورت نگرفتـه است؛ لذا می‌توان با شناسایی گونه‌های مختلف و ارزیـابی آن‌هـا، ژن‌هـای مطلـوب و مـورد نیـاز محققین را در دسترس آن‌ها قرار داد. از جمله این گیاهان گیاه دم‌شیر است که تا کنـون هـیچ گونـه مطالعه مولکولی در محدوده پـراکنش جهـانی آن جهت بررسی ژرم‌پلاسم با هـدف مطالعـه روابـط ژنتیکی برای اصلاح، اهلی سـازی و تولیـد ارقـام متناسب با نیـاز صـنایع وابسـته صـورت نگرفتـه است. در این راستا تحقیق حاضر به بررسی تنـوع ژنتیکی در درون و بین برخی از جمعیت‌های دم-شیر در ایران با استفاده از نشانگر RAPD پرداخته است تا تنوع ژنتیکی موجود را بررسـی و روابـط بین آن‌ها را گزارش نماید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در ایـن آزمـایش شامل ٤٧ نمونه گیاهی از ٦ جمعیت جمـع آوری شده از ٦ استان مختلف ایران بـود. نـام، علامـت اختصاری و محل جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- اطلاعات مربوط به رویشگاه‌های مورد مطالعه جمعیت‌های دم‌شیر.

Table 1- Accessions of *Leonurus cardiaca*, used in this study, their species, origin and collection areas.

ردیف Population no.	استان Province	محل جمع‌آوری Location	ارتفاع از سطح دریا (متر) Altitude (m)	طول جغرافیایی Longitude (E)	عرض جغرافیایی Latitude (N)
1	کرمان Kerman	مادون Madun	2600	E 56°50’31.49”	N 29°18’36.71”
2	خراسان شمالی South Khorasan	درگز Dargaz	2194	E 58°42’1.47”	N 37°34’42.91”
3	البرز Alborz	طالقان Taleghan	1850	E 50°45’34.51”	N 36°10’27.80”
4	اصفهان Isfehan	خوانسار Khansar	2210	E 50°17’57.65”	N 33°15’50.63”
5	اردبیل Ardabil	سراب Sarab	1687	E 47°31’40.24”	N 37°55’59.28”
6	مازندران Mazandaran	ساری Sari	2170	E 53°12’3.58”	N 36°3’37.78”

در فصل بهار، نمونه‌های برگی از رشد فصل بهاره گیاهان جمع‌آوری و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل شد. پس از چند بار شستشو با آب مقطر و خشک کردن آب روی برگ‌ها، با استفاده از ازت مایع منجمد و در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شد.

استخراج DNA از ۸ تک بوته هر جمعیت با استفاده از روش تغییر یافته Pirttila et al. (2001) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA با استفاده از دستگاه نانودراپ و الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ تعیین شد و به کمک آن‌ها غلظت یکسان از DNA نمونه‌ها (۱۰ نانوگرم در میکرو لیتر) آماده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio Rad, I Cycler, USA) انجام شد. برای بررسی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از ٦٠ آغازگر تصادفی استفاده شد که در میان آن-ها ۲۸ آغازگر نوارهای چند شکلی تولید نمودند. از این ۲۸ آغازگر به عنوان آغازگرهای مناسب بر ای بررسی تنوع گیاه دم شیر استفاده شد. هر مخلوط واکنش PCR شامل ۳ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۵.۲ میکرو لیتر از آغازگر با غلظت ۱۰ پیکو مول و

Archive of SID

www.SID.ir

۷/۵ میکرولیتر کیت PCR با غلظت 2X بود که در نهایت با اضافه کردن ۳ میکرو لیتر آب مقطر دوبار تقطیر استریل حجم مخلوط واکنش PCR به ۱۶ میکرولیتر رسانده شد. چرخه‌های حرارتی شامل ۹٤°C برای واسرشت سازی اولیه به مدت ٤ دقیقه، تعداد ۵ چرخه به صورت ۹۲°C به مدت یک دقیقه، دمای اتصال ۳۷°C به مدت یک دقیقه و ۷۲°C به مدت دو دقیقه برای تکثیر قطعات در چرخه دوم با ۰/۷ درجه کاهش دما در هر چرخه جهت اتصال بهتر آغازگر به DNA و تعداد ۳۵ چرخه به صورت ۹۲°C به مدت ۳۰ ثانیه ، دمای اتصال ۳۷°C به مدت ٤۵ ثانیه و ۷۲°C به مدت دو دقیقه برای تکثیر قطعات و در نهایت یک چرخه ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه برای تکمیل بسط انجام شد.

پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، محصول واکنش در چاهک‌های ژل آگارز ۱/۲ درصد تهیه شده در بافر TBE بارگزاری و به مدت ۱۲۰ دقیقه و شدت ۷۵ ولت الکتروفورز شد. بدین صورت که برای تخمین طول قطعات تکثیر شده از نشانگر اندازه یک کیلو بیس پیر (۱kb) مربوط به شرکت فرمنتاز (Fermentas) در چاهک اول استفاده شد و در بقیه چاهک‌ها DNA حاصل از PCR مربوط به نمونه‌های هر جمعیت بارگزاری شد. پس از الکتروفورز به منظور رنگ‌آمیزی، ژل به مدت ۲۰ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید ۵.۰ میکروگرم در میلی-لیتر قرار گرفته و پس از شستشو با آب مقطر در دستگاه مخصوص عکس‌برداری از ژل (دستگاه ژل داک)، تحت نور اشعه فرابنفش نوارهای تکثیر یافته DNA مشاهده و عکس‌برداری شدند.

تجزیه داده‌ها و آنالیز آماری

پس از انجام مراحل آزمایشگاهی، برای بررسی مراحل چند شکلی بین نمونه‌ها به حضور یک نوار خاص عدد یک و به عدم حضور آن عدد صفر داده شد. بعد از تشکیل ماتریس صفر و یک، ماتریس تشابه ژنوتیپ‌ها با استفاده از نرم افزار NTSYSpc (Ver 2.02) و استفاده از ضریب تشابه دایس و به روش UPGMA محاسبه گردید. تجزیه پلات به صورت سه بعدی صورت گرفت. دندروگرام بدست آمده از ماتریس تشابه با استفاده از نرم افزار Bootstrap ترسیم شد. الگوی نواری داده‌های مولکولی برای تمام جمعیت‌ها و آنالیز تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx (Ver 6.41) محاسبه شد. ماتریس فاصله جمعیت‌ها به روش نی (Nei's, 1972) و با استفاده از نرم افزار PopGene, Ver 1.31 صورت گرفت. تنوع ژنتیکی برای همه مکان‌های آللی با کمک آنالیز نی محاسبه شد (Nei's, 1972). قدرت تفکیک آغازگرها (Rp) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (جدول ۲).

$$Rp= \sum I_b$$

$$Ib= 1 - (2 \times |0.5 - p|)$$

نتایج و بحث

در بررسی اولیه برای انتخاب آغازگر مناسب که تولید چند شکلی بیشتری بنماید، ٦۰ آغازگر تصادفی RAPD مورد استفاده قرار گرفت

Archive of SID

www.SID.ir

که از این تعداد ۲۸ آغازگر چند شکلی قابل توجهی در بین جمعیت‌های مورد بررسی نشان دادند. بر اساس نتایج از کاربرد ۲۸ آغازگر انتخابی در کل ۳٦٤ نوار DNA بدست آمد که از این تعداد ۳۲۵ نوار (۸۹٪) چند شکلی نشان داده و تنها ۳۲ نوار (۱۱٪) یک شکل بودند. میانگین تعداد نوارها برای هر آغازگر ۱۳ محاسبه شد. میانگین چندشکلی بدست آمده (۸۹٪) در الگوی نواری نسبتاً بالا بود که بیانگر مناسب بودن تکنیک RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های دم شیر ایران است. تعداد نوارهای چند شکل حاصل از آغازگرهای RAPD در بین جمعیت‌ها از ۵ تا ۲۱ نوار متغیر بود که بیانگر قدرت متفاوت آغازگرها در شناسایی چند شکلی در نمونه‌های مورد بررسی است. در بین آغازگر-ها بیشترین نوار تکثیر شده توسط آغازگر 02 -TIBMBC با ۲۲ نوار تکثیر شده ایجاد شد که ۲۱ عدد آن‌ها چند شکل بودند؛ و کم‌ترین نوار تکثیر شده مربوط به آغازگر TIBMBC-12 با ٦ نوار تکثیر یافته بود که ۵ عدد از آن‌ها چند شکل بودند (جدول ۲). اندازه قطعات تکثیر شده در تمام آغازگرها در محدوده ۱۵۰۰-۳۰۰ جفت باز تخمین زده شد. میزان شباهت یا تفاوت بین جمعیت‌ها توسط ماتریس فاصله و همچنین دندروگرام حاصل از آن‌ها تعیین شد.

الگوی نواری جمعیت‌ها

الگوی نواری داده‌های مولکولی برای تمام جمعیت‌ها به شرح جدول شماره ۳ محاسبه شد. نتایج نشان داد بخش بیشتری از ژنوم جمعیت درگز با بیشترین تعداد نوار تولیدی توسط آغازگرها مورد پوشش قرار گرفته است. وجود تعداد بالای نوارهای اختصاصی این جمعیت نسبت به سایر جمعیت‌ها نشان از تفاوت این جمعیت با سایر جمعیت‌ها است که با اطلاعات تاکسونومی مطابقت دارد. جدایی جمعیت‌های کرمان و سراب با تعداد نوار اختصاصی بیشتر نسبت به سایر جمعیت‌ها حاکی از فاصله ژنتیکی بیشتر این جمعیت با دیگر جمعیت‌هاست.

استفاده از ماتریس تشابه می‌تواند در جهت شناسایی و درک بهتر شباهت‌ها در میان جمعیت-های مورد بررسی بسیار موثر باشد. میزان حداقل تشابه ژنتیکی در این تحقیق ۰/۰۸ بین نمونه‌های درگز ۱ و ساری ۵ و حداکثر آن بین نمونه‌های ساری ۷ و ساری ۳ معادل ۰/۸۷ بدست آمد. دندروگرام بدست آمده از ماتریس تشابه با استفاده از نرم افزار Bootstrap تنوع ژنتیکی بالای بین جمعیت‌ها و یکنواختی و شباهت بین ژنوتیپ‌های درون جمعیت‌های مورد بررسی را تایید می‌کند (شکل ۳). به طوری که در مقدار پایداری ۱۰۰، ژنوتیپ‌ها را در ۲ گروه اصلی جای داد. جدایی ژنوتیپ‌های مربوط به جمعیت درگز از استان کرمان در سطح پایداری ۱۰۰و تفکیک این جمعیت از جمعیت‌های دیگر با تفاوت فاحش را می‌توان به طور قطع به دلیل جدایی در زیرگونه (subsp.*turkestanicus*) و اختلافات اساسی در شرایط آب و هوایی، توپوگرافی و خاک منطقه دانست.

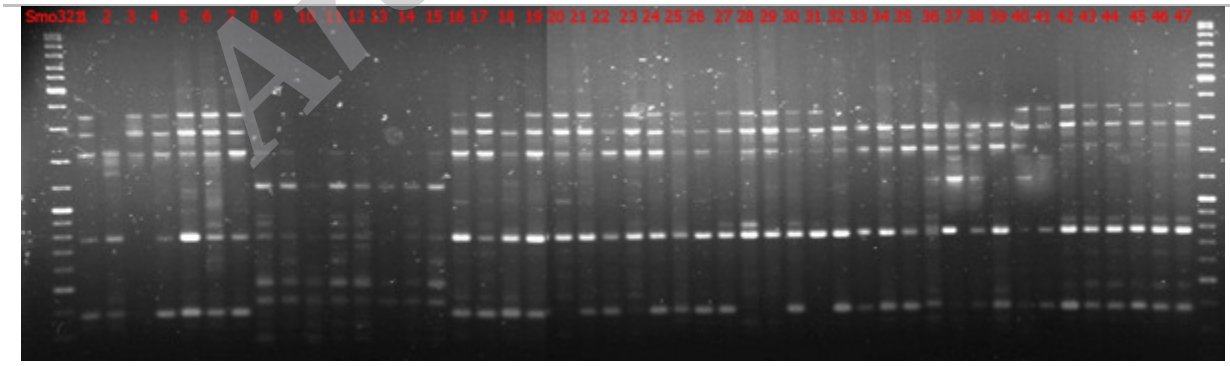
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- نوع، توالی و درصد چند شکلی آغازگرهای مورد استفاده در آنالیز RAPD جمعیت‌های طبیعی دم‌شیر.

Table 2- Type, frequency and percentage of polymorphic primers used in the RAPD analysis of natural populations of *Leonurus cardiaca*.

ردیف No	آغازگر Primer	توالی آغازگر Sequence	تعداد کل قطعات تکثیر شده Total bands	تعداد قطعات چند شکل Polymorphic bands	درصد چند شکلی ٪ Polymorphic bands	قدرت تفکیک RP value
1	TIBMBA-02	5'TGCTCGGCTC3'	17	16	94%	7.0
2	TIBMBA-03	5'GTGCGAGAAC3'	12	10	83%	3.4
3	TIBMBA-06	5'GGACGACCGT3'	13	11	84%	4.2
4	TIBMBA-08	5'CCACAGCCGA3'	17	15	88%	6.8
5	TIBMBA-09	5'GGAACTCCAC3'	13	10	76%	3.8
6	TIBMBA-10	5'GGACGTTGAG3'	12	10	83%	5.7
7	TIBMBA-14	5'TCGGGAGTGG3'	11	9	81%	2.3
8	TIBMBA-15	5'GAAGACCTGG3'	9	8	88%	2.8
9	TIBMBA-20	5'GAGCGCTACC3'	19	19	100%	7.9
10	TIBMBB-03	5'TCACGTGGCT3'	19	16	84%	5.0
11	TIBMBB-04	5'ACCAGGTCAC3'	10	9	90%	4.6
12	TIBMBB-05	5'GGGCCGAACA3'	13	12	92%	4.5
13	TIBMBC-02	5'ACAGTAGCGG3'	22	21	95%	7.4
14	TIBMBC-03	5'GGCTTGACCT3'	18	17	94%	6.6
15	TIBMBC-10	5'AACGTCGAGG3'	7	6	85%	2.4
16	TIBMBC-11	5'TTTTGCCCCC3'	8	8	100%	2.6
17	TIBMBC-12	5'CCTCCACCAG3'	6	5	83%	2.3
18	TIBMBC-17	5'CCGTTAGTCC3'	11	11	100%	3.9
19	TIBMBC-20	5'AGCACTGGGG3'	14	10	71%	4.5
20	TIBMBD-03	5'GAGCCCCGAA3'	14	14	100%	6.6
21	TIBMBD-05	5'GTGCGGAGAG3'	10	7	70%	3.9
22	TIBMBD-12	5'GGGAACCGTC3'	7	6	85%	1.2
23	TIBMBE-02	5'ACGCCTGTAG3'	12	11	91%	4.2
24	TIBMBE-03	5'TGGACTCGGT3'	11	10	90%	3.3
25	TIBMBE-04	5'CCCAAGGGAA3'	20	20	100%	7.0
26	TIBMBE-17	5'GGGAAAAGCC3'	10	9	90%	5.6
27	TIBMBE-19	5´CTGGTGCTCA3´	18	17	94%	6.5
28	TIBMBE-20	5'CAAAGGCGTG3'	9	9	100%	3.4
	میانگین		13	11.6	89%	
	جمع کل		364	325	–	–



شکل ۲- الگوی نواری حاصل از قطعات تکثیر ٦ جمعیت گیاه دم‌شیر (۷-۱ جمعیت کرمان، ۱۵-۸ جمعیت درگز، ۲۳-۱٦ جمعیت طالقان، ۳۱-۲٤ جمعیت خوانسار، ۳۹-۳۲ جمعیت سراب و ٤۷-٤۰ جمعیت ساری

Figure 2- Banding pattern of amplified fragments of sex populations *Leonurus cardiaca.*

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- الگوی نواری داده‌های مولکولی برای جمعیت‌های دم‌شیر

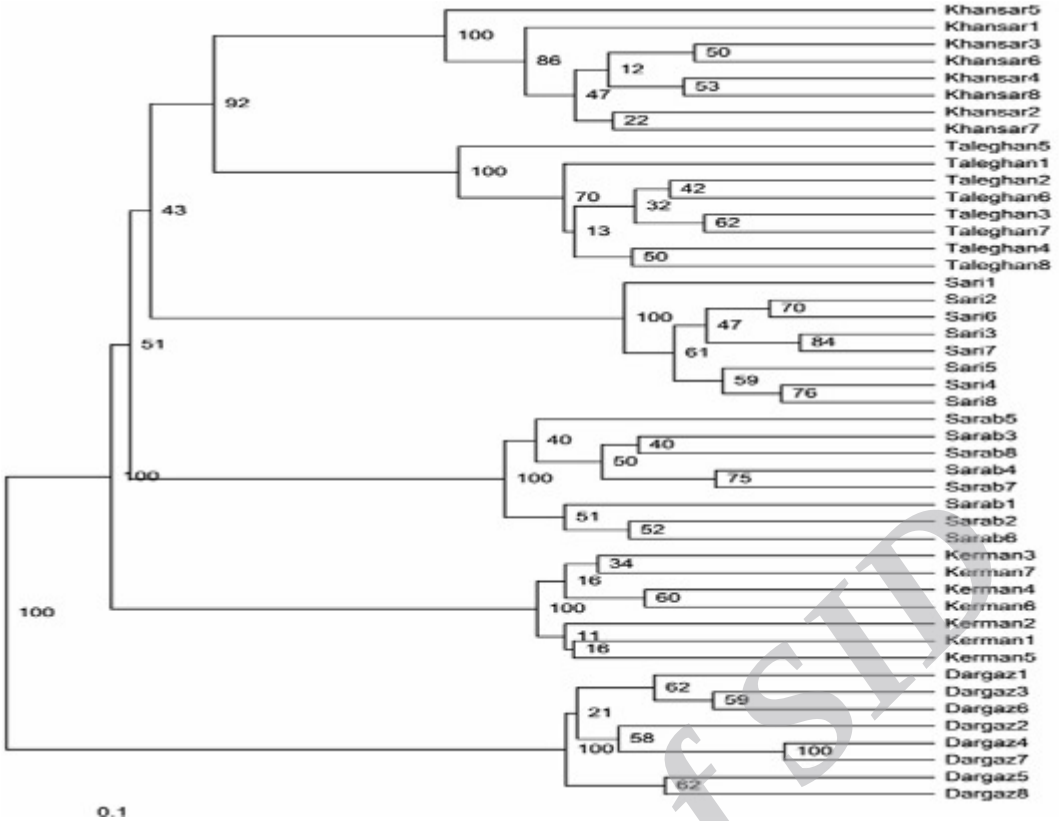
Banding patterns, molecular data for populations *Leonurus cardiaca*

ردیف No	جمعیت‌ها Population	کرمان Kerman	درگز Dargaz	طالقان Taleghan	خوانسار Khansar	سراب Sarab	ساری Sari
1	تعداد نوارها No. Bands	10	136	128	111	124	102
2	تعداد نوارها با فراوانی >= ۵٪ No. Bands Freq. >= 5%	110	136	128	111	124	102
3	تعداد نوارهای اختصاصی No. Private Bands	23	55	19	15	26	14
4	تعداد نوارهای مشترک محلی با فراوانی >= ۵٪ در <=۲۵٪ جمعیت‌ها No. LComm Bands (<=25%)	0	0	0	0	0	0
5	تعداد نوارهای مشترک محلی با فراوانی >= ۵٪ در <=۵۰٪ جمعیت‌ها No. LComm Bands (<=50%)	35	44	49	40	46	43
6	میانگین هتروزیگوتی مورد انتظار Mean He (2^*p^*q)	0.075	0.097	0.099	0.077	0.105	0.055
7	میانگین هتروزیگوتی مورد انتظار غیر مرتبط (2N.(2N-1))*He SE of Mean UHe	0.081	0.103	0.105	0.082	0.112	0.058

اختلافات اساسی در صفات مورفولوژیکی این زیرگونه از قبیل ارتفاع ساقه، تعداد ساقه اصلی و فرعی و تراکم بوته‌ها به طور واضح در زمان نمونه برداری مشخص بود. جدایی ژنوتیپ-های جمعیت کرمان از ژنوتیپ‌های مربوط به جمعیت‌های خوانسار، ساری و سراب در سطح پایداری ۱۰۰ را با توجه به آنکه به یک زیرگونه تعلق دارند می‌توان به تفاوت فاحش در شرایط اقلیمی منطقه رابر کرمان با سه منطقه دیگر نسبت داد. اقلیم منطقه خوانسار و طالقان بسیار به هم شبیه بود چرا که نمونه‌ها فقط در باغات و در پای درختان رشد می‌کردند ولی شرایط آب و هوایی منطقه ساری متفاوت از مناطق سراب و کرمان بود ولی تأثیر اقلیم به اندازه‌ای نبوده که بتواند بین جمعیت‌های یک زیرگونه اختلاف فاحشی از نظر ژنتیکی ایجاد کند. اما اقلیم منطقه طالقان، دسترسی به آب و نور و خاک مناسب در باغات توانسته این جمعیت را به جمعیت‌های سراب و خوانسار نزدیک کند.

Archive of SID

www.SID.ir

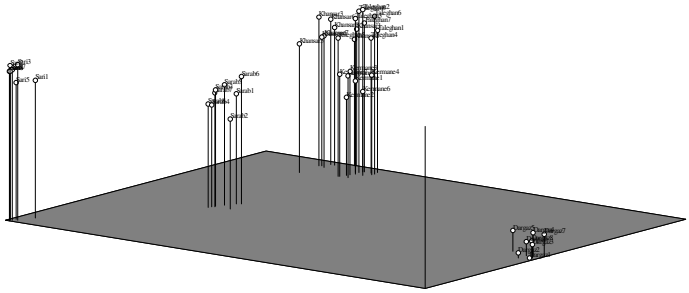


شکل ۳- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های شش جمعیت دم‌شیر مورد مطالعه بر اساس ماتریس تشابه.

Figure 3- Dendrogram of RAPD analysis on 47 accessions of *Leonurus cardiaca* based on Jaccard similarity coefficient.

آزمون تجزیه پلات

در این تحقیق آزمون تری پلات برای بررسی فواصل ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از دو و سه عامل اصلی انجام شد که نتایج آن در شکل شماره ٤ نشان داده شده است. این آزمون همانند تجزیه کلاستر بخوبی می‌تواند جدا شدن ژنوتیپ‌ها و قرابت آن‌ها را نشان دهد. در این آزمون نیز جمعیت درگز به خوبی از جمعیت‌های دیگر جدا شد. جدایی ژنوتیپ‌های مربوط به جمعیت کرمان و نزدیکی ژنوتیپ‌های خوانسار و طالقان به وضوح قابل مشاهده است.



شکل ٤- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های شش جمعیت گیاه دم‌شیر مورد مطالعه توسط تجزیه پلات سه بعدی.

Figure 4- Grouping of RAPD analysis on 47 accessions of *Leonurus cardiac* based on a nalysis of three-dimensional plot.

Archive of SID

www.SID.ir

آنالیز منطقه‌ای نمونه‌ها

در این ارزیابی شاخص تنوع ژنتیکی نی (Nei's, 1972) و شاخص اطلاعاتی شانون (I) برای هر یک از جمعیت‌ها (جدول شماره ٤) و تعداد آلل‌های مشاهده شده، تعداد آلل‌های موثر برای هر آغازگر (جدول شماره ۵) محاسبه شد. بر اساس ارزیابی انجام شده قدرت هر آغازگر در تولید نوارهای چند شکل برای هر جمعیت مشخص شد.

همچنین تنوع کل (Ht)، تنوع درون جمعیت‌ها (Hs)، ضریب تنوع بین جمعیت‌ها (Gst)، تخمین جریان ژنی از Gst یا Gcs (Nm) برای هر یک از مکان‌های آللی توسط نرم‌افزار Popgene محاسبه شد که میانگین هر یک از آن‌ها در زیر آمده است.

به طور کلی مقادیر بالای ۰/۲۵ نشان دهنده تفاوت زیاد بین مناطق یا جمعیت‌های مورد مطالعه می‌باشد. این مسئله نشان می‌دهد که به دلیل دگرگشنی بین ژنوتیپ‌ها، نزدیکی بیشتری بین گیاهان دم‌شیر یک منطقه با گیاهان بین جمعیت‌ها دیده می‌شود. بر این اساس می‌توان از ژنوتیپ‌های مناطق مختلف که دارای صفات مطلوبی هستند و از نظر ژنتیکی دور از هم هستند برای دورگ‌گیری استفاده کرد.

جدول ٤- پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های طبیعی گیاه دم‌شیر.

Table 4- Parameters of genetic diversity in populations *Leonurus cardiaca.*

PPB(%)	I*	h*	تعداد افراد No sampel	جمعیت‌های مورد بررسی Population
22.15%	0.11	0.08	7	کرمان Kerman
25.23%	0.14	0.10	8	درگز Dargaz
26.15%	0.15	0.10	8	طالقان Taleghan
24.00%	0.12	0.08	8	خوانسار Khansar
27.08%	0.15	0.10	8	سراب Sarab
14.77%	0.08	0.05	8	ساری Sari

*** h شاخص تنوع ژنتیکی نی، I: شاخص اطلاعاتی شانون، PPB(%): درصد نوارهای چند شکل**

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی تنوع در درون جمعیت‌های دم‌شیر به کمک میانگین شاخص تنوع ژنتیکی نی و شاخص اطلاعاتی شانون مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی درون جمعیت سراب و طالقان (I =۰/۱۵ ,h =۰/۱۰) نسبت به سایر جمعیت‌ها، بیشترین و در جمعیت ساری (I = ۰/۰۸, h = ۰/۰۵) کم‌ترین بوده است. ضریب تمایز ژنتیکی در میان جمعیت‌ها (Gst, Gst=(Ht-Hs)-.Ht) به مقدار ۰/۷۲ (۷۲٪) و برآورد جریان ژنی (Nm = 0.5 (1_ Gst).Gst)، به طور متوسط تعداد مهاجرت رد و بدل شده در هر نسل در میان جمعیت‌ها برابر ۰/۲۸ (۲۸٪) با فرض تعادل هاردی واینبرگ محاسبه شد. مقدار پایین Nm نشان از تبادل پایین ژن در بین جمعیت‌های دم شیر است که می‌تواند به دلیل فاصله زیاد بین رویشگاه‌های این گیاه باشد.

نتایج حاصل از بررسی تعداد آلل موثر و مشاهده شده حاکی از آن است که هر چه مقدار آلل مشاهده شده آغازگر به مقدار ۲ (گیاه دم‌شیر 2n است) نزدیک‌تر باشد نشان از قدرت بالای آن آغازگر در تولید نوار چندشکل در بین جمعیت‌هاست، که به نحوی می‌توان آن را به تولید تعداد نوارهای اختصاصی برای آن جمعیت ربط داد، به گونه‌ای که تعداد آغازگر بیشتری در جمعیت درگز (۹ آغازگر) نسبت به سایر جمعیت‌ها بیشترین تعداد آلل مشاهده شده را دارا بودند.

تجزیه خوشه‌ای مناطق

تجزیه خوشه‌ای مناطق تطابق کامل با دندروگرام حاصل از تفکیک ژنوتیپ‌ها را تایید می‌کند. بررسی ماتریس تشابه در این مطالعه بیشترین همسانی را در بین توده‌های خوانسار و طالقان و کم‌ترین همسانی را در بین توده‌های درگز و ساری نشان داد که به ترتیب حاکی از میزان نزدیکی و دوری ژنتیکی این جمعیت‌ها نسبت به یکدیگر می‌باشد (جدول ٦). بررسی نتایج در غالب دندروگرام‌ها و نمودارها امکان جمع‌بندی سریع و آسان نتایج را امکان پذیر می‌سازد (شکل ۲).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- پارامترهای تعداد آلل‌های مشاهده شده و موثر برای هر آغازگر در جمعیت‌های طبیعی گیاه دم‌شیر.

Table 5- Parameters, number of alleles observed and effective for each primer in populations *Leonurus cardiac.*

	na*						ne*					
	کرمان	درگز	طالقان	خوانسار	سراب	ساری	کرمان	درگز	طالقان	خوانسار	سراب	ساری
	Kerman	Dargaz	Taleghan	Khansar	Sarab	Sari	Kerman	Dargaz	Taleghan	Khansar	Srab	sari
TIBMBA-02	1.13	1.50	1.44	1.25	1.44	1.19	1.11	1.29	1.34	1.21	1.37	1.14
TIBMBA-03	1.20	1.00	1.10	1.10	1.40	1.10	1.17	1.00	1.02	1.10	1.20	1.05
TIBMBA-06	1.00	1.45	1.27	1.18	1.09	1.09	1.00	1.29	1.16	1.07	1.05	1.09
TIBMBA-08	1.13	1.27	1.40	1.53	1.27	1.20	1.03	1.21	1.33	1.29	1.15	1.13
TIBMBA-09	1.00	1.00	1.00	1.00	1.11	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.06	1.00
TIBMBA-10	1.00	1.10	1.00	1.00	1.00	1.10	1.00	1.09	1.00	1.00	1.00	1.09
TIBMBA-14	1.22	1.22	1.11	1.11	1.00	1.11	1.05	1.12	1.10	1.06	1.00	1.03
TIBMBA-15	1.00	1.00	1.38	1.25	1.63	1.25	1.00	1.00	1.17	1.24	1.46	1.06
TIBMBA-20	1.63	1.32	1.47	1.26	1.26	1.11	1.44	1.22	1.37	1.10	1.20	1.06
TIBMBB-03	1.00	1.13	1.19	1.06	1.31	1.00	1.00	1.09	1.04	1.06	1.20	1.00
TIBMBB-04	1.11	1.22	1.44	1.33	1.44	1.00	1.03	1.09	1.32	1.11	1.34	1.00
TIBMBB-05	1.25	1.08	1.17	1.17	1.17	1.00	1.19	1.02	1.16	1.09	1.04	1.00
TIBMBC-02	1.19	1.24	1.38	1.43	1.38	1.52	1.04	1.14	1.22	1.19	1.20	1.23
TIBMBC-03	1.29	1.00	1.24	1.29	1.29	1.41	1.25	1.00	1.19	1.13	1.21	1.26
TIBMBC-10	1.00	1.33	1.33	1.17	1.50	1.50	1.00	1.29	1.20	1.16	1.36	1.24
TIBMBC-11	1.00	1.38	1.13	1.63	1.25	1.38	1.00	1.31	1.03	1.30	1.10	1.26
TIBMBC-12	1.20	1.20	1.80	1.40	1.40	1.20	1.05	1.20	1.37	1.39	1.28	1.05
TIBMBC-17	1.18	1.18	1.27	1.36	1.36	1.45	1.14	1.14	1.12	1.15	1.31	1.23
TIBMBC-20	1.50	1.20	1.20	1.40	1.10	1.30	1.40	1.11	1.15	1.23	1.09	1.14
TIBMBD-03	1.43	1.36	1.43	1.07	1.36	1.71	1.24	1.25	1.22	1.06	1.26	1.48
TIBMBD-05	1.43	1.57	1.57	1.43	1.71	1.14	1.14	1.37	1.44	1.37	1.62	1.03
TIBMBD-12	1.17	1.17	1.33	1.17	1.33	1.17	1.04	1.16	1.20	1.14	1.33	1.14
TIBMBE-02	1.00	1.27	1.09	1.18	1.09	1.00	1.00	1.18	1.02	1.13	1.02	1.00
TIBMBE-03	1.10	1.40	1.00	1.20	1.20	1.30	1.10	1.28	1.00	1.15	1.17	1.27
TIBMBE-04	1.40	1.25	1.25	1.15	1.30	1.10	1.22	1.11	1.17	1.03	1.10	1.06
TIBMBE-17	1.33	1.22	1.44	1.56	1.33	1.44	1.22	1.21	1.39	1.40	1.31	1.39
TIBMBE-19	1.00	1.24	1.29	1.24	1.12	1.18	1.00	1.16	1.21	1.09	1.11	1.10
TIBMBE-20	1.11	1.67	1.22	1.11	1.22	1.56	1.06	1.53	1.21	1.11	1.22	1.39

*na تعداد آلل مشاهده شده، ne: تعداد آلل‌های موثر.

در ارزیابی ماتریس تشابه، میزان تشابه محاسبه شده در بین جمعیت‌های دم‌شیر، بر اساس نوارهای چند شکل در دامنه‌ای از۰/٦۵ تا ۰/۸۵ قرار داشت که این تنوع بالا می‌تواند به واسطه توزیع جغرافیایی وسیع این گونه در ایران باشد. جمعیت‌های طالقان و خوانسار با میزان تشابه ۰/۸۵ بیشترین شباهت را در بین جمعیت-های مورد مطالعه دارا بودند که دلیل آن را می-توان به شرایط آب و هوایی نسبتاً یکسان و شرایط آبی و خاکی نسبتاً مشابه محل جمع آوری دو نمونه دانست چرا که هر دو نمونه در باغات و در پای درختان که از آب و مواد غذایی کافی و سایه‌بان مطلوب بهره می‌بردند جمع آوری شدند. از طرف دیگر با توجه به نزدیکی مناطق جغرافیایی مذکور امکان جابه‌جایی مواد گیاهی دور از انتظار نمی‌باشد. نتایج جدول ماتریس

Archive of SID

www.SID.ir

تشابه نشان داد که جمعیت‌های درگز و ساری با میزان تشابه ۰/٦٥ بیشترین تفاوت را در بین جمعیت‌های مورد بررسی از آن خود کرده‌اند که دلیل آن را می‌توان به اختلاف در زیرگونه (به ترتیب *turkestanicus* و *cardiaca*) و شرایط آب و هوایی کاملاً متفاوت این دو منطقه دانست. جدایی جمعیت کرمان از چهار جمعیت دیگر با توجه به شباهت در طبقه‌بندی گیاه‌شناسی را می‌توان به شرایط خاص اقلیمی منطقه نسبت داد.

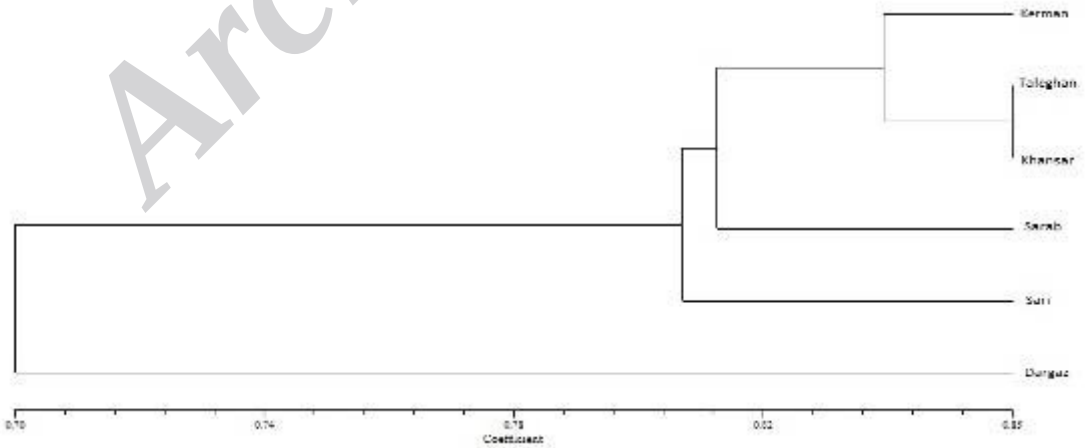
تجزیه واریانس داده‌ها

آنالیز تجزیه واریانس داده‌های مولکولی (AMOVA) میزان تنوع درون و بین جمعیت‌های دم‌شیر را به ترتیب ٦٦٪ و ٣٤٪ نشان داد.

جدول ٦- میزان تشابه بین شش جمعیت مورد مطالعه.

Table 6-The similarity between the six populations studied

جمعیت مورد بررسی Population	کرمان Kerman	درگز Dargaz	طالقان Taleghan	خوانسار Khansar	سراب Sarab	ساری Sari
کرمان Kerman	1.000					
درگز Dargaz	0.704	1.000				
طالقان Taleghan	0.826	0.703	1.000			
خوانسار Khansar	0.843	0.710	0.855	1.000		
سراب Sarab	0.793	0.708	0.814	0.817	1.000	
ساری Sari	0.789	0.657	0.800	0.821	0.800	1.000



شکل ٥- گروه‌بندی شش جمعیت دم‌شیر مورد مطالعه بر اساس ماتریس تشابه.

Figure 5-Grouping Six populations of *Leonurus cardiac* based on similarity matrix.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در مجموع این تحقیق توانایی نشانگرهای RAPD را در ارزیابی تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت-های دم‌شیر نشان می‌دهد. در رابطه با ٤٧ ژنوتیپ مورد بررسی نتایج بدست آمده نشان داد که در اکثر موارد هر چه محل‌های جمع آوری دو ژنوتیپ به هم نزدیک‌تر بوده شباهت‌های ژنتیکی بیشتری با هم داشتند. آنالیز تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها این مطلب را اثبات می‌کند. همان‌گونه که نمودار مربوط به تجزیه واریانس نشان داد ۷۰٪ بین جمعیت‌ها تنوع وجود دارد در حالی که این مقدار در درون جمعیت‌ها ۳۰٪ می-باشد. آنالیز منطقه با دندروگرام حاصل از تفکیک ژنوتیپ‌ها مطابقت نشان می‌دهد. بنابراین طبق نتایج بدست آمده، تفاوت ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها در اکثر مناطق وجود دارد که حاصل از ذخیره ژنتیکی قوی، شرایط آب و هوایی مختلف و اثر انتخاب می‌باشد. جدایی جمعیت درگز از سایر جمعیت‌ها با اطلاعات تاکسونومی و جدایی این زیرگونه مطابقت دارد. بیشترین اختلاف جمعیت درگز و ساری را می‌توان به دلیل فاصله زیاد جغرافیایی و عدم تبادل مواد رویشی دانست که با اطلاعات تاکسونمی مطابقت دارد. شباهت بسیار زیاد جمعیت خوانسار و طالقان را می‌توان به دلیل نزدیکی دو منطقه و احتمالاً جابه‌جایی مواد رویشی دانست. هر چند جدایی زیرگونه ها و اطلاعات تاکسونومی نمی‌تواند دلیل قطعی و مطابق با اطلاعات ژنتیکی جمعیت‌ها باشد. با این وجود از دگرگشن بودن این گیاه و جود تنوع بالای بین و درون جمعیت نمی‌توان صرف نظر کرد. بنابراین می‌توان از نمونه‌های مناطق دور از هم به عنوان والد جهت تلاقی در برنامه‌های اصلاحی استفاده کرد از جمله تلاقی ژنوتیپ‌های جمعیت درگز با دیگر جمعیت‌ها می‌تواند گزینه مناسبی برای تولید هیبریدهایی با عملکردهای مورد نظر باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس داده‌های مولکولی (AMOVA) جمعیت‌های دم‌شیر.

Table 7-Analysis of variance molecular data (AMOVA) of populations *Leonurus cardiaca.*

درصد واریانس Variance percentage	واریانس تخمینی Estimate variance	میانگین مربعات Mean Square	مجموع مربعات Sum of Squares	درجه آزادی Degree Freedom	منابع تغییرات Source
70%	38.03	314.18	1570.93	5	بین جمعیت‌ها Among Pops
30%	16.40	16.40	672.55	41	درون جمعیت‌ها Within Pops
100%	54.43		2243.48	46	کل Total

منابع

Ali SI, Nasir YJ (1990). Labiatae in Flora of Pakistan. No. 192.University of Karachi.310pp.

Chalmers KJ, Newton AC, Waugh R, Wilson J, Powell W (1994). Evaluation of the extent of genetic diversity in mahoganies (Meliaceae) using RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics. 89: 504–508.

Chen L, Zhao L, Bai Y, Hu R, Si J (2009). Genetic relationship analysis of different provenances of *Leonurus japonicus* by ISSR marker. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi 341343-5.

Hadian J, Tabatabai SM, Naghavi MR, Jamzade Z (2007). Evaluation genetic diversity Satureia in Iran. Ph.D. Thesis. Department of Horticultural Sciences, Tehran University.

Heuberger H, Bauer R, Friedl F, Heuble G, Hummelesberger j, Nogel R, Seidenberger R, Londono TP (2010) Cultivation and breeding of Chines medicinal plant in Germany. Planta Medica. 76: 1956-1962.

Kumar J and Kumar Gupta P (2008). Molecular approaches for improvement of medicinal and aromatic plants. Plant Biotechnology Report. 2: 93-112.

Momenidehghi S, Shiran B and Razmju KH (2001). Assessment of genetic relationships *Menta* using molecular markers RAPD. National Biotechnology Conference, Ferdowsi University of Mashhad, pp. 235-237.

Mozafarian V (1996). lexicon of Iranian plant names. Publishing contemporary vocabulary.

Omidbeigi R (2010). Production and processing of medicinal plants. Publication of Astan Quds Razavi.

Pejmanmehr M, Hasani MA and Tabatabai SM (2001). Germination and genetic diversity studies of Bunium using molecular markers RAPD. Department of Horticultural Sciences, Tehran University.

Popescu ML, Dinu M, Toth O (2009). Contibutions to the pharmacognostical and phytobiological study on *Leonurus cardiac* (Lamiaceae). *Farmacial* 2033; 57: 4.

Singh AP, Dwivedi S, Bharti SR, Srivastava A, Singh V and Khanuja SPS (2004). Phylogenetic relationships as in *Ocimmum* revealed by RAPD markers. Euphytica 136: 11-20.

Williams JGK, Kubelik AE, livak KJ, Rafaiski JA, and Tingey SC (1990). DNA polymorphisis amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nukleic Acid Research 18: 6531-6536.

Yu Q, Shen X, Shen Y, Chen J, Shi C, Wang Z (2009). AFLP Analysis of genetic diversity of *Leonurus japonicus* germplasm resources. Zhongcaoyao 40:1296-1299.

Zargari A (1990). Medicinal plant. Publication of Tehran University.

Archive of SID

www.SID.ir

Study of genetic diversity of medicinal plant *Leonurus cardiaca* some populations in Iran using RAPD marker

Soorni A.[1*], Nazeri V.[2], Fatahi R.[2], Ahadi E.[1]

[1] MSc student of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.
[2]Associate Professor of department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran.

Motherwort (*Leonurus cardiaca*) is the only species of the genus *Leonurus* in Iran. It has many different compounds such as flavonoids, iridoids, triterpene, tannins, sterols, carotenoids useful to treat heart and therapy stomach diseases, any neurological disorders. In this study, RAPD molecular markers were used to evaluate genetic diversity among 30 accessions from six wild populations of motherwort in Iran. Totally 60 random primers were tested initially where 28 produced polymorphic and high resolution bands. In total, 364 DNA fragment were obtained, from which 325 were polymorphic. Cluster analysis of genotype based on the Dice similarity coefficient and UPGMA method was performed. The min and max population's values of genetic similarity were recorded between Dargaz 1 and Khansar 5 (0.12) and Sari 2 and Sari 3 (0.89) respectively. In the Cluster analysis genotypes were divided into two main groups at 20 distances, on included Dargaz and the other contained Sarab, Khansar, Kerman, Sari and Taleghan. Population diversity using Nei's genetic diversity (h) and Shannon index (I) showed that genetic variation within populations Sarab and Taleghan (h=0.10, I=0.15) was the highest and within Kerman population was the least (h=0.06, I=0.10). crosses genotypes of Dargaz population with other populations according to genetic distance determined in this study can be good option for Production Hybrid with desired functions.

Keywords: *Leonurus cardiaca, Molecular markers, Breeding, Polymorphism, Gene flow.*

Archive of SID

[*] Corresponding Author: Soorni A. Tel: 09363623020 Email: soorni64@ut.ac.ir

www.SID.ir