DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijmapr.2012.3065

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۸، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۴۷-۳۵ (۱۳۹۱)

بررسی تنوع ژنتیکی در بین و درون برخی از جمعیت‌های آویشن آذربایجانی (*Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost) با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD

علیرضا یاوری[۱]، وحیده ناظری[۲*]، فاطمه سفیدکن[۳]، ذبیح‌اله زمانی[٤] و محمداسماعیل حسنی[٥]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۲*- دانشیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، پست الکترونیک: nazeri@ut.ac.ir
۳- استاد، بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور
٤- دانشیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
٥- استادیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۸ تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۸ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۹

چکیده

در مطالعه حاضر نشانگرهای مولکولی RAPD جهت بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم برخی از جمعیت‌های وحشی آویشن آذربایجانی (*Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost) در ایران بکار برده شد. از تعداد ۲۱ آغازگر ده نوکلئوتیدی بکار برده شده، در مجموع ۳۱۰ نوار با وضوح بالا تولید شد که از این تعداد، ١٤ نوار مونومورفیک و ۲۹٦ نوار دارای چند شکلی (پلی‌مورفیسم) بودند. به‌طور میانگین تعداد ١٤/٧٦ نوار به‌ازای هر آغازگر بدست آمد که تعداد ١٤/٠٩ نوار از آنها چند شکل بودند. ماتریس فاصله جمعیت‌ها توسط روش نی محاسبه شد و براساس تجزیه خوشه‌ای حاصل از این ماتریس، دندروگرام به روش UPGMA ترسیم گردید. تجزیه واریانس داده‌های مولکولی (AMOVA) انجام شد. تجزیه خوشه‌ای نشان داد که در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی، جمعیت‌های بند (استان آذربایجان غربی) و جلفا (استان آذربایجان‌شرقی) با میزان فاصله ۰/۱۳۰ بیشترین تفاوت را نشان دادند. جمعیت‌های نازلو و بند (هر دو جمعیت آویشن آذربایجانی) از استان آذربایجان‌غربی با میزان فاصله ۰/۰۸۱ بیشترین شباهت را در بین جمعیت‌های مورد مطالعه داشتند. میانگین تنوع ژنتیکی نی (h) و شاخص اطلاعاتی شانون (I) نشان دادند که بیشترین تنوع در درون جمعیت جلفا (I= ۰/۲۹٤ و h= ۰/۱۹٦) و کمترین تنوع ژنتیکی در جمعیت قوشچی (I= ۰/۲۰۹ و h= ۰/۱۳۹) دیده می‌شود. میانگین شاخص‌های Fst و Nm که میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهند، به‌ترتیب ۰/۳۰ و ۱/۱٤ بدست آمد که بیانگر بالا بودن تبادل ژنی بین پنج رویشگاه آویشن آذربایجانی مورد مطالعه در این بررسی می‌باشد. نتایج این تحقیق بیانگر وجود تنوع قابل توجه برای جمعیت‌های آویشن آذربایجانی در ایران می‌باشد که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، جمعیت، آویشن آذربایجانی (*Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost)، نشانگرهای RAPD.

مقدمه

جنس آویشن (*Thymus*) با ١٤ گونه شامل گیاهان دارویی مهمی در ایران است که از گذشته‌های دور به‌طور فراوان مورد استفاده قرار گرفته‌است. گونه‌ای که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته در ایران فقط در شمال‌غرب در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی پراکنش دارد، آویشن

آذربایجانی با نام علمی *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost است که متعلق به خانواده نعناع (Lamiaceae) می‌باشد (Rechinger, 1982). در سال‌های اخیر تعداد گونه‌های دارویی که طی برنامه‌های اصلاحی ثبت و معرفی شده‌اند، افزایش یافته‌است. بهبود میزان مواد مؤثره و فعالیت بیولوژیکی این گیاهان ازجمله اهداف مهم در برنامه‌های اصلاحی می‌باشد. با توجه به رفتارهای اکولوژیکی، توده‌های بومی گیاهان دارویی به‌ویژه جمعیت‌های وحشی آنها، از نظر ویژگی‌های مورفو- فنولوژیکی و فیتوشیمیایی متنوع هستند. امروزه در کشت و صنعت گیاهان دارویی، تأمین مواد اولیه گیاهی دارای امنیت، پایداری و کارایی بسیار مورد توجه قرار می‌گیرد. بنابراین در صورت بهره‌برداری و وارد کردن یک گونه دارویی به کشت و صنعت، بررسی تنوع در بین آنها بسیار ضروری خواهد بود. منابع ژنتیکی بومی متنوع در یک منطقه می‌توانند منبع بسیاری از ژن‌های مفید در جهت اصلاح گیاهان باشند. این ژن‌ها عمدتاً در گیاهان بومی یک منطقه طی قرن‌های متمادی بوجود آمده و ذخیره گردیده‌اند. جمعیت‌های وحشی جمع‌آوری شده از طبیعت، توده‌های موجود در بانک ژن و باغ‌های گیاه‌شناسی و ارقام اولیه بومی و نژادهای سرزمینی قدیمی از منابع تنوع ژنتیکی طبیعی می‌باشند (Pank, 2007).

در کشور ایران به‌دلیل عدم شناخت ذخایر ژنتیکی و ژن های مطلوب، برنامه اصلاحی درخور توجهی روی گیاهان دارویی انجام نشده‌است. بنابراین می توان با شناسایی گونه‌های مختلف و ارزیابی آنها، ژن‌های مطلوب و مورد نیاز محققان را در دسترس آنها قرار داد. جهت بررسی تنوع ژنتیکی می توان از انواع نشانگرها استفاده کرد. نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی به دلیل میزان چندشکلی قابل دسترس کمتر در مقایسه با نشانگرهای DNA، کمتر در امر طبقه‌بندی بکار گرفته می‌شوند. همچنین با توجه به محدود بودن تعداد نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی و متأثر بودن از عوامل محیطی، کاربرد این گونه نشانگرها محدود است. نشانگرهای DNA، دارای قدرت تمایز بیشتری نسبت به نشانگرهای مورفولوژیک و بیوشیمیایی هستند (Smith & Smith, 1992). دلیل این امر این است که نشانگرهای DNA علاوه بر نشان دادن اختلافات موجود در ردیف‌های کدکننده، تفاوت‌های بین ردیف‌های غیرکدکننده و توالی‌های کناری در ژنوم را می توانند آشکار سازند. از این گذشته، نشانگرهای مبتنی بر DNA با ایجاد تعداد نامحدودی نشانگر و با حذف اثرهای ناشی از عوامل محیطی، توانسته است بسیاری از مشکلات مربوط به نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی را برطرف کند (Shokrpour *et al.*, 2008). همچنین با استفاده از نشانگرهای مولکولی امکان شناسایی و جداسازی ژن های مسئول در مراحل مختلف چرخه‌های متابولیت ثانویه در گیاهان دارویی وجود دارد (Kumar & Kumar Gupta, 2008). از این بین، نشانگرهای RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) که اساس آنها تکثیر قطعات DNA توسط آغازگرهای غیراختصاصی و با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR: Polymerase Chain Reaction) می‌باشد، به دلیل عدم نیاز به اطلاعات اولیه در مورد ردیف برای طراحی و ساخت آغازگرها، امکان بررسی همزمان چندین جایگاه در ژنوم نمونه ها، عدم نیاز به کاوشگر، مواد پرتوزا، هزینه کم کاربرد و سرعت اجرای آن از جایگاه ویژه‌ای در بررسی‌های مولکولی به‌ویژه ارزیابی تنوع ژنتیکی برخوردار می‌باشند (Willims *et al.*, 1990). Echeverrigaray و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعات خود بر روی کولتیوارهای آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.)

نشان دادند که همبستگی بالایی بین ماتریس فواصل ژنتیکی حاصل از نشانگرهای مولکولی RAPD و ماتریس فواصل نشانگرهای فیتوشیمیایی وجود دارد. Trindade و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی تنوع ژنتیکی توسط نشانگرهای RAPD و چندشکلی شیمیایی ۳۱ تک‌بوته در گونه‌ای از آویشن (*Thymus caespititus*) پرداختند. تجزیه به عامل‌های اصلی ترکیب های شیمیایی اسانس ۳۱ تک‌بوته مورد بررسی، سبب شناسایی ٤ تیپ شیمیایی در آنها گردید. کاربرد نشانگرهای RAPD در مطالعه مذکور، ۳۱ تک‌بوته را به ٦ گروه تقسیم‌بندی کرد. نتایج نشان داد که هیچ رابطه مشخصی بین محل جمع‌آوری نمونه ها، چندشکلی شیمیایی و ارزیابی مولکولی RAPD وجود ندارد. این تفاوت بین نشانگرهای ژنتیکی و نشانگرهای شیمیایی به سهم متفاوت کنترل ژنتیکی و محیطی در ایجاد و بروز تیپ‌های شیمیایی برمی‌گردد.

با توجه به اهمیت گونه‌های مختلف جنس آویشن و ضرورت حفاظت و نگهداری گونه‌های دارویی آن، تاکنون هیچ‌گونه مطالعه مولکولی بر روی آویشن آذربایجانی در محدوده پراکنش جهانی آن (شرق ترکیه، شمال‌غرب ایران، ارمنستان و نخجوان آذربایجان) جهت بررسی ژرم‌پلاسم با هدف مطالعه روابط ژنتیکی برای اصلاح، اهلی‌سازی و تولید ارقام متناسب با نیاز صنایع وابسته صورت نگرفته‌است. در این راستا، تحقیق حاضر به بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین برخی از جمعیت‌های آویشن آذربایجانی در ایران با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD پرداخته است تا تنوع ژنتیکی موجود را بررسی و روابط بین آنها را گزارش نماید.

مواد و روشها

جمع‌آوری و شناسایی

به منظور اجرای این پژوهش، در بهار سال ۱۳۸۷، پنج رویشگاه طبیعی آویشن آذربایجانی واقع در استان‌های آذربایجان‌شرقی و آذربایجان‌غربی شناسایی شدند (جدول ۱). از هر رویشگاه پنج نمونه کامل گیاهی در فصل گلدهی گیاه انتخاب و پس از تهیه نمونه‌های هرباریومی از کل گیاه به آزمایشگاه گیاهان دارویی گروه علوم باغبانی دانشگاه تهران انتقال یافتند. شناسایی نمونه‌ها با استفاده از فلورا ایرانیکا و فلور ترکیه در هرباریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام گردید (Jalas, 1982؛ Rechinger, 1982). علاوه بر پنج جمعیت آویشن آذربایجانی، یک جمعیت به‌عنوان برون گروه (Out group) با پنج ژنوتیپ از گونه آویشن کرک‌آلود (*Thymus pubescense*) از کوه‌های منطقه یام واقع در ۵۰ کیلومتری شمال تبریز جمع‌آوری و پس از تهیه نمونه‌های هرباریومی از آنها و تأیید گونه در هرباریوم پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱- اطلاعات مربوط به رویشگاه‌های مورد مطالعه

محل جمع‌آوری	استان	ارتفاع (m)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
هریس	آذربایجان‌شرقی	۱۹۰۰	N ۳۸ ° ۱۵′	E ٤۷° ۰۷′
جلفا	آذربایجان‌شرقی	۷۳٦	N ۳۸ ° ٤۵′	E ٤۵° ٤۰′
قوشچی	آذربایجان‌غربی	۱۸۰۰	N ۳۸ ° ۱۳′	E ٤٤° ۵۱′
نازلو	آذربایجان‌غربی	۱۳۳۰	N ۳۷° ۵۳′	E ٤۵° ٤۹′
بند	آذربایجان‌غربی	۱۳۱٦	N ۳۷° ۳۲′	E ٤۵° ۵۰′

استخراج DNA ژنومی

استخراج DNA از نمونه‌های برگ خشک هرباریومی ۵ تک‌بوته مربوط به جمعیت‌های آویشن آذربایجانی و آویشن کرک‌آلود با استفاده از روش تغییر یافته Sharp و همکاران (۱۹۸۸) انجام شد. برای تعیین کمّیت و کیفیت DNA نمونه‌ها از روش الکتروفورز روی ژل آگاروز ۰/۸٪ استفاده شد. پس از تعیین غلظت DNA هر نمونه، محلول مصرفی DNA به غلظت ۱۰ نانوگرم در میکرولیتر تهیه شد و در آزمایشها مورد استفاده قرار گرفت. پس از تعیین غلظت DNA الگو، به دلیل دگرگشن بودن آویشن، DNA ژنومی بالک مربوط به هر جمعیت توسط ترکیب ۲۰ میکرولیتر از محلول مصرفی DNA هر تک‌بوته تهیه شد.

شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

هر مخلوط واکنش با حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA الگو (۱۰ نانوگرم در میکرولیتر)، ۱/۵ میکرولیتر آغازگر تصادفی RAPD با غلظت ۰/۲ میکرومولار، ٤ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۷/۵ میکرولیتر کیت PCR (CinnaGen, Ltd., Taq DNA polymerase master mix- 1.5 mM MgCl2, 0.4 mM dNTPs, PCR buffer) بود. برای بررسی چندشکلی DNA بین جمعیت‌های مورد آزمایش، در ابتدا تعداد ٦۰ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی شامل ۳۷ آغازگر سری تیب مول‌بیول (TIB MOLBIOL Synthese Labor GmbH) و ۲۳ آغازگر سری اوپرون (Operon Technologies, Alameda, CA, USA) برای غربال‌گری اولیه مورد استفاده قرار گرفتند که در نهایت ۲۱ آغازگر که پلی‌مورفیسم بالایی نشان دادند برای انجام آزمایش مولکولی RAPD انتخاب شدند (جدول ٤). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Thermocycler (iCycler, Bio Rad Co., USA)) انجام شد. شرایط واکنش در جدول ۲ آورده شده‌است. پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، محصول واکنش در چاهک‌های ژل آگاروز ۱/۲٪ تهیه شده با بافر TBE (Tris-Boric acid-EDTA) بارگیری و به مدت ۱۵۰ دقیقه و شدت ٦۵ ولت الکتروفورز شد؛ بدین صورت که در چاهک اول DNA ژنومی بالک مربوط به هر جمعیت بارگذاری و از چاهک بعد DNA مربوط به تک‌بوته‌های آن جمعیت بالک بارگذاری شد.

جدول ۲- زمان و دمای لازم برای سه مرحله (واسرشت‌سازی، اتصال و بسط) در هر یک از چرخه‌های حرارتی PCR

چرخه	تعداد تکرار	مرحله انجام شده	درجه حرارت (سانتی‌گراد)	زمان مورد نیاز
۱	۱	واسرشت‌سازی	۹٤	۳ دقیقه
۲	۵	واسرشت‌سازی	۹۲	۱ دقیقه
		اتصال آغازگر به DNA	۳۹/۵	۱ دقیقه
		بسط آغازگر	۷۲	۲ دقیقه
۳	۳۷	واسرشت سازی	۹۲	۳۰ ثانیه
		اتصال آغازگر به DNA	۳۷/۵	٤۵ ثانیه
		بسط آغازگر	۷۲	۲ دقیقه
٤	۱	بسط نهایی	۷۲	۷ دقیقه

محاسبات آماری

در نوارهای ایجاد شده در محدوده ی ۵۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز به حضور هر باند عدد یک و عدم حضور باند عدد صفر داده شد. پس از تهیه ماتریس صفر و یک، با استفاده از نرم‌افزار Popgene, Ver. 1.31 تجزیه آماری انجام شد (Yeh *et al*., 1999). ماتریس فاصله جمعیت‌ها توسط روش نی محاسبه شد (Nie, 1972) و براساس تجزیه خوشه‌ای حاصل از این ماتریس، دندروگرام با کمک نرم‌افزار NTSYS-pc, Ver. 2.02 به روش UPGMA ترسیم گردید (Rohlf, 2000). تنوع ژنتیکی برای همه مکان‌های آللی با کمک آنالیز نی محاسبه شد (Nie, 1987). در این ارزیابی تعداد آلل‌های مشاهده شده، تعداد آلل‌های مؤثر (Kimura & Crow, 1963)، شاخص تنوع ژنتیکی نی (Nie, 1973) و شاخص اطلاعاتی شانون (Lewontin, 1972) برای هر یک از جمعیت‌ها محاسبه شد (جدول ۳).

جدول ۳- پارامترهای تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های طبیعی گونه‌های آویشن

جمعیت‌های مورد بررسی	تعداد افراد	na	ne	h	I
هریس	۵	۱/۴۳۹	۱/۲۹۸	۰/۱۶۸	۰/۲۴۷
نازلو	۵	۱/۵۲۰	۱/۳۱۸	۰/۱۸۵	۰/۲۷۷
بند	۵	۱/۵۶۰	۱/۳۳۰	۰/۱۹۵	۰/۲۹۳
جلفا	۵	۱/۵۵۰	۱/۳۳۸	۰/۱۹۶	۰/۲۹۴
قوشچی	۵	۱/۳۹۵	۱/۲۳۶	۰/۱۳۹	۰/۲۰۹
یام	۵	۱/۳۷۸	۱/۲۶۰	۰/۱۴۷	۰/۲۱۶

na= تعداد آلل‌های مشاهده شده ne= تعداد آلل‌های مؤثر

h= شاخص تنوع ژنتیکی نی I= شاخص اطلاعاتی شانون

همچنین هتروزیگوسیتی کل (Ht: Total Heterozygosity)، هتروزیگوسیتی درون جمعیت‌ها (Hs: Subpopulation Heterozygosity)، ضریب تنوع بین جمعیت‌ها (Gst: G-statistics) و تخمین جریان ژنی از Gst یا Gcs (Nm: Number of migrants) برای هر یک از مکان‌های آللی توسط نرم‌افزار Popgene محاسبه شد (Nie, 1987).

با کمک Ht و Hs بدست آمده شاخص $F_{ST.}$ (F-statistics) (Wright, 1949) از طریق فرمول زیر محاسبه شد (Lynch & Milligan, 1994):

$$F_{st} = 1- Hs / Ht$$

این شاخص ساختار و دوری و نزدیکی بین جمعیت‌ها را از طریق محاسبه هتروزیگوسیتی آلل‌ها، فراوانی آلل‌ها و تنوع در توده‌ها نشان می‌دهد (Wright, 1949).

تجزیه واریانس داده‌های مولکولی با استفاده از نرم‌افزار Gene Alex, Ver. 6.1 انجام شد.

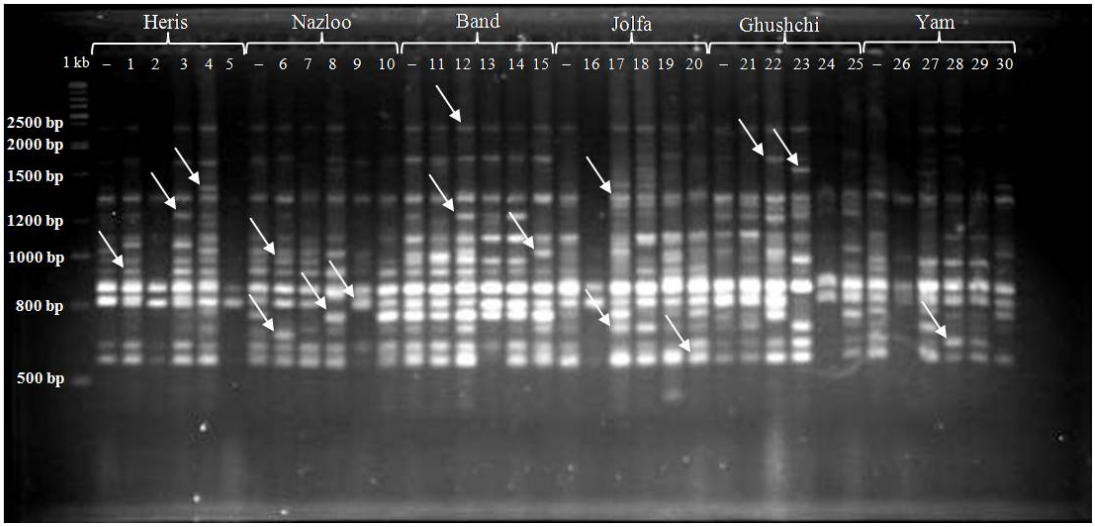
نتایج

از مجموع ۲۱ آغازگر بکار رفته، تعداد ۳۱۰ باند که از وضوح بالایی برخوردار بوده و اندازه طول آنها بین ۵۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز بودند، شمارش و برای آنالیز RAPD بکار

گرفتـه شـدند. از کـل بانـدهای شـمارش شـده بـرای جمعیت های مختلف، تعـداد ۱۴ بانـد مونومورفیـک و ۲۹۶ باند (۹۴/۹۰٪) نیز پلی‌مورفیک بودند. به‌طور میانگین تعـداد ۱۴/۷۶ باند به‌ازای هر آغازگر بدست آمد کـه تعـداد ۱۴/۰۹ باند از آنها پلی‌مورفیک بودند. کمترین باند تکثیـر شـده بـا آغازگر TIBMBD-19 با تعداد ۶ باند و بیشترین تعداد باند تکثیر شده بـا آغازگرهـای TIBMBE-17 و TIBMBA-03 با ۲۰ باند حاصل گردیـد (جـدول ۴). نمونـه‌ای از الگـوی باندی تکثیر شده توسط آغـازگر TIBMBA-03 همـراه بـا مشـخص نمـودن برخـی از بانـدهای مونومورفیـک و پلی‌مورفیک آن نشان داده شده اسـت (شـکل ۱). بیشـترین درصـد پلـی‌مورفیسـم (۱۰۰٪) بـا کـاربرد آغازگرهـای OPB-16، OPC-05، OPD-01، OPN-08، TIBMBA-04، TIBMBA-05، TIBMBA-14، TIBMBC-15، TIBMBC-20، TIBMBD-16 و TIBMBE-17 مشـاهده گردید، درحالی‌کـه دو آغـازگر OPN-18 و TIBMBD-19 کمترین درصد پلی‌مورفیسم (۸۳٪) را تولید نمودند.

جدول ۴- نوع، توالی و درصد چندشکلی آغازگرهای مورد استفاده در آنالیز RAPD جمعیت‌های طبیعی گونه‌های آویشن

ردیف	آغازگر	توالی آغازگر ۵' → ۳'	تعداد کل قطعات تکثیر شده (a)	تعداد قطعات چندشکل (b)	درصد چندشکلی (b/a × ۱۰۰)
۱	OPB-16	TTTGCCCGGA	۱۷	۱۷	۱۰۰
۲	OPC-05	GATGACCGCC	۱۴	۱۴	۱۰۰
۳	OPD-01	ACCGCGAAGG	۱۶	۱۶	۱۰۰
۴	OPN-08	ACCTCAGCTC	۱۵	۱۵	۱۰۰
۵	OPN-18	GGTGAGGTCA	۱۲	۱۰	۸۳
۶	OPN-19	GTCCGTACTG	۱۴	۱۲	۸۶
۷	TIBMBA-03	GTGCGAGAAC	۲۰	۱۹	۹۵
۸	TIBMBA-04	TCCTAGGCTC	۹	۹	۱۰۰
۹	TIBMBA-05	TGCGTTCCAC	۱۵	۱۵	۱۰۰
۱۰	TIBMBA-08	CCACAGCCGA	۱۳	۱۱	۸۵
۱۱	TIBMBA-09	GGAACTCCAC	۱۶	۱۴	۸۸
۱۲	TIBMBA-14	TCGGGAGTGG	۱۴	۱۴	۱۰۰
۱۳	TIBMBA-15	GAAGACCTGG	۱۳	۱۲	۹۲
۱۴	TIBMBB-10	ACTTGCCTGG	۱۶	۱۵	۹۴
۱۵	TIBMBC-15	CCAGACTCCA	۱۷	۱۷	۱۰۰
۱۶	TIBMBC-20	AGCACTGGGG	۱۸	۱۸	۱۰۰
۱۷	TIBMBD-12	GGGAACCGTC	۱۹	۱۸	۹۵
۱۸	TIBMBD-16	GAACTCCCAG	۱۴	۱۴	۱۰۰
۱۹	TIBMBD-19	GGTTCCTCTC	۶	۵	۸۳
۲۰	TIBMBE-05	GGAACGCTAC	۱۲	۱۱	۹۲
۲۱	TIBMBE-17	GGGAAAAGCC	۲۰	۲۰	۱۰۰
	میانگین		۱۴/۷۶	۱۴/۰۹	۹۴/۹۰
	جمع کل		۳۱۰	۲۹۶	-



شکل ۱- الگوی باندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی جمعیت‌های آویشن توسط آغازگر TIBMBA-03

میانگین هر یک از عامل‌های هتروزیگوسیتی کل (Ht)، هتروزیگوسیتی درون جمعیت‌ها (Hs)، ضریب تنوع بین جمعیت‌ها (Gst)، تخمین جریان ژنی از Gst یا Gcs (Nm) برای هر یک از مکان‌های آللی در زیر آمده است:

$$Ht = ٢٤, Hs = ٠/١٧, Gst = ٠/٣٠, Nm = ١/١٤$$

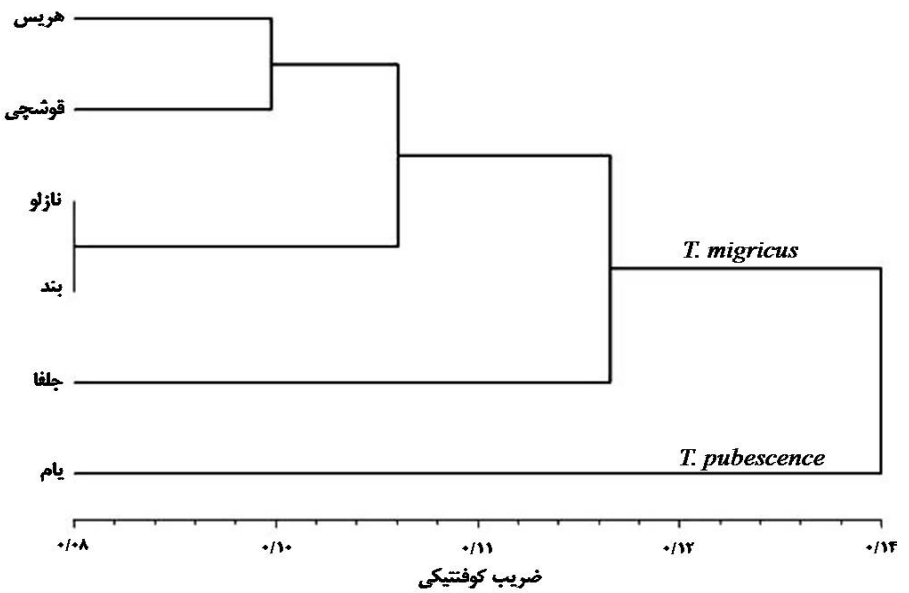
میزان شباهت یا تفاوت در بین جمعیت‌ها توسط ماتریس فاصله و همچنین دندروگرام حاصل از آنها تعیین شد (جدول ۵ و شکل ۲). در ارزیابی ماتریس فاصله، جمعیت‌های نازلو و بند (هر دو جمعیت آویشن آذربایجانی) از استان آذربایجان‌غربی با میزان فاصله ۰/۰۸۱ بیشترین شباهت را در بین جمعیت های دو گونه آویشن مورد مطالعه داشتند که با توجه به این‌که هر دو در یک استان قرار دارند، نتیجه بدست آمده می تواند از فاصله جغرافیایی جمعیت‌ها از یکدیگر نشأت گرفته باشد. نتایج جدول ماتریس فاصله نشان می‌دهد که جمعیت های هریس (آویشن آذربایجانی) و یام (آویشن کرک‌آلود) با میزان فاصله ۰/۱۵۲ بیشترین تفاوت را در بین توده‌های مورد بررسی از آن خود کرده‌اند که دلیل آن را می توان متفاوت بودن گونه های این دو جمعیت ذکر کرد. در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی، جمعیت‌های بند (استان آذربایجان‌غربی) و جلفا (استان آذربایجان‌شرقی) با میزان فاصله ۰/۱۳۰ بیشترین تفاوت را نشان دادند که نتیجه حاصل شده می‌تواند متأثر از فاصله جغرافیایی جمعیت‌ها از یکدیگر باشد. میزان فاصله محاسبه شده در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی، براساس باندهای پلی‌مورفیسم در دامنه‌ای از ۰/۰۸۱ تا ۰/۱۳۰ قرار داشت. در دندروگرام بدست آمده از میزان فاصله جمعیت ها (شکل ۲)، جمعیت یام که مربوط به گونه‌ای دیگر (آویشن کرک‌آلود) بود، بیشترین تفاوت را با سایر جمعیت ها نشان داد، به‌طوری که در گروهی کاملاً جدا نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار گرفت.

جدول ۵- ماتریس فاصله بین شش جمعیت آویشن‌های مورد مطالعه

جمعیت مورد بررسی	هریس	نازلو	بند	جلفا	قوشچی	یام
هریس	۱					
نازلو	۰/۰۸۹	۱				
بند	۰/۱۲۱	۰/۰۸۱	۱			
جلفا	۰/۱۱۸	۰/۱۱۳	۰/۱۳۰	۱		
قوشچی	۰/۰۹۵	۰/۰۸۳	۰/۱۱۹	۰/۱۰۹	۱	
یام	۰/۱۵۲	۰/۱۲۶	۰/۱۲۷	۰/۱۲٤	۰/۱۳۷	۱

در بین جمعیت های آویشن آذربایجانی، جمعیت های نازلو و بند در کنار هم در یک گروه قرار گرفتند و جمعیت جلفا از چهار جمعیت دیگر از این گونه جدا و در گروهی متمایز قرار گرفت. البته جمعیت هریس نیز به همراه جمعیت قوشچی گروهی دیگر را تشکیل دادند.

شاخص تعداد آلل‌های مشاهده شده (na) در جمعیت های آویشن آذربایجانی، در جمعیت بند (۱/۵۶۰) بیشتر از سایر جمعیت‌ها بوده و این شاخص در جمعیت قوشچی (۱/۳۹۵) کمترین بوده است. از نظر شاخص تعداد آلل‌های مؤثر (ne) یعنی آلل‌هایی که فراوانی برابری دارند و دارای توزیع مطلوبی می‌باشند، جمعیت جلفا و قوشچی به‌ترتیب بیشترین (۱/۳۳۸) و کمترین (۱/۲۳۶) مقدار را در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی داشتند. با توجه به این موضوع، میزان یکنواختی هر یک از جمعیت‌ها از طریق محاسبه نسبت تعداد آلل‌های مؤثر به تعداد آلل‌های مشاهده شده تعیین گردید (جدول ٦).



شکل ۲- گروه‌بندی شش جمعیت آویشن‌های مورد مطالعه براساس ماتریس فاصله حاصل از داده‌های RAPD

جدول ٦- تعداد آلل‌های مشاهده شده، تعداد آلل‌های مؤثر و نسبت آنها در هر یک از جمعیت‌های دو گونه آویشن مورد مطالعه

جمعیت	na	ne	ne/na
هریس	۱/٤۳۹	۱/۲۹۸	۰/۹۰
نازلو	۱/۵۲۰	۱/۳۱۸	۰/۸٦
بند	۱/۵٦۰	۱/۳۳۰	۰/۸۵
جلفا	۱/۵۵۰	۱/۳۳۸	۰/۸٦
قوشچی	۱/۳۹۵	۱/۲۳٦	۰/۸۸
یام	۱/۳۷۸	۱/۲٦۰	۰/۹۱

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (AMOVA) در جدول ۷ آمده‌است.

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس داده‌های مولکولی (AMOVA) در جمعیت‌های آویشن آذربایجانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس تخمینی	درصد واریانس
بین جمعیت‌ها	۵	٤٤٤/٦۰	۸۸/۹۲	۱۰/۸۲	٪ ۲٤
درون جمعیت‌ها	۲٤	۸۳۵/۲۰	۳٤/۸۰	۳٤/۸۰	٪ ۷٦
کل	۲۹	۱۲۷۹/۸۰		٤۵/٦۲	٪ ۱۰۰

بحث

اطلاع از روابط ژنتیکی گونه‌های وحشی برای بهره‌وری موفق و پایدار از تنوع ژنتیکی موجود آنها ضروریست. با توجه به جدول ٦ در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی، در جمعیت هریس، ۰/۹۰ از کل آلل های مشاهده شده توزیع برابر دارند که نشان می‌دهد این جمعیت از سایر جمعیت‌ها از توزیع یکنواخت‌تری برخوردار می‌باشد، زیرا نسبت آلل هایی که فراوانی برابر دارند به کل آلل‌ها از سایر جمعیت‌ها بیشتر است. در حالی‌که در جمعیت بند، ۰/۸۵ از کل آلل های مشاهده شده توزیع برابر دارند که نشان می‌دهد میزان یکنواختی این جمعیت در مقایسه با چهار جمعیت دیگر آویشن آذربایجانی کمتر می‌باشد. به‌طور کلی تعداد آلل های مشاهده شده در جمعیت های آویشن آذربایجانی بین ۱/۳۹۵ تا ۱/۵٦۰ آلل و تعداد آلل های مؤثر بین ۱/۲۳٦ تا ۱/۳۳۸ آلل تغییر می‌کند و نسبت این دو یعنی آلل‌های مؤثر به آلل های مشاهده شده بین ۰/۸۵ تا ۰/۹۰ می‌باشد. این نزدیکی اعداد به هم و دامنه کوچک تغییر آنها نشان‌دهنده توزیع نسبتاً برابر آلل‌ها در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی بوده و نیز این پنج جمعیت آویشن آذربایجانی تقریباً در یک سطح یکنواختی از توزیع آللی قرار دارند. با توجه به جدول ٦، در تمام پنج جمعیت آویشن آذربایجانی، بیش از ۰/۸٤ از آلل های مشاهده شده را آلل های مؤثر تشکیل می‌دهند. با توجه به دگرگشن بودن گونه‌های مختلف خانواده نعناع و ازجمله گونه‌های مختلف جنس آویشن (قهرمان، ۱۳۷۳)، در جمعیت های

دگرگـرده‌افشـان متعـادل ماننـد پـنج جمعیـت آویشـن آذربایجانی در ایـن بررسـی، فراوانـی ژنـی و ژنـوتیپی از نسلی به نسل دیگر تغییـر نمـی‌کنـد (فارسـی و ذوالعلـی، ۱۳۸۲). این موضوع می‌تواند در جهت مطالعه و فهم بهتـر روابط موجود در جمعیت های آویشن آذربایجـانی کمـک درخور توجهی نماید.

بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها به دلیل دخالت چندین عامل ازجمله پیوستگی (Linkage)، تلاقی خویشاوندی (Inbreeding)، مهاجرت (Migration) و تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده‌ی جمعیت‌ها دارای پیچیدگی‌هایی است (Mohammadi & Prasanna, 2003). به‌طور کلی این بررسی‌ها به تعداد افراد مورد بررسی در هر جمعیت، تعداد مکان‌های آللی مورد بررسی، موقعیت آللی و ژنوتیپی جمعیت، نوع تلاقی و اندازه‌ی جمعیت بستگی دارد (Weir, 1990). در یک جمعیت دگرگشن، هتروزیگوسیتی بالایی وجود دارد که این امر فرصتی برای سازگاری و تکامل در آن جمعیت ایجاد می‌کند؛ بنابراین وجود تنوع درون چنین جمعیت‌هایی امری بدیهی است. بنابراین بررسی تنوع در درون جمعیت‌های آویشن آذربایجانی به کمک میانگین شاخص تنوع ژنتیکی نی و شاخص اطلاعاتی شانون مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳). نتایج نشان داد که تنوع در درون جمعیت جلفا (I = ۰/۲۹٤ و h = ۰/۱۹٦) نسبت به سایر جمعیت‌ها، بیشترین و در جمعیت قوشچی (I = ۰/۲۰۹ و h = ۰/۱۳۹) کمترین بوده‌است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (AMOVA) نشان می‌دهد که اختلاف بین جمعیت‌ها معنی‌دار نیست و بیش از ۷۵٪ تغییرات مربوط به درون جمعیت‌هاست (جدول ۷). نتایج حاصل از ماتریس فاصله (جدول ۵) دو به دو جمعیت‌ها نشان می‌دهد که اختلاف بین جمعیت‌ها بالا نیست و حداکثر تفاوت بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی ۱۳٪ است، به‌عبارت دیگر تشابه این جمعیت‌ها به همدیگر بیش از ۸۷٪ می‌باشد. به‌طور کلی در مورد جمعیت‌های وحشی، فاصله جغرافیایی و جریان ژنی بین جمعیت‌ها تعیین‌کننده فاصله ژنتیکی می‌باشد. در گونه‌های دگرگشن به علت جریان ژنی بالا، فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها کم بوده و در عوض تنوع ژنتیکی در درون جمعیت‌ها پراکنده است. در مورد این گونه‌ها در صورتی که تحت تأثیر عوامل غیرطبیعی مانند تخریب رویشگاه‌ها در اثر برداشت بی‌رویه، چرای مفرط و سایر عوامل جریان ژنی بین رویشگاه‌ها قطع شود، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های منقطع افزایش می‌یابد و به علت افزایش هموژنی و افتراق جمعیت‌ها فرسایش ژنتیکی آغاز خواهد شد (Hamrick & Godt, 1989). برای تخمین جریان ژنی بین جمعیت‌های مورد بررسی، شاخص‌های Ht، Hs، Fst و Nm محاسبه گردید. اگر Nm نزدیک به صفر باشد یعنی Fst در حداکثر مقدار خود می‌باشد و این بدین معناست که هتروزیگوسیتی جمعیت در کل مقدار بسیار کمی بوده است و زمانی که Nm در حداکثر مقدار خود باشد Fst در حداقل مقدار خود می‌باشد، یعنی هتروزیگوسیتی هر جمعیت و جمعیت کل به هم نزدیک است. تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها ممکن است بدلیل اختلاف در صفات ژنتیکی که بر اثر تغییر شرایط محیطی و انتخاب طبیعی ایجاد شده‌است، باشد. همچنین بدلیل فرایندهای تصادفی مثل جهش، مهاجرت و میزان یا درجه تمایز جمعیت‌ها باشد که می‌توان آن را از طریق پارامترهای متفاوت تخمین زد (Bossdorf *et al.*, 2005). در تحقیق حاضر، میانگین شاخص‌های Fst و Nm که میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهند به‌ترتیب ۰/۳۰ و ۱/۱٤ بدست آمد که بیانگر بالا بودن تبادل

ژنی بین پنج رویشگاه آویشن آذربایجانی مورد مطالعه در این بررسی می‌باشد. علاوه بر این، با توجه به این‌که میزان هتروزیگوسیتی کل ۰/۲٤ (Ht = ۰/۲٤) بوده و مقدار هتروزیگوسیتی درون جمعیت‌ها ۰/۱۷ (Hs= ۰/۱۷) می‌باشد، بنابراین میزان هتروزیگوسیتی بین جمعیتی برابر با ۰/۰۷ خواهد بود که بیان‌کننده بالا بودن میزان تنوع درون جمعیتی نسبت به بین جمعیتی در بین پنج جمعیت آویشن آذربایجانی مورد مطالعه می‌باشد.

دو رویشگاه بند و نازلو در فاصله‌ای کمتر از ۵۰ کیلومتر قرار گرفته‌اند و فاصله ژنتیکی نزدیک آنها نشان از تبادل ژنی بالا بین این دو رویشگاه است. با توجه به بعد مسافتی (بیش از ۲۰۰ کیلومتر)، از دلایلی که می‌توان در مورد قرارگیری جمعیت هریس از استان آذربایجان‌شرقی در کنار جمعیت‌های استان آذربایجان‌غربی برشمرد به ییلاقی بودن منطقه هریس می‌توان اشاره کرد که دامداران مناطق مختلف هر دو استان آذربایجان‌شرقی و غربی در هنگام فصل گرما، دام‌های خود را به منطقه هریس جهت گذران فصل تابستان و استفاده از مراتع آنجا انتقال می‌نمایند که با در نظر گرفتن انتقال فیزیکی ژرم‌پلاسم (بذر و یا دانه گرده) توسط دام، قرارگیری جمعیت هریس در کنار جمعیت‌های استان آذربایجان‌غربی قابل توجیه است. از دیگر عوامل انتقال ژرم‌پلاسم بین این رویشگاه‌ها، زنبورهای عسل را می‌توان نام برد. زنبورداران منطقه آذربایجان به‌طور سیار در کنار مناطقی که در آنجا گیاهان مختلف دارویی و معطر (ازجمله آویشن) رویش دارند اقدام به نگهداری زنبور عسل می‌نمایند که در اواخر گلدهی منطقه سکنی گزیده را ترک کرده و کندوها را به رویشگاهی دیگر منتقل می‌نمایند که در این هنگام احتمال انتقال دانه گرده از رویشگاه قبلی به رویشگاه جدید وجود دارد و منجر به تبادل ژنی و تداوم جریان ژنی بین رویشگاه‌ها و کاهش فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی می‌شود.

ارزیابی تنوع ذخایر ژنتیکی گیاهی (ژرم‌پلاسم) که از شانس بالایی برای بروز ژن‌های مفید برخوردار می‌باشند از اولین پیش‌نیازهای ضروری برای برنامه‌ریزی در جهت حفاظت، اهلی کردن و بهره‌برداری پایدار از آنها می‌باشد. صفات مورفولوژیکی تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرند که این عوامل در سطح DNA بی‌تأثیر هستند. مجموعه این عوامل سبب می‌شود تا ژنوتیپ‌هایی که براساس داده‌های موجود در سطح DNA نزدیک به هم هستند از نظر خصوصیات مورفولوژیکی متفاوت باشند. باید توجه داشت که قطعات تکثیر یافته در RAPD الزاماً از نظر توالی نوکلئوتیدی یکسان نیستند و قطعه‌های با اندازه یکسان ممکن است متعلق به قسمت‌های مختلف ژنوم و دارای توالی متفاوت باشند (Hayward *et al.*, 1993). بنابراین داده‌های RAPD ممکن است همسویی مورد انتظار را با خصوصیات مورفولوژیکی نداشته باشند. این امر با توجه به تأثیرپذیری صفات مورفولوژیکی از محیط دور از انتظار نیست، پس در برنامه‌های اصلاحی اگر گزینش فقط براساس صفات مورفولوژیکی باشد ممکن است نتایج مطلوبی نداشته باشد. نشانگرهای مولکولی RAPD به‌رغم ایراداتی که بر آنها گرفته می‌شود برای ارزیابی و مطالعه تنوع ژنتیکی ذخایر گیاهی که هیچ‌گونه اطلاعات اولیه برای DNA ژنومی و تنوع بین آنها وجود ندارد، ابزاری ساده و کارآمد می‌باشند.

در مطالعه حاضر نشانگرهای مولکولی RAPD جهت بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم برخی از جمعیت‌های وحشی آویشن آذربایجانی و یک جمعیت از آویشن

کرک‌آلود در ایران بکار برده شد. این سیستم نشانگری ضمن تمایز مؤثر جمعیت‌های مورد تحقیق، تنوع ژنتیکی موجود در بین و درون جمعیت‌های آنها را نیز آشکار نمود. براساس داده‌های مولکولی، جمعیت‌های جلفا، بند و نازلو دارای بیشترین مقدار آلل‌های مؤثر می‌باشند که در برنامه‌های اصلاحی می‌توان از آنها بهره برد.

منابع مورد استفاده

- فارسی، م. و ذوالعلی، ج.، ۱۳۸۲. اصول بیوتکنولوژی گیاهی (ترجمه). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ۵۱۲ صفحه.
- قهرمان، ا.، ۱۳۷۳. کورموفیت‌های ایران (جلد سوم). مرکز نشر دانشگاهی، ۷٤۳ صفحه.
- Bossdorf, O., Auge, H., Lafuma, L., Rogers, W.E., Sicmann, E. and Prati, D., 2005. Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. Oecologia, 144: 1-11.
- Echeverrigaray, S., Agostini, G., Atti-Serfini, L., Paroul, N., Pauletti, G.F. and Atti dos Santos, A.C., 2001. Correlation between the chemical and genetic relationships among commercial Thyme cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(9): 4220-4223.
- Hamrick J.L. and Godt, N.J., 1989. Allozyme diversity in plant species: 43-63, In: Brown, A.H.D., Clegg, M.T., Kahler, A.L. and Weir, B.S., (Eds.). Plant Population Genetics; Breeding and Genetic Resources. Sinauer Associates, Sunderland, 440p.
- Hayward, M.D., Bosemark, N.O. and Romagosa, I., 1993. Plant Breeding: Principle and Prospects. Chapman and Hell, London, 576p.
- Jalas, J., 1982. *Thymus*, Flora of Turkey and East Aegean Island. Vol. 7, Davis, P.H. (Ed.). Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Kimura, M. and Crow, J.F., 1963. The measurement of effective population number. Evolution, 17(3): 279-288.
- Kumar, J. and Kumar Gupta, P., 2008. Molecular approaches for improvement of medicinal and aromatic plants. Plant Biotechnology Reporats Journal, 2: 93-112.
- Lewontin, R.C., 1972. The apportionment of human diversity. Evolutionary Biology Journal, 6(38): 381-398.
- Lynch, M. and Milligan, B.G., 1994. Analysis of population-genetic structure using RAPD markers. Molecular Ecology, 3(2): 91-99.
- Mohammadi, S.A. and Prasanna, B.M., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants-Salient statistical tools and considerations. Crop Science, 43(4): 1235-1248.
- Nie, M., 1972. Genetic distance between populations. American Naturalist, 106(949): 283-293.
- Nie, M., 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proceedings of the national academy of sciences of USA, 70(12): 3321-3323.
- Nie, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York, 512p.
- Pank, F., 2007. Breeding of Medicinal Plants: 417-447. In: Kayser, O. and Quax, J., (Eds.). Medicinal Plant Biotechnology, From Basic Research to Industrial Applications. John and Wiley, 618p.
- Rechinger, K.H., 1982. Flora Iranica. Vol. 152, Graz: Akademische Druck- und Verlagsanstalt, 543-544.
- Rohlf, F.J., 2000. NTsys-PC Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. Exeter Publications, Setauket, NewYork, USA, 7p.
- Sharp, P.J., Kreis, M., Shewry, P.R. and Gale, M.D., 1988. Location of β anylase sequences in wheat and its relatives. Theoretical and Applied Genetic, 75: 289-290.
- Shokrpour, M., Mohammadi, S.A., Moghaddam, M., Ziai S.A. and Javanshir, A., 2008. Analysis of morphologic association, phytochemical and AFLP markers in milk thistle (*Silybum marianum* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24(3): 278-292.
- Smith, J.S.C. and Smith, O.S., 1992. Fingerprinting crop varieties. Advances in Agronomy, 47: 85-140.
- 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 Terceira Islands (Azores). Biochemical Systematics and Ecology, 36(10): 790-797.
- Weir, B.S., 1990. Genetic data analysis. Sinauer Associates, Sun-derland, MA, 377p.
- Willims, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Research, 18(22): 6531-6536.
- Wright, S., 1949. The genetical structure of populations. Annals of Human Genetics, 15: 323-354.
- Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T., 1999. Popgene, version 1.31. Microsoft window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta and Center for International Forestry Research, Canada.

Evaluation of genetic diversity among and within some endemic populations of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost using RAPD molecular markers

A.R. Yavari[1], V. Nazeri[2*], F. Sefidkon[3], Z. Zamani[4] and M.E. Hassani[4]

1- MSc. Student, University College Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2*- Corresponding author, Horticultural department, University College Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, E-mail: nazeri@ut.ac.ir
3- Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
4- Horticultural department, University College Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: October 2010 Revised: March 2011 Accepted: May 2011

Abstract

In the present study, the genetic variation within and among some populations of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost was investigated using the RAPD markers. Twenty-one decamer RAPD primers produced 310 unique bands. RAPD analysis showed 14 monomorphic and 296 polymorphic bands in different genotypes. The number of polymorphic bands per primer varied from 5 to 20 with a mean of 14.09. Genetic distance was measured by Nei's coefficient and cluster analysis was carried out. A dendrogram was drawn based on genetic distance data, applying the UPGMA clustering method. Analysis of molecular variance (AMOVA) was performed. According to the dendrogram, among *T. migricus* populations, Band and Jolfa populations had maximum differences with a distance of 0.130. Evaluation of genetic diversity within populations with an average of Nei's gene diversity analysis and Shannon's information index, showed that diversity within population of Jolfa (h = 0.196 & I = 0.294) was more than other populations while genetic diversity within population of Ghushchi (h = 0.139 & I = 0.209) was less than other populations. Mean of Fst and Nm indexes which show gene flow among populations, were 0.30 and 1.14, indicating a greater gene flow among five populations of *T. migricus*. The results of the present study showed that there was a greater level of genetic variation in the Iranian natural populations of *T. migricus* which could be applied for future breeding programs.

Key words: Genetic diversity, population, *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost, RAPD markers.