

بررسی تنوع ژنتیکی گیاه دارویی کاکوتی (*Ziziphora tenuior* L.) در ایران با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD

زهرا حظری^۱، ذبیح اله زمانی^{۲*}، وحیده ناظری^۳ و لیلا تبریزی^۴
۱، ۲، ۳، ۴، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد، دانشیار و استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی،
دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۵ - تاریخ تصویب: ۹۰/۱۱/۲۲)

چکیده

کاکوتی یکی از گیاهان دارویی و معطر است که پراکنش وسیعی در ایران دارد. در این پژوهش نشانگر مولکولی RAPD با استفاده از ۱۶ آغازگر برای تعیین تنوع ژنتیکی در ۳۹ نمونه کاکوتی *Ziziphora tenuior* از ۲۱ منطقه جغرافیایی ایران استفاده شد. تعداد ۱۰۰ باند چند شکل از ۱۱۰ باند تکثیری ایجاد گردید که با استفاده از نرم افزار NTSys آنالیز داده ها انجام شد و ضریب تشابه جاکارد جهت محاسبه تشابه میان نمونه ها استفاده گردید. میزان تشابه محاسبه شده بر اساس باندهای چند شکل در دامنه‌ای از ۰/۱۹ تا ۰/۷۷ قرار داشت و میانگین تشابه نیز برابر با ۰/۴۳ بود. بیشترین قطعات تکثیر شده چند شکل ۱۲ عدد و مربوط به آغازگر TIBMBA-06 بود، در حالیکه آغازگر TIBMBB-13 با ۳ باند کمترین قطعات چند شکل را داشتند. متوسط تعداد باند برای هر آغازگر ۶/۹ و متوسط باندهای چند شکل ۶/۳ برآورد گردید. تجزیه خوشه ای بر پایه ماتریس تشابه و با روش UPGMA صورت گرفت. بر اساس تجزیه خوشه ای، در ضریب تشابه ۰/۴۳ نمونه های کاکوتی به ۶ گروه تقسیم شدند. بر اساس ماتریس تشابه، کمترین شباهت (۰/۱۹) مربوط به دو نمونه مشهد و اسلامیه یزد با فاصله جغرافیایی زیاد و بیشترین شباهت (۰/۷۷) بین دو نمونه از یاسوج از یک منطقه جغرافیایی بود. نتایج حاکی از وجود تنوع ژنتیکی بالایی در میان نمونه های مورد بررسی بوده است.

واژه های کلیدی: تجزیه خوشه ای، تجزیه ژنتیکی، تشابه ژنتیکی، کاکوتی، مولکولی

مقدمه

متقابل، کم و بیش نیزه ای شکل و بدون دمبرگ است. همچنین دارای گل‌های کوچک، کامل و به رنگ‌های سفید، صورتی و ارغوانی می‌باشد (Ghahreman, 1994). تعداد کروموزوم های پایه این گونه $2n=16$ بوده (Khatoun & Ali, 1993). گیاهی معطر است و مهم ترین اجزای اسانس آن شامل پولگون، لیمونل و سینئول می باشد (Babakhanloo et al., 1998). از خواص

جنس *Ziziphora* از تیره نعنائیان دارای ۴ گونه در ایران است که ۲ گونه آن شامل گونه چند ساله *Z. clinopoides* و گونه یکساله *Z. tenuior* دارویی می باشند (Mozaffarian, 1996). گونه یکساله از نظر ظاهری گیاهی علفی، کرکینه پوش، باریک ایستاده، به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتیمتر است. برگ‌های آن کوچک،

کاکوتی با نام علمی *Ziziphora tenuior* در ایران با استفاده از نشانگر RAPD می باشد.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

تعداد ۳۹ نمونه کاکوتی جمع آوری شده از ۲۱ منطقه جغرافیایی ایران (جدول ۱) در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفته است.

استخراج DNA

استخراج DNA از نمونه های برگ با استفاده از روش Sharp و همکاران (1988) انجام گرفت. تعداد ۱۲۰ آغازگر ۱۰ نوکلئوتیدی RAPD (سری TIB MOLBIOL^۱ و OPERON) با استفاده از نمونه های DNA از ژنوتیپ متمایز از نظر ویژگی های مورفولوژی، غربال گردید. تنها نشانگرهایی که تفاوت و تنوع قابل ملاحظه نشان دادند، برای ارزیابی تمام ژنوتیپ ها به کار رفتند و ۱۶ آغازگر بر اساس درصد بالای چند شکلی در ژنوتیپ انتخاب شدند (جدول ۲). برای تهیه مخلوط واکنش زنجیره ای پلیمرز، کیت PCR از شرکت سیناژن مورد استفاده قرار گرفت. هر مخلوط واکنش، شامل ۳ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۵ نانوگرم در میکرولیتر، ۲ میکرولیتر آغازگر RAPD با غلظت ۰/۲ میکرومولار، ۷/۵ میکرولیتر از مخلوط کیت و ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر استریل در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر بود که سپس مخلوط در دستگاه ترمال سایکلر^۲ قرار داده شد. مراحل واکنش زنجیره ای پلی مرز شامل یک دوره ۴ دقیقه ای در دمای ۹۴°C، سپس ۳۵ دوره در دماهای ۹۴°C به مدت یک دقیقه، ۳۷°C به مدت یک دقیقه و ۷۲°C به مدت دو دقیقه و در نهایت یک دوره ۱۰ دقیقه ای در دمای ۷۲°C بود. سپس DNA محصولات تکثیری درون چاهک های ژل آگارز ۱/۲ درصد بارگیری شد. ژل مورد نظر درون بافر تریس بوریک اسید-EDTA به مدت ۱۶۰ دقیقه و شدت جریان ۷۰ ولت الکتروفورز گردید. سپس ژل به مدت ۲۰ دقیقه در محلول اتیدیم بروماید ۰/۵ میکروگرم در

دارویی آن می توان درمان اختلالات گوارشی نظیر اسهال و دل پیچه را نام برد (Naghbi et al., 2005). علاوه بر اینها گیاه کاکوتی دارای اثر آنتی اکسیدانی (Konyalioglu et al., 2006; Salehi et al., 2005) و ضد باکتریایی و ضد عفونی کنندگی روده (Ozturk & Ercisli., 2007; Economou et al., 1991) خلط آور و ضد سرماخوردگی می باشد (Zarabi, 2000). همچنین مطالعاتی در مورد اثرات تحریکی سیستم ایمنی توسط اسانس کاکوتی انجام گرفته است (et al., 2009). انتشار جغرافیایی این گونه شامل آسیای میانه، روسیه، غرب سیبری، اروپای شرقی، افغانستان، پاکستان و ایران است و در استانهای مختلف ایران از جمله خراسان، کردستان، کرمان، زنجان، قم، تهران و دیگر استانها پراکندگی وسیعی دارد (Ghahreman, 1992). این گیاه معمولا در مناطق سرد و خشک با ۳۰۰-۴۰۰ میلی متر بارندگی سالانه و ارتفاع حدود ۱۵۰۰ تا ۳۰۰۰ متر از سطح دریا می روید (Ghalichnia, 2002).

تاکنون تحقیقات ملکولی روی این گونه انجام نشده است، اما مطالعات ملکولی چندی در خانواده نعناعیان صورت گرفته است. از جمله، Skoula و همکاران (1999) با استفاده از نشانگر RAPD توانستند دو کلون گیاه مریم گلی (*Salvia fruticosa*) را از هم تمایز دهند. Momeni Dehaghi و همکاران (2003) با استفاده از نشانگرهای RAPD روابط ژنتیکی در ۱۷ گونه جنس نعناع (*Mentha*) را مطالعه نمودند. Vieira و همکاران (2003) برای تمایز گونه های جنس *Ocimum* از یکدیگر از نشانگر RAPD استفاده کردند. Hadian و همکاران (2008) به بررسی تنوع ژنتیکی در ۲۸ نمونه مرزه تابستانه (*Satureja hortensis*) با استفاده از نشانگر RAPD پرداختند و Trindade و همکاران (2008) در ۳۱ تک بوته از گونه آویشن (*Thymus caespititius*) جمع آوری شده از سه جزیره تنوع ژنتیکی آنها را به وسیله نشانگر RAPD مورد بررسی قرار دادند. هدف اصلی در این پژوهش بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت های کاکوتی به منظور تاکید بر حفظ منابع ژنتیکی و در نهایت مدیریت و گسترش منابع ژنتیکی است. هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی گونه یکساله دارویی

1. WWW.TIB-MOLBIOL.COM.DNA@TIB.MOLBIOL.DE
2. Icycler, Bio-Rad

افزار Excel وارد گردید و سپس داده ها به NTedit بخش ورودی نرم افزار NTsys منتقل شد. ماتریس تشابه نمونه ها با استفاده از نرم افزار NTsys-pc (Version 2.1) (Rohlf, 2000) و توسط ضریب تشابه جاکارد^۱ محاسبه گردید (Sneath & Sokal, 1963). بر اساس تجزیه خوشه ای حاصل از ماتریس تشابه، دندروگرام توسط روش UPGMA^۲ ترسیم گردید. از تجزیه به مختصات اصلی^۳ (PCO) نیز استفاده و پراکنش نمونه ها بر اساس دو مولفه اول و دوم روی نمودار دوبعدی رسم گردید.

میلی لیتر به منظور رنگ آمیزی قرار گرفته و پس از شستشو با آب مقطر باندهای تولید شده در دستگاه مخصوص عکس برداری از ژل تحت اشعه ماورای بنفش (Gel Doc UVP) مشاهده و عکس برداری گردید.

تجزیه های آماری

در این مطالعه قطعات تکثیر شده توسط آغازگرها که با اندازه های ۵۰۰ تا ۲۰۰۰ جفت باز بودند جهت ارزیابی نمره دهی شدند. باندهای حاصل که از وضوح و شدت مناسب برخوردار بوده و دارای چند شکلی بودند، برای هر یک از ۱۶ آغازگر به ترتیب با اعداد یک (حضور) و صفر (عدم حضور) امتیاز بندی شده، در نرم

1. Jaccard's similarity coefficient
2. Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic average
3. Principal Coordinates Analysis

جدول ۱- مناطق جمع آوری نمونه های کاکوتی، ارتفاع از سطح دریا و طول و عرض جغرافیایی

شماره ردیف	علامت اختصاری نمونه	منطقه رویشی	استان	طول جغرافیایی (شرقی)	عرض جغرافیایی (شمالی)	ارتفاع از سطح دریا (متر)
۱	MD23	مشهد	خراسان رضوی	۳۱°۵۹'	۱۸°۳۶'	۱۰۳۲
۲	S.YZ5	اسلامیه یزد	یزد	۷۵°۳۰'	۳۱°۴۵'	۱۷۰۰
۳	YJ5	یاسوج	کهگیلویه و بویراحمد	۳۳°۵۱'	۴۱°۳۰'	۱۷۸۳
۴	KN3	کلات نادری	خراسان شمالی	۲۵°۶۰'	۱۷°۳۷'	۳۰۵۹
۵	YJ2	یاسوج	کهگیلویه و بویراحمد	۳۳°۵۱'	۴۱°۳۰'	۱۷۸۳
۶	KN6	کلات نادری	خراسان شمالی	۲۵°۶۰'	۱۷°۳۷'	۳۰۵۹
۷	MD2	مشهد	خراسان رضوی	۳۱°۵۹'	۱۸°۳۶'	۱۰۳۲
۸	SS15	کامیاران	سنندج	۵۶°۴۶'	۴۷°۳۴'	۱۴۵۳
۹	MD9	مشهد	خراسان رضوی	۳۱°۵۹'	۱۸°۳۶'	۱۰۳۲
۱۰	CH6	چینگر	تهران	۱۲°۵۱'	۴۳°۳۵'	۱۲۸۱
۱۱	SS4	کامیاران	سنندج	۵۶°۴۶'	۴۷°۳۴'	۱۴۵۳
۱۲	MK7	ماهدشت	البرز	۵۷°۵۰'	۴۷°۳۵'	۱۳۲۱
۱۳	DJ9	دشت ارژن	فارس	۱۰°۵۲'	۳۷°۳۹'	۲۶۲۲
۱۴	ZT4	زیاران طالقان	قزوین	۲۸°۵۰'	۱۸°۳۶'	۱۳۲۳
۱۵	K23	خبر کرمان	کرمان	۱۶°۵۶'	۴۹°۲۸'	۱۸۹۵
۱۶	ZT19	زیاران طالقان	قزوین	۲۸°۵۰'	۰۴°۳۶'	۱۳۲۳
۱۷	D.YZ17	دیزه یزد	یزد	۵۸°۵۳'	۲۷°۳۱'	۲۳۰۰
۱۸	SR7	سرخه حصار	تهران	۳۳°۵۱'	۴۳°۳۵'	۱۲۸۸
۱۹	AB.ZN3	ابهر	زنجان	۱۲°۴۹'	۸۰°۳۶'	۱۵۴۳
۲۰	R.QM10	پل رباط کریم	قم	۲۵°۵۱'	۴۳°۳۵'	۱۰۲۴
۲۱	FF7	فراسیند فارس	فارس	۴۰°۵۲'	۵۲°۳۸'	۷۷۷
۲۲	S.YZ3	اسلامیه یزد	یزد	۷۵°۳۰'	۳۱°۴۵'	۱۷۰۰
۲۳	AB.ZN25	ابهر	زنجان	۱۲°۴۹'	۸۰°۳۶'	۱۵۴۳
۲۴	FF9	فراسیند فارس	فارس	۴۰°۵۲'	۵۲°۳۸'	۷۷۷
۲۵	Mt7	محلات	مرکزی	۲۶°۵۰'	۵۵°۳۳'	۱۷۶۹
۲۶	K14	خبر کرمان	کرمان	۱۶°۵۶'	۴۹°۲۸'	۱۸۹۵
۲۷	K25	خبر کرمان	کرمان	۱۶°۵۶'	۴۹°۲۸'	۱۸۹۵
۲۸	Mt10	محلات	مرکزی	۲۶°۵۰'	۵۵°۳۳'	۱۷۶۹
۲۹	AB.ZN17	ابهر	زنجان	۱۲°۴۹'	۸۰°۳۶'	۱۵۴۳
۳۰	BB25	بی بی شهربانو	تهران	۲۷°۵۱'	۳۰°۳۵'	۱۰۰۷
۳۱	KM.K5	کمال شهر	البرز	۵۲°۵۰'	۵۳°۳۵'	۱۳۱۵

ادامه جدول ۱- مناطق جمع آوری نمونه های کاکوتی، ارتفاع از سطح دریا و طول و عرض جغرافیایی

۱۳۹۵	'۱۷۰°۳۶	'۰۷°۵۰	قزوین	شینقر	SH.Q5	۳۲
۱۷۶۹	'۵۵°۳۲	'۲۶°۵۰	مرکزی	محلات	Mt3	۳۳
۱۳۵۵	'۱۶°۳۶	'۰۷°۵۰	قزوین	گیران قلعه	QQ1	۳۴
۲۶۲۲	'۳۷°۲۹	'۱۰°۵۲	فارس	دشت ارزن	DJ14	۳۵
۱۳۸۱	'۲۴°۳۴	'۵۱°۵۰	قم	حسن آباد قم	H.QM10	۳۶
۱۴۵۲	'۴۷°۳۴	'۵۶°۴۶	سندج	کامیاران	SS5	۳۷
۱۷۸۲	'۴۱°۳۰	'۳۳°۵۱	کهگیلویه و بویراحمد	یاسوج	YJ12	۳۸
۲۳۰۰	'۲۷°۳۱	'۵۸°۵۲	یزد	دیزه یزد	D.YZ12	۳۹

جدول ۲- نام، توالی و نتایج مربوط به آغازگر های RAPD مورد استفاده

درصد چند شکلی (b/a×۱۰۰)	تعداد باند چند شکل (b)	تعداد کل باند تکثیر شده (a)	توالی بازی آغازگر ۵' → ۳'	نام آغازگر	ردیف
۹۲/۳	۱۲	۱۳	GGACGACCGT	TIBMBA-06	۱
۶۶/۷	۶	۹	CTCGGATGTC	TIBMBA-18	۲
۱۰۰	۵	۵	GAAGGCTGGG	TIBMBA-07	۳
۱۰۰	۸	۸	TTCGGCCGAC	TIBMBA-12	۴
۷۵	۳	۴	CTTCGGTGTG	TIBMBA-13	۵
۱۰۰	۴	۴	TTTTGCCCCC	TIBMBA-11	۶
۸۷/۵	۷	۸	CCTCCACCAG	TIBMBA-12	۷
۱۰۰	۷	۷	TCACTCGCTC	TIBMBA-01	۸
۱۰۰	۱۰	۱۰	GTGCGGAGAG	TIBMBA-05	۹
۱۰۰	۸	۸	CTCCACGACT	TIBMBA-16	۱۰
۱۰۰	۶	۶	CTGGCGTGTC	OPAB-18	۱۱
۱۰۰	۷	۷	GTCCCGACGA	OPC-07	۱۲
۸۰	۴	۵	GTCGCCGTCA	OPD-03	۱۳
۸۲	۵	۶	CTACTGCCGT	OPE-17	۱۴
۸۰	۴	۵	GTGCAACGTG	OPK-10	۱۵
۸۰	۴	۵	GTCCGTACTG	OPN-19	۱۶
-	۱۰۰	۱۱۰	-	-	کل
۹۰/۳	۶/۳	۶/۹	-	-	میانگین

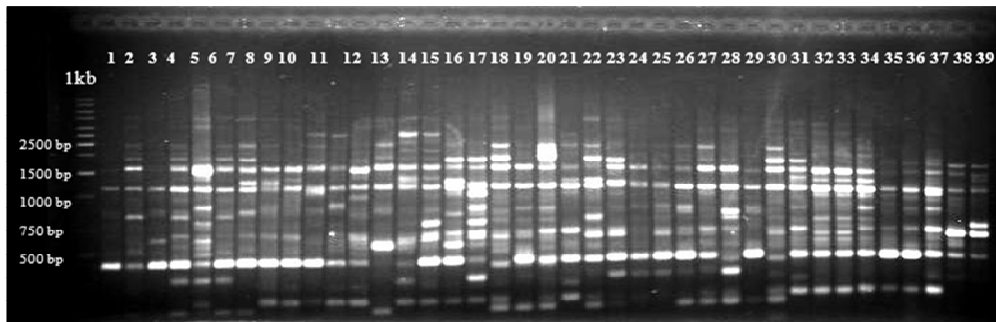
نتایج و بحث

ماتریس تشابه جهت شناسایی و درک بهتر شباهت ها در میان نمونه ها مورد بررسی قرار گرفت (داده ها نشان داده نشده است). بر اساس این جدول در بین نمونه های کاکوتی، میزان تشابه در دامنه ای از ۰/۱۹ تا ۰/۷۷ قرار داشت. بیشترین همسانی (۰/۷۷) بین دو نمونه از یاسوج از یک منطقه جغرافیایی و کمترین همسانی (۰/۱۹) بین دو نمونه از مشهد و اسلامیه یزد از دو منطقه جغرافیایی دور از هم مشاهده شد که به ترتیب حاکی از میزان نزدیکی و دوری ژنتیکی این نمونه ها نسبت به یکدیگر می باشد.

میانگین تشابه بین نمونه های کاکوتی ۰/۴۳ بوده که تنوع ژنتیکی بالایی را در نمونه های مورد بررسی

در ابتدا به انتخاب آغازگرهای مناسب از نظر تولید چند شکلی بیشتر پرداخته شد که در این بررسی ۱۶ آغازگر از ۱۲۰ آغازگر آزمون شده انتخاب گردید. پس از تکثیر، ۱۰۰ باند تشکیل شده از ۱۱۰ باند تکثیری چند شکلی نشان دادند (جدول ۲). میانگین باندهای چند شکل برای هر آغازگر ۶/۳ و میانگین درصد چند شکلی آغازگرها ۹۰/۳ درصد بود. بیشترین تعداد باند چند شکل در آغازگر TIBMBA-06 با ۱۲ باند (شکل ۱) و کمترین تعداد (۳ باند) در آغازگر TIBMBA-13 مشاهده گردید. در بین آغازگرها تعداد ۸ آغازگر ۱۰۰٪ چند شکلی نشان دادند.

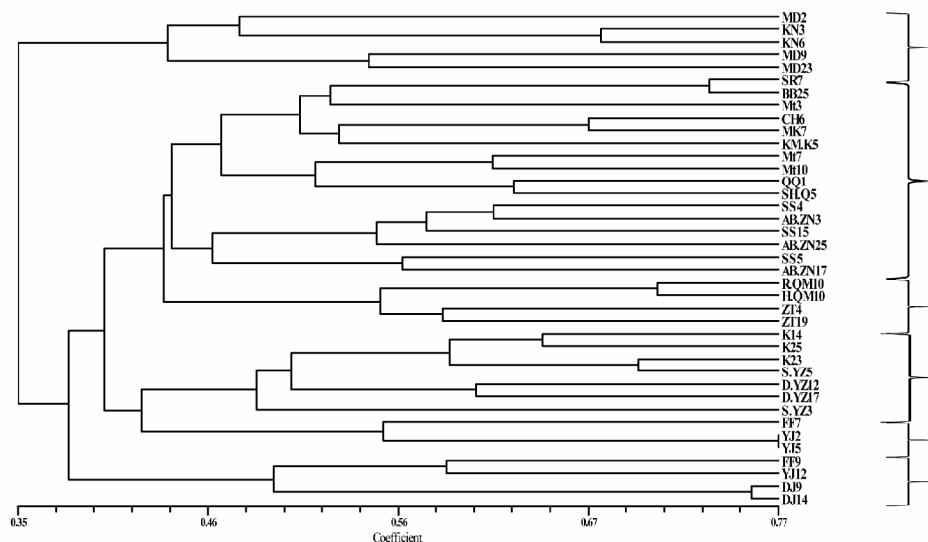
نشان می دهد، که این تنوع بالا را می توان به واسطه توزیع جغرافیایی وسیع این گونه در ایران دانست.



شکل ۱- الگوی باندهای نمونه های کاکوتی توسط آغازگر TIBMBA-06 (شماره گذاری به ترتیب جدول شماره ۱)

سوم شامل دو نمونه قم و دو نمونه زیاران طالقان از استان های مرکزی بوده است. گروه چهارم ۳ نمونه کرمان و ۴ نمونه یزد را در یک گروه مجزا قرار داده است. گروه پنجم دو نمونه یاسوج و یک نمونه فراشبند را تشکیل داده که از استان های نزدیک به هم (فارس و کهگیلویه و بویراحمد) جمع آوری شده اند. نهایتاً گروه ششم مربوط به دو نمونه دشت ارژن و ۱ نمونه یاسوج و ۱ نمونه فراشبند می باشد که در یک منطقه جغرافیایی قرار گرفته اند و در یک شاخه از دیگر گروه ها تفکیک گردیدند.

ارزیابی خوشه ای به دست آمده از ماتریس تشابه (شکل ۲)، گویای تنوع ژنتیکی بالا در نمونه های مورد بررسی است. نتایج حاصل از تجزیه خوشه ای نمونه های کاکوتی در سطح تشابه ۰/۴۳ تعداد ۶ گروه را نشان میدهد. گروه اول ۳ نمونه مشهد و دو نمونه کلات نادری را تشکیل داده و گروه دوم ۱۶ نمونه از استان های مرکزی و شمال غرب ایران را از دیگر گروه ها جدا نموده است. با وجود فاصله جغرافیایی، قرابت های ژنتیکی و خویشاوندی های احتمالی بین نمونه های مناطق استان های ایران با وجود جریان ژنی قابل توجیه است. گروه



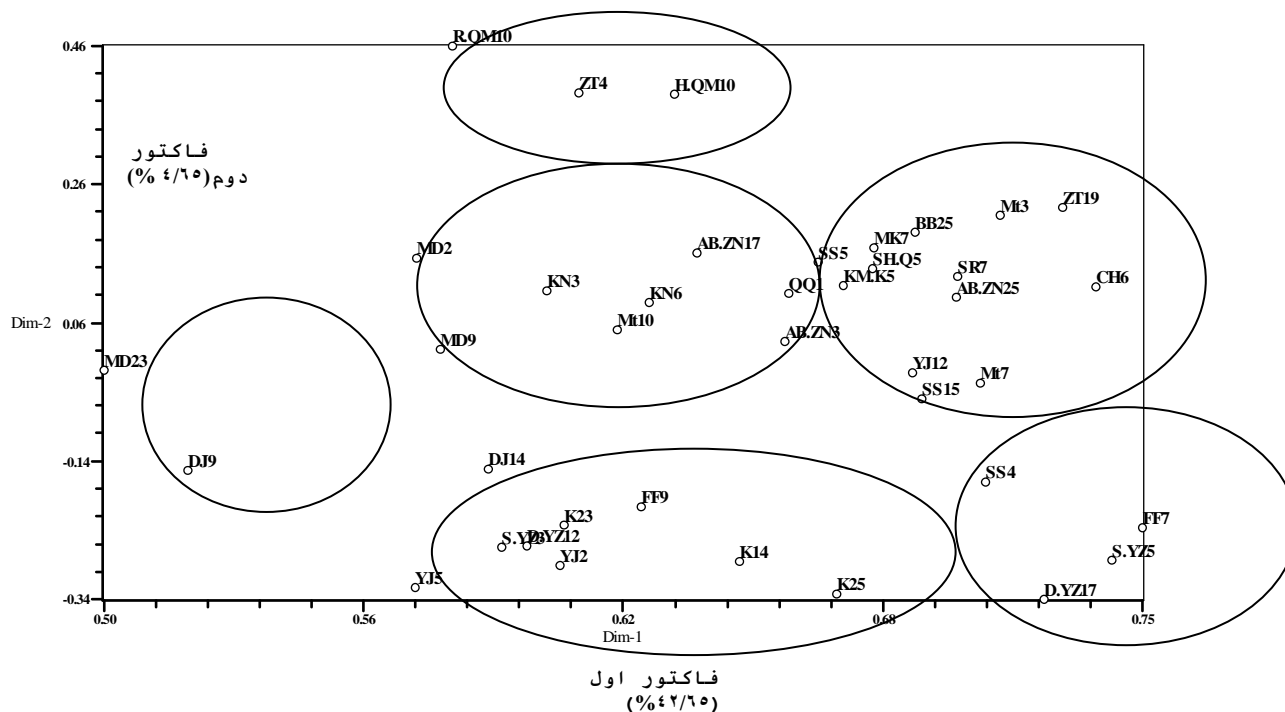
شکل ۲- گروه بندی خوشه ای مربوط به داده های حاصل از نشانگر های RAPD مربوط به ۳۹ ژنوتیپ نمونه های کاکوتی بر اساس ضرایب تشابه جاکارد و روش گروه بندی UPGMA (کدها علامت اختصاری نمونه ها طبق جدول ۱ می باشد)

بررسی گروه بندی نمونه ها استفاده شد (شکل ۳) که پراکنش و توزیع نمونه ها را بر اساس ۲ مولفه اول و دوم

علاوه بر تجزیه خوشه ای از تجزیه به مختصات اصلی (PCO) بر اساس داده های مولکولی نیز برای

از واریانس کل را بیان کردند، لذا، عدم تطابق کامل گروهها بین این دو روش قابل توجیه می باشد. ضریب کوفنتیک بین ماتریس تشابه و ماتریس خوشه بندی $r=0.68$ بدست آمد که نشان می دهد خوشه بندی UPGMA روش نسبتاً مناسبی بوده است. بر اساس دایره ها در شکل ۳، برخی نمونه ها با نزدیکی در کلاستر همخوانی دارند.

ارائه نموده است. توزیع نمونه ها در این نمودار در برخی موارد مطابق با توزیع آنها در شاخه های دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای بود. تجمع در یک ناحیه از پلات نشان دهنده تشابه بیشتر ژنتیکی آن نمونه ها خواهد بود. به طور کل بر این اساس نیز نمونه ها به شش گروه تقسیم شدند. با توجه به اینکه عامل های اول و دوم به ترتیب $42/65\%$ و $4/65\%$ (مجموعاً $47/30\%$)



شکل ۳- تجزیه پلات دو بعدی مبتنی بر دو فاکتور اول و دوم، بر اساس داده های RAPD در نمونه های کاکوتی (کد ها علامت اختصاری نمونه ها طبق جدول ۱ می باشد)

مختلف و همچنین عدم ارتباط بین تنوع جغرافیایی و مولکولی گزارش شده است. در مطالعه ای Chograni & Boussaid (2010) به بررسی تنوع بین و درون جمعیتی در ۸ جمعیت اسطوخودوس *Lavandula multifida* L. از تیره نعناعیان در تونس با استفاده از نشانگر RAPD پرداختند که تنوع وسیعی درون هر جمعیت گزارش نمودند. همچنین Liu و همکاران (2006) روی تنوع ژنتیکی ۸ جمعیت از گیاه *Lamiophlomis rotata* از تیره نعناعیان بومی تبت مطالعه نمودند که تنوع بالایی را درون هر جمعیت گزارش نمودند. در مطالعه ای روی جمعیت های مختلف گل محمدی، Kiani و همکاران (2008) نیز تنوع ژنتیکی قابل توجه ای ملاحظه نمودند که ارتباط گروه

به طور کلی نتایج خوشه بندی نشان داد که بسیاری نمونه های کاکوتی در فاصله بیشتر از 0.70 دور از هم گروه بندی شدند، که حاکی از تنوع ژنتیکی بالا در میان آنها میباشد. بخش هایی از خوشه بندی حاصل، بیانگر آن است که تنوع مولکولی نمونه های کاکوتی مورد بررسی با منشا جغرافیایی آنها در برخی موارد مطابقت و در بسیاری موارد مطابقت نداشت (شکل ۲). این حالت ممکن است به دلیل جابجایی فیزیکی ژرم پلاسم باشد. این جابجایی می تواند به صورت انتقال بذور از منطقه ای به منطقه دیگر توسط افراد صورت گیرد و یا ناشی از هتروزیگوسیتی بالا باشد که در نتیجه دگرگشتی در این گیاه است (Saber Amoli, 1997). در مطالعات انجام شده در گیاهان متفاوت، وجود تنوع بالا در جمعیت های

عاملی برای نزدیکی و شباهت نمونه های برخی مناطق با یکدیگر باشد.

نتیجه گیری کلی

بررسی های حاصله، حاکی از تنوع بالایی در میان نمونه های کاکوتی است که به علت تنوع اقلیمی در ایران و همچنین تکثیر جنسی توسط بذر و دگرگرده افشانی در این گیاه، نتایج بدست آمده قابل توجه خواهد بود. در نهایت درک چنین تنوع بالایی در مدیریت و حفاظت ژرم پلاسما این گیاه مفید و موثر خواهد بود.

سیاسگذاری

از کلیه کسانی که به نحوی در جهت پیشبرد این تحقیق کمک نمودند، به ویژه از آقایان مهندس رسولی و ابراهیمی تقدیر شده و قدردانی می گردد.

بندی حاصله با پراکنش جغرافیایی آنها ضعیف بوده است. نهایتاً در مطالعه ای روی تنوع ژنتیکی گیاه زیره نیز ارتباط ضعیفی بین پراکنش جغرافیایی و گروه های حاصله از خوشه بندی مشاهده گردید (Pezhmanmehr et al., 2010). هتروزیگوسیتی بالایی در گونه های دگرگشن وجود دارد که این امر فرصتی برای سازگاری و تکامل در آن جمعیتها ایجاد می کند که به علت جریان ژنی بالا، فاصله ژنتیکی جمعیتها کم و در عوض تنوع ژنتیکی در درون جمعیتها پراکنده خواهد شد.

با توجه به اینکه گیاه دارویی کاکوتی دگرگشن است و گرده افشانی آن از طریق حشرات انجام می پذیرد، مهاجرت حشرات و یا به عنوان مثال جابه جایی کندوهای زنبور عسل به مناطق مختلف، سبب جابجایی دانه های گرده بین مناطق شده و این خود میتواند

REFERENCES

- Babakhanloo, P., Mirza, M., Sefidkon, F., Ahmadi, L., Barazandeh, M.M. & Asgari, F. (1998). Chemical components of essential oil of *Ziziphora tenuior*. *Medical Plants Research Journal*, 2, 115-120 (In Farsi).
- Chograni, H. & Boussaid, M. (2010). Genetic diversity of *Lavandula multifida* L. (Lamiaceae) in Tunisia: Implication for conservation. *African Journal of Ecology*, 1, 1-11.
- Economou, K.D., Oreopoulou, V. & Thomopoulos C.D. (1991). Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae. *Journal of the American Chemical Society*, 68, 109-113.
- Ghahreman, A. (1994). Plant Systematic. Center for Academic Publication, Iran. pp. 238-297 (In Farsi).
- Ghahreman, A. (1992). Colorful Flora of Iran. Publication of Research Institute of Forests and Rangelands and University of Tehran Faculty of Science (In Farsi).
- Ghalichnia, H. (2002). Distribution and ecology of 36 species of oil producing plants in Mazandaran province. *Medical Plants Research Journal*, 13, 84-86 (In Farsi).
- Hadian, J., Tabatabaei, S.M.F., Naghavi, M.R., Jamzad, Z. & RamakMasoumi T. (2008). Genetic diversity of Iranian accessions of *Satureja hortensis* L. based on horticultural traits and RAPD markers. *Scientia Horticulturae*, 115, 196-202.
- Khatoun, S. & Ali S.I. (1993). Chromosome Atlas of the Angiosperms of Pakistan. Department of Botany, University of Karachi, Karachi.
- Kiani, M., Zamani, Z., Khalighi, A., Fatahi, R. & Byrne, D.H. (2008). Wide genetic diversity of *Rosa damascena* Mill. germplasm in Iran as revealed by RAPD analysis. *Scientia Horticulturae*, 115(4), 386-392.
- Konyalioglu, S., Qzturk B. & Elgin M.G. (2006). Comparison of chemical compositions and antioxidant activities of the essential oils of two *Ziziphora* taxa from Anatolia. *Pharmaceutical Biology*, 44, 121-126.
- Liu, J., Wang, L., Geng, Y., Wang, Q., Luo, L. & Zhong, Y. (2006). Genetic diversity and population structure of *Lamiophlomis rotata* (Lamiaceae), an endemic species of Qinghai-Tibet Plateau. *Genetica*, 128, 385-394.
- Momeni Dehaghi, S., Razmjoo, K.H., & 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, 2, 429-433.

13. Mozaffarian, V.A. (1996). Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser Publishers. Tehran. 591p (In Farsi).
14. Naeini, A., Khosravi, A., Tadjbakhsh, H., Ghazanfari, T., Yaraee, R & Shokri, H. (2009). Evaluation of the immunostimulatory activity of *Ziziphora tenuior* extracts. *Comparative Clinical Pathology*, 580, 885-889.
15. Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi Motamed S. & Ghorbani A. (2005). Labiatae family in folk medicine in Iran from ethnobotany to pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2, 63-79.
16. Ozturk S. & Ercisli, S. (2007). Antibacterial activity and chemical constitutions of *Ziziphora clinopodioides*. *Food Control*, 18, 535-540.
17. Pezhanmehr, M., Hassani, M.S., Fakhre Tabatabaie, M. & Hadian, J. (2010). Evaluation of genetic diversity and differentiation of some *Bunium Persicum* (Boiss) populations using RAPD markers. *Environmental Sciences*, 7 (2), 63-76 (In Farsi).
18. Rohlf, F.J. (2000). NTSys-PC Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1. Exeter Publications, Setauket, NY.
19. Saber Amoli, S. (1997). Final report of collection and evaluation of medicinal plants in Kerman province. Agricultural Research Center and Natural Resources. Kerman, Iran. pp. 36-39 (In Farsi).
20. Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad Ebrahimi, S. & Yousefzadi M. (2005). Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (Boiss). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research, Bulletin*, 28, 1892-1896.
21. Sharp, P. J., Kreis, M. Shewry, P. R. & Gale, M. D. (1988). Location of B-amylase sequences in wheat and its relatives. *Theoretical and Applied Genetics*, 75, 289-290.
22. Skoula, M., Hilali, I.E. & Makris, A.M. (1999). Evaluation of genetic diversity of *Salvia fruticosa* Mill. clones using RAPD markers and comparison with the essential oil profiles. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(6), 559-568.
23. Sneath, P.H.A. & Sokal R.R. (1963). The Principles and Practice of Numerical Classification. W.H. Freeman, San Francisco.
24. Trindade, H., Costa, M.M., Sofia, B.L.A., Pedro, L.G., Figueiredo, A.C. & 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, 790-797.
25. Vieira, R.F., Goldsbrough P. & Simon J.E. (2003). Genetic diversity of basil (*Ocimum* spp) based on RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(1), 94-99.
26. Zarabi, M. (2000). Pharmacognosical evaluation of *Ziziphora*. (Pharm D. Thesis), Faculty of Pharmacy, University of Tehran.