

فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

جلد ۲۸، شماره ۱، صفحه 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 یآوری<sup>۱</sup>، وحیده ناظری<sup>۲\*</sup>، فاطمه سفیدکن<sup>۳</sup>، ذبیح‌اله زمانی<sup>۴</sup> و محمداسماعیل حسینی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، 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

۴- دانشیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۵- استادیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: اسفند ۱۳۸۸

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۸۸

### 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، ۱۴ نوار مونومورفیک و ۲۹۶ نوار دارای چند شکلی (پلی مورفیک) بودند. به‌طور میانگین تعداد ۱۴/۷۶ نوار به‌ازای هر آغازگر بدست آمد که تعداد ۱۴/۰۹ 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 آذربایجان شرقی) با میزان فاصله ۰/۱۳۰ بیشترین تفاوت را نشان دادند. جمعیت‌های نازلو و بند (هر دو جمعیت آویشن آذربایجانی) از استان آذربایجان غربی 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 درون جمعیت جلفا (h= ۰/۲۹۴ و I= ۰/۱۹۶) و کمترین تنوع ژنتیکی در جمعیت قوشچی (h= ۰/۱۳۹ و I= ۰/۲۰۹) دیده می‌شود. میانگین شاخص‌های Fst و Nm که میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهند، به ترتیب ۰/۳۰ و ۱/۱۴ 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

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

جنس آویشن (*Thymus*) با ۱۴ گونه شامل گیاهان

دارویی مهمی در ایران است که از گذشته‌های دور به‌طور

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 می‌توانند 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 ژن‌های 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 پلیمرز (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 نمونه‌ها، 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.)

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 از جمله 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 به دلیل عدم شناخت ذخایر ژنتیکی و ژن‌های مطلوب، برنامه اصلاحی درخور توجهی روی گیاهان دارویی انجام نشده‌است. بنابراین می‌توان با شناسایی گونه‌های مختلف و ارزیابی آنها، ژن‌های مطلوب و مورد نیاز محققان را در دسترس آنها قرار داد. جهت بررسی تنوع ژنتیکی می‌توان از انواع نشانگرها استفاده کرد. نشانگرهای مورفولوژیکی و بیوشیمیایی به دلیل میزان چندشکلی قابل دسترس کمتر در مقایسه با نشانگرهای DNA، کمتر در امر

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 آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی 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.

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 و چندشکلی شیمیایی *Thymus caespitosus* پرداختند. تجزیه به عامل‌های اصلی ترکیب‌های شیمیایی اسانس ۳۱ تک‌بوته مورد بررسی، سبب شناسایی ۴ تیپ شیمیایی در آنها گردید. کاربرد نشانگرهای RAPD در مطالعه مذکور، ۳۱ تک‌بوته را به ۶ گروه تقسیم‌بندی کرد. نتایج نشان داد که هیچ رابطه مشخصی بین محل جمع‌آوری نمونه‌ها، 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، شمال غرب 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 نگرفته است. در این راستا، تحقیق حاضر به

جدول ۱- اطلاعات مربوط به رویشگاه‌های مورد مطالعه

محل جمع‌آوری	استان	ارتفاع (m)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی
هریس	آذربایجان شرقی	۱۹۰۰	۳۸° ۱۵'	E ۴۷° ۰۷'
جلفا	آذربایجان شرقی	۷۳۶	۳۸° ۴۵'	E ۴۵° ۴۰'
قوشچی	آذربایجان غربی	۱۸۰۰	۳۸° ۱۳'	E ۴۴° ۵۱'
نازلو	آذربایجان غربی	۱۳۳۰	۳۷° ۵۳'	E ۴۵° ۴۹'
بند	آذربایجان غربی	۱۳۱۶	۳۷° ۳۲'	E ۴۵° 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 کمیت 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 دگرگشتن بودن آویشن، DNA ژنومی بالک مربوط به هر جمعیت توسط ترکیب ۲۰ میکرولیتر از محلول مصرفی DNA هر تک‌بوته تهیه شد.

### شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (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، ۴ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۷/۵ میکرولیتر کیت PCR (CinnaGen, Ltd., Taq DNA polymerase master mix- 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.4 mM

(dNTPs, PCR buffer) بود. برای بررسی چندشکلی DNA بین جمعیت‌های مورد آزمایش، در ابتدا تعداد ۶۰ 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 ۴). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Thermocycler (iCycler, Bio Rad Co., USA)) انجام شد. شرایط واکنش در جدول ۲ آورده شده است. پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، 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 ۶۵ 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	۹۴	۳ دقیقه
		واسرشت‌سازی	۹۲	۱ دقیقه
۲	۵	اتصال آغازگر به DNA	۳۹/۵	۱ دقیقه
		بسط آغازگر	۷۲	۲ دقیقه
		واسرشت‌سازی	۹۲	۳۰ ثانیه
۳	۳۷	اتصال آغازگر به DNA	۳۷/۵	۴۵ ثانیه
		بسط آغازگر	۷۲	۲ دقیقه
۴	۱	بسط نهایی	۷۲	۷ دقیقه

## محاسبات آماری

در نوارهای ایجاد شده در محدوده 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 آلی با کمک آنالیز نی محاسبه شد (Nie, 1987). در این ارزیابی تعداد آل‌های مشاهده شده، تعداد آل‌های 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

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

na = تعداد آل‌های مشاهده شده  
ne = تعداد آل‌های مؤثر  
h = شاخص تنوع ژنتیکی نی  
I = شاخص اطلاعاتی شانون

این شاخص ساختار و دوری و نزدیکی بین جمعیت‌ها را از طریق محاسبه هتروزیگوسیتی آل‌ها، فراوانی آل‌ها 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

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 آلی توسط نرم‌افزار Popgene محاسبه شد (Nie, 1987). با کمک Ht و Hs بدست آمده شاخص F<sub>ST</sub> (F<sub>ST</sub> statistics) (Wright, 1949) از طریق فرمول زیر محاسبه شد (Lynch & Milligan, 1994):

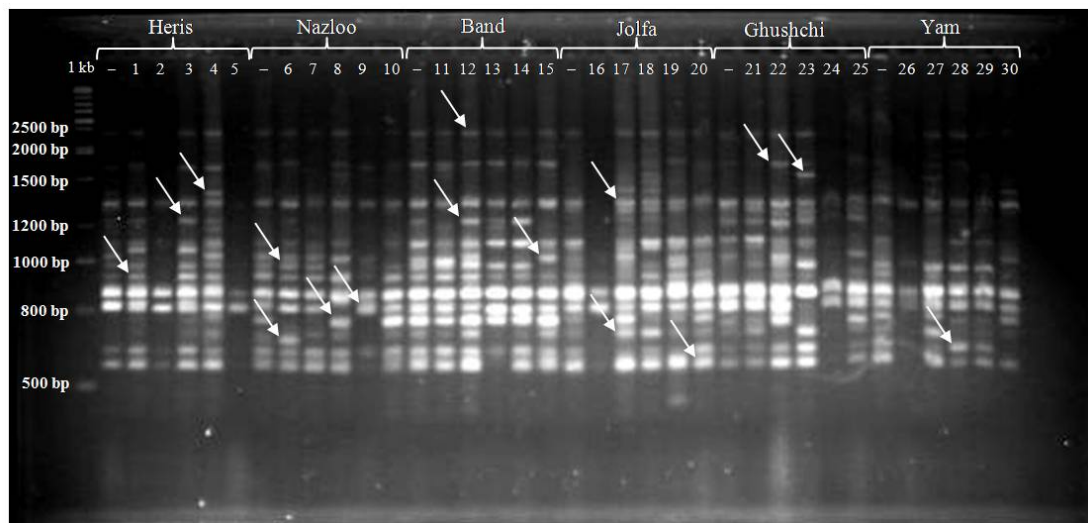
$$F_{st} = 1 - Hs / Ht$$

مشخص نمودن برخی از باندهای مونومورفیک و پلی مورفیک آن نشان داده شده است (شکل ۱). بیشترین درصد پلی مورفیسیم (۱۰۰٪) با کاربرد آغازگرهای TIBMBA-04، OPN-08، OPD-01، OPC-05، OPB-16، TIBMBA-05، TIBMBA-14، TIBMBC-15، TIBMBC-20، TIBMBD-16 و TIBMBE-17 مشاهده گردید، درحالی که دو آغازگر OPN-18 و TIBMBD-19 کمترین درصد پلی مورفیسیم (۸۳٪) را تولید نمودند.

گرفته شدند. از کل باندهای شمارش شده برای جمعیت های مختلف، تعداد ۱۴ باند مونومورفیک و ۲۹۶ باند (۹۴/۹۰٪) نیز پلی مورفیک بودند. به طور میانگین تعداد ۱۴/۷۶ باند به ازای هر آغازگر بدست آمد که تعداد ۱۴/۰۹ باند از آنها پلی مورفیک بودند. کمترین باند تکثیر شده با آغازگر TIBMBD-19 با تعداد ۶ باند و بیشترین تعداد باند تکثیر شده با آغازگرهای TIBMBA-03 و TIBMBE-17 با ۲۰ باند حاصل گردید (جدول ۴). نمونه ای از الگوی باندهای تکثیر شده توسط آغازگر TIBMBA-03 همراه با

جدول ۴- نوع، توالی و درصد چندشکلی آغازگرهای مورد استفاده در آنالیز RAPD جمعیت های طبیعی گونه های آویشن

ردیف	آغازگر	توالی آغازگر ۳' → ۵'	تعداد کل قطعات تکثیر شده (a)	تعداد قطعات چندشکلی (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	GTCCGTA CTG	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	GGA ACTCCAC	۱۶	۱۴	۸۸
۱۲	TIBMBA-14	TCGGGAGTGG	۱۴	۱۴	۱۰۰
۱۳	TIBMBA-15	GAAGACCTGG	۱۳	۱۲	۹۲
۱۴	TIBMBA-10	ACTTG CCTGG	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 بانندی حاصل از تکثیر DNA ژنومی جمعیت‌های آویشن توسط آغازگر TIBMBA-03

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 می‌توان متفاوت بودن گونه‌های این دو جمعیت ذکر کرد. در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی، جمعیت‌های بند (استان آذربایجان غربی) و جلفا (استان آذربایجان شرقی) 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 جمعیت‌ها (شکل ۲)، جمعیت یام که مربوط به گونه‌ای دیگر (آویشن کرک‌آلود) بود، بیشترین تفاوت را با سایر جمعیت‌ها نشان داد، به طوری که در گروهی کاملاً جدا نسبت به سایر جمعیت‌ها قرار گرفت.

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 آلی در زیر آمده است:

$$Ht = ۰.۲۴, Hs = ۰.۱۷, Gst = ۰.۳۰, Nm = ۱.۱۴$$

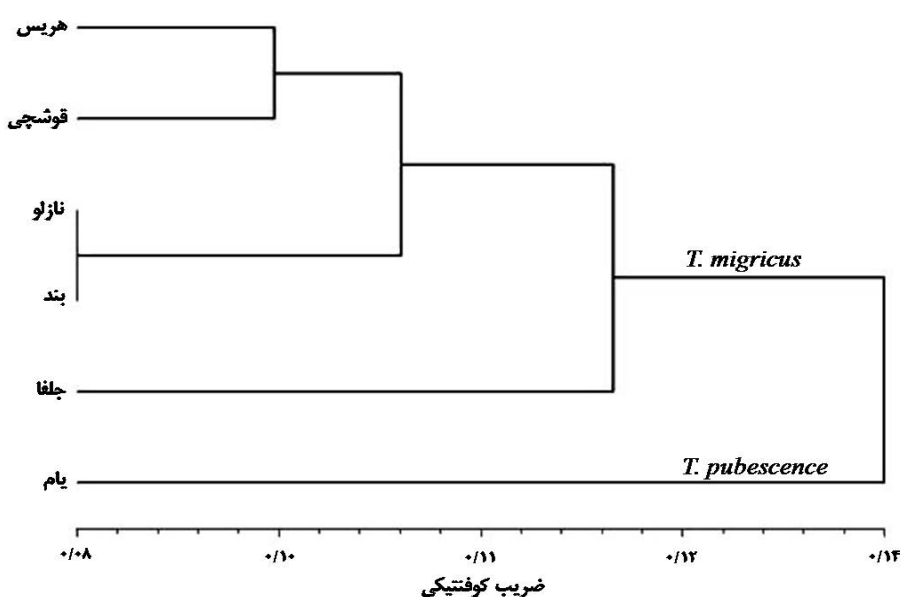
میزان شباهت یا تفاوت در بین جمعیت‌ها توسط ماتریس فاصله و همچنین دندروگرام حاصل از آنها تعیین شد (جدول ۵ و شکل ۲). در ارزیابی ماتریس فاصله، جمعیت‌های نازلو و بند (هر دو جمعیت آویشن آذربایجانی) از استان آذربایجان غربی با میزان فاصله ۰/۰۸۱ بیشترین شباهت را در بین جمعیت‌های دو گونه آویشن مورد مطالعه داشتند که با توجه به این که هر دو در یک استان قرار دارند، نتیجه بدست آمده می‌تواند از فاصله جغرافیایی جمعیت‌ها از یکدیگر نشأت گرفته باشد. نتایج جدول ماتریس فاصله نشان می‌دهد که جمعیت‌های

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	۰/۱۲۴	۰/۱۳۷	۱

در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی، جمعیت‌های 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 جمعیت‌های 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 به ترتیب 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 ۶).



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



جدول ۶- 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	۱/۴۳۹	۱/۲۹۸	۰/۹۰
نازلو	۱/۵۲۰	۱/۳۱۸	۰/۸۶
بند	۱/۵۶۰	۱/۳۳۰	۰/۸۵
جلفا	۱/۵۵۰	۱/۳۳۸	۰/۸۶
قوشچی	۱/۳۹۵	۱/۲۳۶	۰/۸۸
یام	۱/۳۷۸	۱/۲۶۰	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	۴۴۴/۶۰	۸۸/۹۲	۱۰/۸۲	٪ ۲۴
درون جمعیت‌ها	۲۴	۸۳۵/۲۰	۳۴/۸۰	۳۴/۸۰	٪ ۷۶
کل	۲۹	۱۲۷۹/۸۰		۴۵/۶۲	٪ ۱۰۰

## بحث

اطلاع از روابط ژنتیکی گونه‌های وحشی برای بهره‌وری موفق و پایدار از تنوع ژنتیکی موجود آنها ضروریست. با توجه به جدول ۶ در بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی، در جمعیت هریس، ۰/۹۰ از کل آلل‌های مشاهده شده توزیع برابر دارند که نشان می‌دهد این جمعیت از سایر جمعیت‌ها از توزیع یکنواخت‌تری برخوردار می‌باشد، زیرا نسبت آلل‌هایی که فراوانی برابر دارند به کل آلل‌ها از سایر جمعیت‌ها بیشتر است. در حالی که در جمعیت بند، ۰/۸۵ از کل آلل‌های 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 آلل‌های

مشاهده شده در جمعیت‌های آویشن آذربایجانی بین ۱/۳۹۵ تا ۱/۵۶۰ آلل و تعداد آلل‌های مؤثر بین ۱/۲۳۶ تا ۱/۳۳۸ آلل تغییر می‌کند و نسبت این دو یعنی آلل‌های مؤثر به آلل‌های 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 جمعیت‌های آذربایجانی تقریباً در یک سطح یکنواختی از توزیع آللی قرار دارند. با توجه به جدول ۶، در تمام پنج جمعیت آویشن آذربایجانی، بیش از ۰/۸۴ از آلل‌های مشاهده شده را آلل‌های مؤثر تشکیل می‌دهند. با توجه به دگرگشتن بودن گونه‌های مختلف خانواده نعناع و از جمله گونه‌های مختلف جنس آویشن (قهرمان، ۱۳۷۳)، در جمعیت‌های

جمعیت‌ها نشان می‌دهد که اختلاف بین جمعیت‌ها بالا نیست و حداکثر تفاوت بین جمعیت‌های آویشن آذربایجانی ۱۳٪ است، به عبارت دیگر تشابه این جمعیت‌ها به همدیگر بیش از ۸۷٪ می‌باشد. به طور 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 متقطع افزایش می‌یابد و به علت افزایش هموزیگی و افتراق جمعیت‌ها فرسایش ژنتیکی آغاز خواهد شد (Hamrick & Godt, 1989). برای تخمین جریان ژنی بین جمعیت‌های مورد بررسی، شاخص‌های  $H_t$ ،  $H_s$ ،  $F_{st}$  و  $N_m$  محاسبه گردید. اگر  $N_m$  نزدیک به صفر باشد یعنی  $F_{st}$  در حداکثر مقدار خود می‌باشد و این بدین معناست که هتروزیگوسیتی جمعیت در کل مقدار بسیار کمی بوده است و زمانی که  $N_m$  در حداکثر مقدار خود باشد  $F_{st}$  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 شده است، 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  $F_{st}$  و  $N_m$  که میزان جریان ژنی بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهند به ترتیب ۰/۳۰ و ۱/۱۴ بدست آمد که بیانگر بالا بودن تبادل

دگرگرده‌افشان متعادل مانند پنج جمعیت آویشن آذربایجانی در این بررسی، فراوانی ژنی و ژنوتیپی از نسلی به نسل دیگر تغییر نمی‌کند (فارسی و ذوالعلی، ۱۳۸۲). این موضوع می‌تواند در جهت مطالعه و فهم بهتر روابط موجود در جمعیت‌های آویشن آذربایجانی کمک درخور توجهی نماید.

بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها به دلیل دخالت چندین عامل از جمله پیوستگی (Linkage)، تلاقی خویشاوندی (Inbreeding)، مهاجرت (Migration) و تفاوت‌های موجود در افراد تشکیل‌دهنده جمعیت‌ها دارای پیچیدگی‌هایی است (Mohammadi & Prasanna, 2003). به طور کلی این بررسی‌ها به تعداد افراد مورد بررسی در هر جمعیت، تعداد مکان‌های آلی مورد بررسی، موقعیت آلی 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 جلغا ( $I = 0/294$  و  $h = 0/196$ ) نسبت به سایر جمعیت‌ها، بیشترین و در جمعیت قوشچی ( $I = 0/209$  و  $h = 0/139$ ) کمترین بوده است.

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

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

ژنی بین پنج رویشگاه آویشن آذربایجانی مورد مطالعه در این بررسی می‌باشد. علاوه بر این، با توجه به این که میزان هتروزیگوسیتی کل  $0.24$  ( $H_t = 0.24$ ) بوده و مقدار هتروزیگوسیتی درون جمعیت‌ها  $0.17$  ( $H_s = 0.17$ ) می‌باشد، بنابراین میزان هتروزیگوسیتی بین جمعیتی برابر با  $0.07$  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 آذربایجان شرقی در کنار جمعیت‌های استان آذربایجان غربی برشمرد به بیلابقی بودن منطقه هریس می‌توان اشاره کرد که دامداران مناطق مختلف هر دو استان آذربایجان شرقی 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 آذربایجان غربی 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 (از جمله 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

- 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 آل‌های 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، ۷۴۳ 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 Reports 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, New York, USA, 7p.
- Sharp, P.J., Kreis, M., Shewry, P.R. and Gale, M.D., 1988. Location of  $\beta$  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<sup>1</sup>, V. Nazeri<sup>2\*</sup>, F. Sefidkon<sup>3</sup>, Z. Zamani<sup>4</sup> and M.E. Hassani<sup>4</sup>

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  $F_{st}$  and  $N_m$  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.