

چشم اندازی از ژن کلروپلاستی *matK*

شاهرخ کاظم پور اوصالو^{1*}، اکرم کاوه²، عاطفه امیراحمدی³

1- دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

2- دانشجوی دکتری سیستماتیک گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

3- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان

* تهران، صندوق پستی 175-14115

skosaloo@modares.ac.ir

(دریافت مقاله: 93/00/00 پذیرش مقاله: 93/00/00)

چکیده- ژن کلروپلاستی *matK* که به عنوان ORF509 شناخته شده، دارای سرعت تکاملی بالا در سطوح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی است. این ژن در ناحیه تک بزرگ ژنوم کلروپلاست و بین آگرون‌های 5' و 3' *trnK* (tRNA-lysine) در درون یک ایترون گروه II واقع شده است. اثر نور و مرحله نموی بر سطوح RNA و پروتئین *matK* نشان دهنده تأثیر غیر مستقیم و عملکردی این ماچوراز مشهور بر فتوسنتز است. *matK* یکی از مناسب‌ترین ژن‌های کلروپلاستی برای حل روابط فیلوژنی و تکاملی در گستره‌ای از سطوح تاکسونومیک از سطح گونه تا جنس، تیره و حتی فرا تیره‌ای در میان گیاهان خشکی به ویژه نهان‌دانگان می‌باشد. این ژن به عنوان DNA بارکد، سطوح بالای تمایز را در میان گونه‌های نهان‌دانگان نشان داده است که می‌تواند به صورت تکی یا همراه با ژن‌های دیگر برای شناسایی و معرفی گونه‌های ناشناخته استفاده شود.

کلیدواژگان: نهان‌دانگان، ژن *matK* فیلوژنی، ماچوراز، شناساگر گونه.

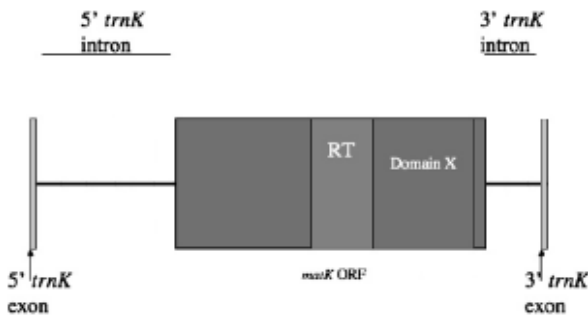
1- مقدمه

محدودیت ساختاری و کارکردی این ژن دلالت داشته و تمایل آن را به سمت یک حالت شبه ژن نشان می‌دهد، این در حالی است که بررسی ویژگی‌های شیمیایی زنجیره‌های کناری پروتئین MATK، محدودیت ساختاری و عملکردی آن را برای بیان و فعالیت نشان می‌دهد [3-5] و باقی ماندن ژن *matK* در ژنوم کلروپلاستی *Epifagus virginiana* که بیش از 65 درصد ژن‌های کلروپلاستی را از دست داده، نشانگر نقش عملکردی بسیار مهم این ژن در گیاهان است. همچنین این ژن به طور غیر مستقیم در فتوسنتز درگیر است [6]. همساختی

ژن *matK* به علت داشتن سرعت تکاملی بالا، در حل روابط تکاملی در سطوح گونه و خانواده و حتی در سطوح بالاتر فیلوژنی کارآمد است و همچنین در میان گیاهان عالی تنها ژن پلاستییدی است که دارای ناحیه ماچورازی¹ است و در پیرایش² ایترون‌های گروه II نقش دارد [2,1]. به نظر می‌رسد سرعت جایگزینی بالای آمینواسید و نوکلئوتیدی در *matK* بر پایین بودن

1. Maturase Domain
2. Splicing

ژن *matK* دارای ناحیه X و باقی مانده کوچکی از ناحیه ترانس کریپتاز معکوس (RT)⁴ است (شکل 2) و این نشان می‌دهد که اجداد *matK* توانایی رونویسی معکوس داشته اما در حال حاضر این توانایی را از دست داده‌اند [8,1].



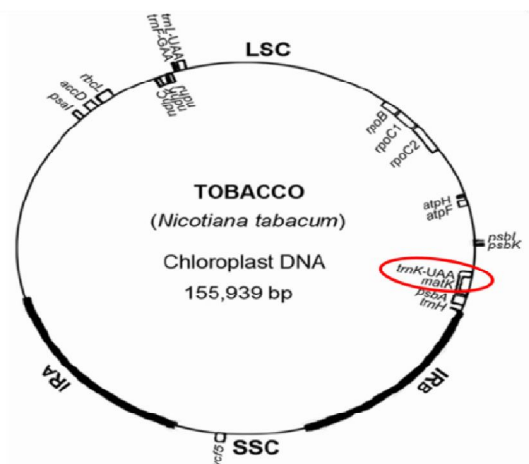
شکل 2 دیاگرام ژن *matK* و ایترون *trnK* [30]

matK دارای سرعت تکاملی بالایی در سطوح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی بوده و تعداد زیادی اضافه و حذف⁵ در اندازه‌های مختلف، از یک جفت باز در بعضی از علفی‌ها تا 204 جفت باز در *Epifagus virginiana*، در آن دیده می‌شود [10,9]. این ویژگی *matK* یعنی سرعت تکاملی بالای آن در مقایسه با سایر ژن‌های کلروپلاستی باعث شده است که این ژن در برخی از ارکیدها (Valerianaceae)، تیره‌های (Corallorhizinae)، و Orobanchaceae به عنوان شبه ژن⁶ در نظر گرفته شود [12,11]. این در صورتی است که *matK* با داشتن رونوشت و محدودیت‌های کارکردی و ساختاری و همچنین وجود حذف و اضافه‌های تغییر قالب⁷، متفاوت از شبه ژن‌ها معرفی شده است [5,3]. در بسیاری از گونه‌های گیاهی، ناحیه 5[′] این ژن تنوع ژنی بیشتری از ناحیه 3[′] (فاقد حذف و اضافه و واجد یک ناحیه حفاظت شده از جهش‌ها) دارد [5,4]. همچنین سرعت

ساختار و ترکیب شیمیایی *MATK* و LTRA¹ (ماچوراز ایترون‌های گروه دو در میتوکندری *Lactococcus lactis*)، عملکرد *matK* را به عنوان یک آنزیم ماچورازی در میان ایترون‌های گروه II حمایت می‌کند [4,3]. ویژگی منحصر به فرد *matK* یعنی سرعت جایگزینی بالای آن باعث شده که در شناسایی گونه‌های گیاهی به عنوان DNA barcoding در نظر گرفته شود. لازم به ذکر است که این ژن به تنهایی یا همراه با سایر توالی‌های DNA برای همین منظور استفاده می‌شود [7].

2- ژن *matK*

نام *matK* برگرفته از MaturaseK است، زیرا این ژن، آنزیم ماچوراز درگیر در پیرایش ایترون‌های گروه II را کدگذاری می‌کند. این ژن در بیشتر گیاهان سبزی (به جز برخی از جلبک‌های سبزی) وجود دارد و تقریباً دارای 1500 جفت باز طول معادل 500 آمینواسید است [2,1]. ژن *matK* در ناحیه تک کپی بزرگ ژنوم کلروپلاست² نزدیک به ناحیه تکرار معکوس³ در درون ایترون ژن *trnK* قرار گرفته است (شکل 1).



شکل 1 موقعیت ژن *matK* در گیاه *Nicotiana tabacum* در ناحیه LSC نزدیک IR

ناحیه LSC نزدیک IR

4. Reverse Transcriptase (RT)

5. Indel

6. Pseudogene

7. Frameshift

1. Long Terminal Repeat

2. Large Single Copy (LSC)

3. Inverted Repeat (IR)

دارد [14,13]. لازم به ذکر است که تمامی شواهد حاضر مبنی بر انتخاب مثبت در ژن *matK* متکی بر مطالعات نوکلئوتیدی بوده، درحالی که در سطح پروتئین، بدلیل جایگزینی آمینو اسیدهای هم خانواده، تغییر قابل توجهی رخ نمی‌دهد [5].

1-2- نقش عملکردی ژن *matK*

نتایج حاصل از یک مطالعه همساختی انتهای کربوکسیلی *matK* با ناحیه X میتوکندریایی نشان می‌دهد که 102 آمینواسید در این ناحیه، به طور ساختاری، مربوط به پلی‌پپتید ماچورازمانندی است که ممکن است در پیرایش ایترون‌های گروه II درگیر باشند [3,15.4]. در میان گیاهان عالی، *matK* تنها ژن پلاستییدی است که دارای این ناحیه ماچورازی مشهور است [5.4]. همساختی ناحیه X این ژن با ناحیه X ایترون ماچوراز گروه II یوکاریوت‌ها، حمایت‌کننده خاستگاه میتوکندریایی ژن *matK* است. برخی رونوشت‌های RNA که برای برش ایترون به *matK* نیاز دارند شامل *trnI*، *trnA*، *trnK*، *rps12* و *rpl2* بوده که محصولات پروتئینی یا tRNA آنها برای بعضی از عملکردهای کلروپلاست، مانند فتوسنتز مورد نیاز هستند؛ این نتایج نشان می‌دهد که *matK* به عنوان فاکتور پیرایشی که بعد از رونویسی عمل می‌کند، عملکردی اساسی در کلروپلاست دارد [3-5].

2-2- *matK* به عنوان ORF509

در تنباکو ژن tRNA لیزین (UUU) در نزدیک ناحیه بالادست ژن 32 هزار دالتونی غشای تیلانوئیدی روی رشته معنی‌دار² DNA قرار دارد که دارای یک ایترون 2526 جفت بازی در لوپ آنتی کدون است. این ایترون شامل یک قالب خوانای باز³ بزرگ شامل 509 کدون

جایگزینی در سرتاسر ژن *matK* - در هر دو سطوح نوکلئوتید اسید و آمینو اسید - یکنواخت نیست، به این معنی که بطور نسبی جایگاه سوم سرعت جایگزینی بالاتری نسبت به جایگاه‌های اول و دوم کدون دارد [9,4].

برای تعیین اینکه آیا *matK* تحت انتخاب داروینی است یا نه، از مدل‌هایی استفاده شد که در آنها نسبت سرعت جایگزینی بازهای نامترادف به مترادف به عنوان شاخصی برای فشار انتخابی در نظر گرفته می‌شود ($x = dN/dS$). نتایج نشان داد که انتخاب مثبت ($X > 1$) در ژن *matK* در تقریباً نیمی از گروه‌های گیاهی مورد مطالعه وجود دارد. به این ترتیب که در گروه جلبک‌های سبز هیچ انتخاب مثبتی دیده نشد و کمترین موارد دارای انتخاب مثبت در تک لپه‌ها (21%) و بالاترین آن به ترتیب در بازدانگان (60%) و نهان‌دانگان به جز تک لپه‌ها (53.5%) بوده است. احتمالاً این تنوع مربوط به تفاوت شرایط فیزیولوژیکی بین تک لپه‌ها و دیگر گیاهان است که منجر به تحمیل فشار انتخابی متفاوتی بر سیستم پیرایش ایترون و عملکرد ماچوراز شده است. حال، با فرض اینکه هموپلازی نتیجه انتخاب مثبت است، حذف کدون‌های درگیر در انتخاب مثبت در افزایش تفکیک‌پذیری فیلوژنتیکی، اثرات مهمی را بر افزایش ارزش‌های بوت استرپ¹ در بازسازی‌های فیلوژنی خواهد داشت که بر اساس آن *matK* نمی‌تواند به عنوان یک نشانگر خنثی مورد استفاده قرار گیرد و این انتخاب مثبت در برخی گروه‌های گیاهی غیر عادی است، با این حال ذکر این نکته ضروری است که هیچ جایگاه با انتخاب مثبتی در ناحیه X، ناحیه کارکردی *matK* شناسایی نشده است که این امر خود موید اهمیت عملکردی این ناحیه است. بیشتر جایگاه‌های با انتخاب مثبت در ناحیه انتهایی N (N-terminal) ژن *matK* قرار

1. شاخصی برای تعیین حدود اطمینان کلادها در فیلوژنی می‌باشد.

2. Sense Strand
3. Open Reading Frame

ماریپچ α و 12 رشته β است (بیش از سه آمینواسید در یک ردیف) (شکل 3). بین عناصر ساختاری و ترکیب شیمیایی MATK و LTRA (دارای فعالیت ماچورازی و ترانس کریپتازی معکوس) شباهت زیادی وجود دارد که عملکرد *matK* را به عنوان یک آنزیم ماچوراز در ایترون‌های گروه II حمایت می‌کند. LTRA برای فعالیت ماچورازی‌اش نیاز به بعضی از عناصر ساختاری و بیوشیمیایی دارد، این عناصر چندین ماریپچ α حفاظت شده به صورت همودایمر هستند که بر روی ایترون RNA قرار می‌گیرند. قرارگیری هفت ماریپچ قالب خوانای باز MATK، مشابه با α ماریپچ‌های LTRA است. در ابتدای MATK، اولین ماریپچ شامل هفت باقیمانده آمینواسیدی است (شکل 3 در جعبه a) (در LTRA 8 باقی‌مانده وجود دارد). دو ماریپچ در ناحیه 3a از LTRA شامل هر 11 باقی‌مانده آمینواسیدی است. در حالی که آن در MATK هر 13 باقی‌مانده را شامل می‌شود (شکل 3 در جعبه b).

است. این قالب خوانای باز طویل بین جایگاه‌های 750 و 2276 قرار دارد، دو قالب خوانای باز دیگر اما کوچک در ایترون ژن tRNA لیزین (UUU) در روی رشته معنی دار DNA قرار دارد، این قالب خوانای باز طویل 1527 جفت باز طول دارد، در واقع *matK* با 509 کدون به عنوان ORF509 در نظر گرفته می‌شود که با ATG شروع و با TGA (TAA/TAG) پایان می‌پذیرد. همچنین قالب خوانای باز در بعضی دیگر از ایترون‌ها مانند ایترون مربوط به ژن 24S rRNA میتوکندریایی *Neurospora crassa* و ایترون box3 در ژن آپوسیتوکروم b گزارش شده است. هرچند ORF509 از لحاظ اندازه با آنها مشابه است، اما هیچ همساختی آشکاری را با هم نشان نمی‌دهند [24].

3-2- ساختار ثانویه MATK ORF در مقایسه با LTRA
ساختار ثانویه پیش‌بینی شده قالب خوانای باز در گونه *Oryza sativa*، با استفاده از JPRED (Just a Protein Secondary Structure Prediction server) شامل 19



شکل 3 ساختار ثانویه MatK در *Oryza sativa* با استفاده از JPRED. ماریپچ‌های α با H و رشته‌های β با E نشان داده شده است. جعبه a، دو ماریپچ α مشابه بین MatK و LtrA در ناحیه N-ترمینال را نشان می‌دهد. جعبه b نشان دهنده دو ماریپچ α که بخش دومی از درج

3a در LtrA می‌باشد [5]

گنتوفیتا (Gnetophyta) نسبت به سایر گیاهان مورد آزمایش بیشتر است (شکل 4) این واگرایی در ترکیب آمینواسیدها در گنتوفیتا ممکن است رفتار منحصر به فرد دیگری باشد که نشان دهنده یک تغییر تکاملی مولکولی در ترکیب MATK برای این دودمان مبهم گیاهی است [3].

پروتئین MATK شامل سه قسمت: انتهای آمینی (N-terminal)، ناحیه ترانس کریپتاز معکوس در قسمت میانی و ناحیه X در قسمت انتهای C (C-terminal) (شکل 2)، ناحیه X دارای مقدار بیشتری آمینواسید بازی و ویژه نسبت به انتهای آمینی است، حضور این آمینواسیدها، نشان دهنده وجود یک کمپلکس ساختاری برای این ناحیه است. *matK* با وجود سرعت تکاملی بالا دارای محدودیت ساختاری و عملکردی است و از این رو ساختار پروتئینی آن محفوظ مانده است [3].

5-2- تنظیم ژن *matK*

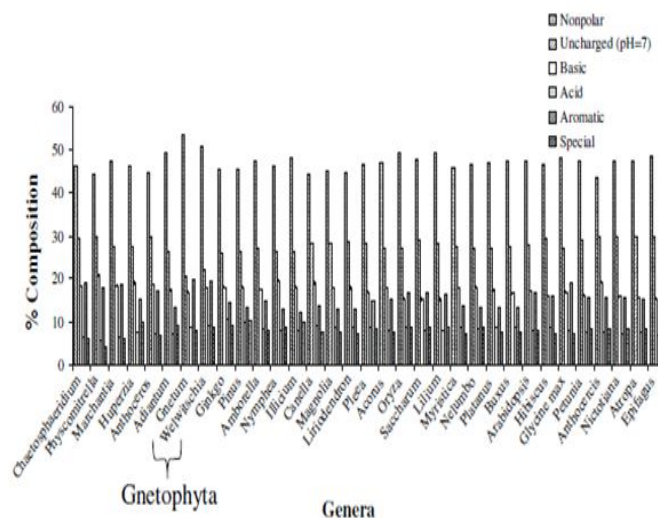
مطالعات نشان می‌دهد که در حضور نور سطوح RNA و پروتئین *matK* در نمونه‌هایی از برنج افزایش می‌یابد و همچنین بیان *matK* در این گیاه بعد از اتیوله شدن افزایش یافته و از چهار هفته بعد از جوانه‌زنی کاهش می‌یابد [5,4].

در MATK سه مارپیچ α در ناحیه X با تفاوت ناچیزی در طول، منطبق با αI ، αH و αJ در ناحیه X LTRA است (شکل 3). MATK ORF به میزان زیادی آبگریز بوده و پیش‌بینی‌های انجام شده از روی ساختار ثانویه آن نشان می‌دهد که این آبگریزی بالا، مربوط به نواحی مارپیچ α آن می‌باشد [5,3].

2-4- پروتئین و آمینواسیدها در MATK ORF

سرعت تکاملی بالا و وجود حذف و اضافات فراوان در ژن *matK* بر عملکرد و ساختار پروتئینی آن تأثیر می‌گذارد و اطلاعات پروتئینی این ژن در بررسی ویژگی‌های توالی آن مؤثر است. ساختمان بلوری پروتئین MATK مشخص نشده، اما ترکیب آمینواسیدی آن بررسی شده است. بر اساس عملکرد، آمینواسیدهای پروتئین MATK از لحاظ ویژگی‌های شیمیایی زنجیره‌های کناری به 6 گروه تقسیم می‌شود: غیرقطبی، غیرباردار، بازی، اسیدی، آروماتیک و ویژه (شامل پرولین، گلیسین و سیستئین که نقش زیادی در ساختار پروتئینی MATK دارند) [3].

در این میان آمینواسیدهایی با زنجیره‌های کناری غیرقطبی دارای درصد ترکیبی بیشتری نسبت به سایر آمینواسیدها هستند. همچنین درصد ترکیبی این نوع آمینواسیدها در



شکل 4 ترکیب زنجیره‌های کناری آمینواسیدهای پروتئین *matK* در میان نمایندگانی از گیاهان سبزی. تاکسون‌ها فیلوژنی از چپ (گروه پایه) به راست آرایش یافته‌اند [3]

2-6- تکامل اینترون‌های گروه II و فرضیه اجدادی عناصر رترو¹ (Retroelements)

اینترون‌های گروه II تنها در قارچ‌ها و ژنوم کلروپلاستی و میتوکندریایی یافت شده‌اند و پیرایش آنها به صورت اتوکاتالیزی (صفت اجدادی) یا ماچورازی است. اجداد فرضی تمامی اینترون‌های گروه II، یک رتروالمنت است که در باکتری‌ها به صورت یک عنصر متحرک (کد کننده RT) پیشنهاد شده است. این عنصر در حین مهاجرت از باکتری به میتوکندری و کلروپلاست در بعضی شرایط ORF خود را از دست داده و نیز در برخی موارد ساختار RNAی آن دژنره شده است. با از دست رفتن خودبخودی فعالیت ریبوزومی، اینترون‌های گروه II برای رهایی از این نقص متکی بر فاکتورهای پیرایش میزبان شده‌اند که این با ظهور عملکرد ماچورازی *matK* همراه بوده است. احتمالاً اجداد اینترون و *matK* در ژن *trnK* استرپتوفیت (streptophyte) (بعد از جدا شدن Mesostigma از کلروفیت) وارد شده‌اند و این رخداد مربوط به 800 تا 1200 میلیون سال قبل بوده است [8,1]. در جلبک‌های سبز به جز Characeae، اینترون *trnK* و *matK* وجود ندارند. حضور اینترون *trnK* و *matK* در Charales، Coleocatales و دیگر جلبک‌های سبز مرتبط با گیاهان خشکی، تأییدی بر خویشاوندی نزدیک بین این جلبک‌ها با گیاهان خشکی است و نشان می‌دهد که اینترون‌های گروه II (*matK*) قبل از جدایی اجداد گیاهان خشکی از خویشاوندان آبی‌شان وارد ژنوم کلروپلاستی شده‌اند [2]. در سرخس‌های Leptosporangiate نیز، *trnK* و اینترونش توسط یک واژگونی اجدادی از دست رفته‌اند. این سرخس‌ها، گروه قدیمی از سرخسیان هستند که تقریباً 90 درصد از 11 هزار گونه سرخس‌های امروزی را تشکیل می‌دهند [17]. فقدان اینترون *trnK* در بعضی از گونه‌های نهان‌دانگان مانند *Epifagus virginiana* و

Cuscuta reflexa گزارش شده که هر دو از گیاهان تمام انگل‌اند [17,6]. در این میان، باقی ماندن *matK* در ژنوم کلروپلاستی *Epifagus virginiana* شایان توجه است، چرا که بیش از 65 درصد ژنهای کلروپلاستی در این گیاه از دست رفته است و حضور *matK* نشان دهنده نقش عملکردی بسیار مهم این ژن در گیاهان است [18,6].

2-7- نقش ژن *matK* در حل روابط فیلوژنی

اندازه ایده‌آل و مناسب، سرعت جایگزینی بالا، نسبت بالای تغییر در سطح نوکلئوتیدی در جایگاه‌های اول و دوم کدون، سرعت پایین جهش‌های انتقالی² به متقاطع³ و وجود بخش‌هایی که از نظر جهش حفاظت شده‌اند، ویژگی‌هایی هستند که *matK* را قادر به حل روابط فیلوژنی در سطح درون‌جنسی تا جنس‌های خویشاوند مانند *Ebenus* [19]، *colutea* [20]، *Astragalus* [21]، *Salix* [22]، *Trillium* و خویشاوندانش [24,23]، در سطح قبیله مانند Hedysareae [25]، تیره مانند Leguminosae [10]، Saxifragaceae [27,26]، Poaceae [28]، در سطح نهان‌دانگان پایه [29]، دولپه‌ای‌های حقیقی [30] و حتی در سطح نهان‌دانگان [31] کرده است. سرعت جایگزینی نوکلئوتیدی در *matK* 1/3 برابر ژن *ndhF* (کد کننده یکی از زیر واحدهای نیکوتین آمید دهیدروژناز) است اما طول *ndhF* 1/4 برابر *matK* می‌باشد. محتوای اطلاعاتی ژن *matK* مشابه یا بیشتر از nrDNAITS بوده اما از نظر طول 1/9 برابر بلندتر است [32]. همچنین سرعت جایگزینی آن سه برابر بیشتر از *rbcL* (کد کننده زیر واحد بزرگ آنزیم روبیسکو) و *atpB* (کد کننده یکی از زیر واحدهای ATP سینتاز) و در سطح آمینواسیدی شش برابر بیشتر از *rbcL* است که این امر مؤید سرعت بالای تکاملی این ژن است که به نوبه خود

2. Transition
3. Transversion

1. Retroelements

به عنوان DNA بارکد بکار می‌روند [37].

3- مراجع

- [1] Mohr, G., Perlman, P. S., and Lambowitz, A. M. (1993). Evolutionary relationships among group II intron-encoded proteins and identification of a conserved domain that may be related to maturase function. *Nucl. Acid Res.* 21, pp. 4991-4997.
- [2] Sanders, E. R., Karol, K. G., and McCourt, R. M. (2003). Occurrence of *matK* in a *trnK* group II intron in charophyte green algae and phylogeny of the Characeae. *Am. J. Bot.* 90, pp. 628-633.
- [3] Barthet, M.M., and Hilu, K.W. (2008). Evaluating evolutionary constraint on the rapidly evolving gene *matK* using protein composition. *J. Mol. Evol.* 66, pp. 85-97.
- [4] Barthet, M.M., and Hilu, K.W. (2007). Expression of *matK*: functional and evolutionary implications. *Am. J. Bot.* 94, pp. 1402-1412.
- [5] Barthet, M. M. (2006). Expression and Function of the Chloroplast-encoded Gene *matK*. Ph.D Dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, Virginia
- [6] Wolf, K. H., Morden, C.W., and Palmer, J. D. (1994). Function and evolution of a minimal plastid genome from a nonphotosynthetic parasitic plant. *Proc. Natl. Sci.* 89, pp. 10648-10652.
- [7] Jing, Y.U., Jian-Hua, X. U. E., and Shi-Liang, Z. H. O. U. (2011). New universal *matK* primers for DNA barcoding angiosperms. *J. S. E.* 49 (3), pp. 176-181.
- [8] Hausner, G., Olson, R., Simon, D., Johnson, I., Sanders, E.R., Karol, K.G., Richard, M., McCourt, R.M., and Zimmerly, S. (2006). Origin and Evolution of the Chloroplast *trnK* (*matK*) Intron: A Model for Evolution of Group II Intron RNA Structures. *Mol. Biol. Evol.* 23, pp. 380-391.
- [9] Hilu, K.W., and Liang, H. (1997) The *matK* gene: sequence variation and application in plant systematics. *Am. J. Bot.* 84, pp. 830-839.
- [10] Hilu, K. W., Alice, L. A., and Liang, H. (1999). Phylogeny of Poaceae inferred from *matK* sequences. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 86, pp. 835-851.
- [11] Kores, P. J., Weston, P. H., Molvray, M., and Chase, M. W. (2000). Phylogenetic relationships within the *Diurideae* (Orchidaceae): Inferences from plastid *matK*

باعث افزایش جایگاه‌های اطلاعاتی پارسیمونی و پیام‌های فیلوژنی می‌شود. حتی در بعضی مطالعات، درختان فیلوژنی به مراتب حمایت شده‌تر از درختان حاصل از مطالعات چند ژنی ایجاد می‌کند [29,5,3] به همین دلیل در بسیاری از مطالعات، *matK* به همراه سایر ژن‌ها در حل روابط فیلوژنی بکار گرفته شده است [35-33,29,24,12]. سرعت جایگزینی نوکلوتیدی نسبتاً بالا در این ژن باعث شده که با وجود پرایمر جهانی در آن برای کل دولپه ای‌های حقیقی، طراحی پرایمرهای اضافی در گروه مورد مطالعه نیز مورد نیاز باشد [23,7].

2-8- *matK* به عنوان DNA Barcode (شناساگر گونه)

در مفهوم کلی DNA بارکدینگ، روشی است که در آن از قطعات استاندارد و کوتاه ژنوم برای شناسایی گونه‌ها استفاده می‌شود [38-36]. در این روش بارکد مربوط به هرگونه مثل اثر انگشت افراد منحصر به فرد است و لذا به عنوان یک مسیر آسان برای تشخیص بین گونه‌های نزدیکی که ممکن است در چشم انسان مشابه به نظر برسند به کار می‌رود [39]. نوع قطعات مورد استفاده به عنوان بارکد در میان موجودات مختلف متفاوت است. در گیاهان به علت دشواری در یافتن یک بارکد قابل قبول همگانی هنوز هیچ قطعه منحصر به فردی تعیین نشده است. بر اساس جدیدترین مطالعات، از میان قطعات کاندید (فاصله گذارهای بین ژنی *atpF-atpH* (spacer) و *psbK-psbI* و *trnH-psbA* و ژن‌های *rpoB* و *rpoC1* و *matK*)، ترکیب دو جایگاه ژنی *matK+rbcL* به عنوان یک DNA بارکد برای گیاهان توصیه شده است [42,41]. اما به دلیل نیاز به اطلاعات اضافی برای شناسایی برخی گونه‌ها -وجود دورگ- همواره ژن‌های کلروپلاستی به تنهایی مورد استفاده قرار نمی‌گیرند [39]. بنابراین قطعات پلاستییدی همراه با توالی هسته‌ای (برای نمونه *nrDNA* و ITS و *trnH-psbA*) به منظور افزایش فعالیت عملکردی

- sequences. *Biochem. Syst. Ecol.* 45: 171-178.
- [22] Hardig, T. M., Anttila, C. K., and Brunsfeld, S. J. (2010). A Phylogenetic Analysis of *Salix* (Salicaceae) Based on *matK* and Ribosomal DNA Sequence Data. *J. Bot.* 2010, pp. 1-12.
- [23] Kazempour Osaloo, Sh., Utech, F. H., Ohara, M., and Kawano, Sh. (1999). Molecular systematic of Trilliaceae I. phylogenetic analyses of *Trillium* using *matK* gene sequences. *J. Plant Res.* 112, pp. 35-9.
- [24] Kazempour Osaloo, Sh., and Kawano, S. (1999). Molecular systematics of Trilliaceae II. Phylogenetic analyses of *Trillium* and its allies using sequences of *rbcL* and *matK* genes of cpDNA and internal transcribed spaces of 18S–26S nrDNA. *Plant. Sp. Bio.* 14, pp. 75-94.
- [25] Amirahmadi, A., Kazempour Osaloo, Sh., Moein, F., Kaveh, A. (2014). Molecular systematic of the tribe Hedysareae (Fabaceae) based on nrDNA ITS and plastid *trnL-F* and *matK* sequences. *Plant Syst. Evol.* 300, pp. 729-747
- [26] Johnson, L. A., and Soltis, D. E. (1994). *matK* DNA sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str. *Syst. Bot.* 19, pp. 143-156.
- [27] Johnson, L. A., and Soltis, D. E. (1995). Phylogenetic inference in Saxifragaceae sensu stricto and *Gilia* (Polemoniaceae) using *matK* sequences. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 82, pp. 149-175.
- [28] Wojciechowski, M. F., Lavin, M. and Sanderson, M. J. (2004). A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analyses of the plastid *matK* gene resolves many well-supported subclades within the family. *Am. J. Bot.* 91, pp. 1846-1862.
- [29] Müller, K.F., Borsch, T., and Hilu, K.W. (2006). Phylogenetic utility of rapidly evolving DNA at high taxonomical levels: contrasting *matK*, *trnT-F*, and *rbcL* in basal angiosperms. *Mol. Phylogenet. Evol.* 41, pp. 99-117.
- [30] Hilu, K.W., Black, C., Diouf, D., and Burleigh, J.G. (2008). Phylogenetic signal in *matK* vs. *trnK*: A case study in early diverging eudicots (angiosperms). *Mol. Phylogenet. Evol.* 48, pp. 1120–1130.
- [31] Hilu, K.W, Borsch, T., Müller, K., Soltis, D.E, Soltis, P.S, Savolainen, V., Chase, M.W, Powell M.P, Alice, L.A, Evans, R., Sauquet, H., Neinhuis, C., Slotta, T.A.B., Jens, G.R., Campbell, C.S., Chatrou, L.W. (2003). Angiosperm phylogeny based on *matK* sequence information. *Am. J. Bot.* 90, pp. 1758-1776.
- [32] Soltis, D. E., and Soltis, P. S. (1998). Choosing an approach and an appropriate gene for DNA sequences. pp. 449-455 in K. L. Wilson, and D. A. Morrison, eds. *Monocots: Systematics and Evolution*. CSIRO Publishin, Collingwood, Victoria Australia.
- [12] Goldman, D. H., Freudenstein, J. V., Kores, P. J., Molvray, M., Jarrell, D. C., Whitten, W. M., Cameron, K.M., Jansen, R. K., and Chase, M. W. (2001). Phylogenetics of *Arethuseae* (Orchidaceae) based on plastid *matK* and *rbcL* sequences. *Syst. Bot.* 26, pp. 670-695.
- [13] Hao, D. C., Chen, S. L., and Xiao, P. G. (2010). Molecular evolution and positive Darwinian selection of the chloroplast maturase *matK*. *J. Plant Res.* 123, pp. 241–247
- [14] Dkhar, J., Kumaria S., and Tandon, P. (2011). Molecular adaptation of the chloroplast *matK* gene in *Nymphaea tetragona*, a critically rare and endangered plant of India. *Plant Genet. Resour.* 92, pp. 193–196.
- [15] Selvaraj, D., Sarma, R. K., and Sathishkumar, R. (2007). Phylogenetic analysis of chloroplast *matK* gene from Zingiberaceae for plant DNA barcoding. *Bioinformatics.* 3, pp. 24-27.
- [16] Sugita, M.K., Shinozaki, k., and Sugiura, M. (1985). Tobacco chloroplast tRNALys (UUU) gene contains a 2.5-kilobase-pair intron: an open reading frame and a conserved boundary sequence in the intron. *PNAS.* 82, pp. 3557-3561.
- [17] Duffy, A.M., Kelchner, S. A. and Wolf, P.G. (2009). Conservation of selection on *matK* following an ancient loss of its flanking intron. *Gene.* 438, pp. 17–25.
- [18] Young, N.D., and dePamphilis, C.W. (2000). Purifying selection detected in the plastid gene *matK* and flanking ribozyme regions within a group II intron of nonphotosynthetic plants. *Mol. Biol. Evol.* 17, pp. 1933–1941.
- [19] Kaveh, A. and Kazempour Osaloo, Sh. (2009b). Molecular phylogeny of the genus *Ebenus* (Fabaceae-Hedysareae) based on the chloroplast gene *matK*. 2nd Iranian plant systematic conference., Tehran, Iran. (Abstract).
- [20] Saadati, N, Hosseini, H., and Kazempour Osaloo, Sh. IBC (2011). Phylogenetic relationships within Coluteoid clade with special reference to the Eurasian genus *Colutea* (Fabaceae–Galeageae) based on nrDNA ITS and cpDNA *matK* sequences. International Botanical Congress 2011. Melbourne, Australia. Abstract.
- [21] Javanmardi, F., Kazempour Osaloo, Sh., and Maassoumi, A.A. (2012). Molecular phylogeny of *Astragalus* section *Alopecuroidei* (Fabaceae) and its allies based on nrDNA ITS and three cpDNAs, *matK*, *trnT-trnY* and *trnH-psbA*

- and Savolainen, V. (2006). 300,000 species to identify: problems, progress, and prospects in DNA barcoding of land plants. *Taxon*. 55 (3), pp. 611-616.
- [38] Ekrem, T., Willassen, E., and Stur, E. (2007). A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 43, pp. 530-542.
- [39] http://www.science20.com/news_releases/matK_gene_is_a_barcode_dna_for_plants.
- [40] Lahaye, R., van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Duthoit, S., Barraclough, T.G., and Savolainen, V. (2008). DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *PNAS*. 105, pp. 2923-2928
- [41] Janzen, D.H. (2009). A DNA barcode for land plants. *PNAS*. 106, pp. 12569-12570.
- [42] Li, Y., Gao, L.-M., Poudel, R. C., Li, D.-Z., and Forrest, A. (2011). High universality of *matK* primers for barcoding gymnosperms. *J. Syst. Evol.* 49, pp. 169-175.
- phylogenetic analysis. Pp. 2-31 in P. S. S. Douglas E. Soltis, and J. J. Doyle., ed. *Molecular Systematics of Plants II: DNA Sequencing*. Kluwer Academic Publishers, Boston.
- [33] Kaveh, A. and Kazempour Osaloo, Sh. (2010). The genus *Ebenus* (Fabaceae-Hedysareae): A phylogenetic perspective. 11th Iranian Genetics Conference, Tehran, Iran. (Abstract).
- [34] Harrington, M. G., Edwards, K. J., Johnson, S. A., Chase, M. W., and Gadek, P. A. (2005). Phylogenetic inference in Sapindaceae using plastid *matK* and *rbcL* sequences. *Syst. Bot.* 30, pp. 366-382.
- [35] Hidalgo, O., Garnatje, T., Susanna, A., and Mathez, J. (2004). Phylogeny of Valerianaceae based on *matK* and ITS markers, with reference to *matK* individual polymorphism. *Ann. Bot.* 93, pp. 283-293.
- [36] Vijayan, K., and Tsou, C. H. (2010). DNA barcoding in plants: taxonomy in a new Perspective. *Curr. Sci.* 11, pp. 1530-1541.
- [37] Cowan1, R. S., Chase1, M. W., Kress, W. J.