

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 14115 - 175

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 اگزون‌های 5' و 3' *trnK* (tRNA-lysine) در درون یک ایترون گروه II واقع شده است. اثر نور و مرحله نمو 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.

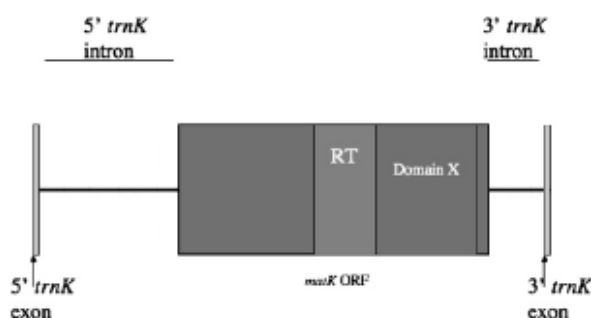
1- مقدمه

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

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

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 می دهد که اجداد *matK* توانایی رونویسی معکوس داشته اما در حال حاضر این توانایی را از دست داده اند [8,1].



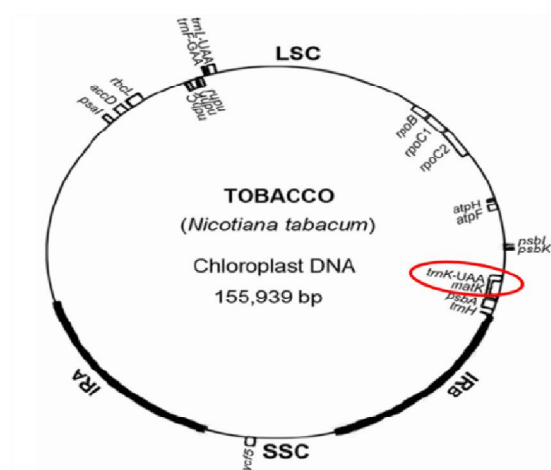
شکل 2 دیاگرام ژن *matK* و ایترون *trnK* [30]

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

ساختار و ترکیب شیمیایی *MATK* و *LTRA*¹ (ماچوراز اینترون های گروه دو در میتوکندری *Lactococcus lactis*)، عملکرد *matK* را به عنوان یک آنزیم ماچورازی در میان اینترون های گروه II حمایت می کند [4,3]. ویژگی منحصر به فرد *matK* یعنی سرعت جایگزینی بالای آن باعث شده که در شناسایی گونه های گیاهی به عنوان DNA barcoding در نظر گرفته شود. لازم به ذکر است که این ژن به تنهایی یا همراه با سایر توالی های DNA برای همین منظور استفاده می شود [7].

2- ژن *matK*

نام *matK* برگرفته از MaturaseK است، زیرا این ژن، آنزیم ماچوراز درگیر در پیرایش اینترون های گروه II را کدگذاری می کند. این ژن در بیشتر گیاهان سبز (به جز برخی از جلبک های سبز) 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 اینترون ژن *trnK* قرار گرفته است (شکل 1).



شکل 1 موقعیت ژن *matK* در گیاه *Nicotiana tabacum* در

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)

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

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 ماچوراز ماندی است که ممکن است در پیرایش ایترون‌های گروه II درگیر باشند [15,4,3]. 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* و *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 [5-3].

2-2- *matK* به عنوان ORF509

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

2. Sense Strand
3. Open Reading Frame

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

مارپیچ 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 مایجورازی و ترانس کریپتازی معکوس) شباهت زیادی وجود دارد که عملکرد *matK* را به عنوان یک آنزیم مایجوراز در ایترون‌های گروه II حمایت می‌کند. LTRA برای فعالیت مایجورازی‌اش نیاز به بعضی از عناصر ساختاری و بیوشیمیایی دارد، این عناصر چندین مارپیچ α حفاظت شده به صورت همودایمر هستند که بر روی ایترون RNA قرار می‌گیرند. قرارگیری هفت مارپیچ قالب خوانای باز MATK، مشابه با α مارپیچ‌های LTRA است. در ابتدای MATK، اولین مارپیچ شامل هفت باقیمانده آمینواسیدی است (شکل 3 در جعبه a) (در LTRA 8 باقی‌مانده وجود دارد). دو مارپیچ 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. هر چند 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. مارپیچ‌های α با H و رشته‌های β با E نشان داده شده است. جعبه a، دو مارپیچ α مشابه بین MatK و LtrA در ناحیه N-ترمینال را نشان می‌دهد. جعبه b نشان دهنده دو مارپیچ α که بخش دومی از درج 3a در LtrA می‌باشد [5]

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 مایجورازی 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 rRNA 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 مایجورازی *matK* همراه بوده است. احتمالاً اجداد اینترون و *matK* در ژن *trnK* استریتوفیت (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 *Astragalus colutea* [19]، *Ebenus* [20]، *Salix* [22]، *Trillium* و خویشاوندانش [24,23]، در سطح قبیله مانند Hedysareae [25]، تیره مانند Leguminosae [27,26] Saxifragaceae [10] 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 دولفه 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)، 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 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., Slot, 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.