تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال سوم، شماره ششم، بهار ۱۳۹۰، صفحه ۴۷-۵۸
دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۱۲/۰۷ پذیرش نهایی: ۱۳۹۰/۰۴/۱۹

تعیین اکوتیپ‌های جوامع جلگه‌ای سفیدپلت (*Populus caspica* Bornm.) در جنگل‌های خزری با استفاده از نشانگر مورفولوژیک برگ و ایزوآنزیمی پراکسیداز

حسن فلاح، گروه جنگلداری، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
مسعود طبری *، گروه جنگلداری، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
داوود آزادفر، گروه جنگلداری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

چکیده

به منظور تعیین اکوتیپ‌های جوامع جلگه‌ای سفیدپلت (*Populus caspica*) در جنگل‌های خزری ۴۰ پایه درختی از استان‌های گیلان (رودبار و آستانه اشرفیه) و مازندران (نور و آمل) انتخاب شد. برای بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز آشکارسازی باندهای پروتئین و نوکلئیک اسید (PAGE) صورت گرفت و نمونه‌های شاخه دو ساله در یک جهت از تاج درخت و ارتفاع یکسان از زمین برداشت شد. همچنین، در بررسی تاکسونومی عددی صفات ریخت‌شناسی ۱۳ صفت ریختی برگ اندازه‌گیری شد. نتایج الگوی باندی پراکسیداز حاکی از نمایان شدن ۱۱ باند جداگانه در دو ناحیه متفاوت بر روی ژل بوده است. ناحیه اول شامل ۵ باند پلی‌مورفیسم و ناحیه دوم دارای ۶ باند است. نتایج گروه‌بندی فعالیت کیفی پراکسیداز و صفات ریختی برگ با تجزیه و تحلیل خوشه‌ای داده‌ها، تمایز ایزوآنزیمی و ریخت‌شناسی زیادی را بین جمعیت‌های این گونه نشان داد و با توجه به آن سه اکوتیپ رودبار، آستانه اشرفیه و نور- آمل قابل تفکیک است. همچنین، نتایج الگوی باندی پراکسیداز و ریخت‌شناسی برگ اختلافی بین پایه‌های نر و ماده درون جامعه نشان نداد. نتایج این تحقیق ضرورت حفاظت و به کارگیری روش‌های مؤثر *in situ* و *ex situ* برای حفظ تنوع ژنتیکی این گونه به عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی ارزشمند و در معرض انقراض جنگل‌های هیرکانی را یادآور می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنالیز خوشه‌ای، اکوتیپ، پروکسیداز، سفیدپلت، نشانگر مورفولوژیک

مقدمه

جنگل‌های هیرکانی یکی از غنی‌ترین و کهن‌ترین اکوسیستم‌های جنگلی به لحاظ تنوع گونه‌ای است که از این نظر از جنگل‌های پهن برگ اروپای مرکزی نیز غنی‌تر است (مروی مهاجر، ۱۳۸۴). تاریخ تکاملی طولانی، تنوع توپوگرافی و حضور پوشش گیاهی از

* mtabari@modares.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

ارتفاع نزدیک به سطح دریا تا ارتفاع حدود ۲۸۰۰ متر به همراه تنوع اقلیمی در طول گستره این منطقه رویشی، سبب شکل‌گیری یکی از مهمترین ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی زیست کره با تعداد گونه‌های انحصاری بالا شده که در بردارنده بخش مهمی از ذخایر ژنتیک گیاهی کشور بوده است.

سفیدپلت (*Populus caspica*)، گونه انحصاری (Endemic) (مروی مهاجر، ۱۳۸۴) و در خطر انقراض (Endangered species) جنگل‌های هیرکانی (Jalili and Jamzad, 2000) از خانواده Salicaceae، جنس *Populus* (صنوبر)، بخش *Leuce* و زیر بخش *Albide* است (ضیایی ضیابری، ۱۳۷۱). درختی دو پایه با ساقه منفرد، خزان‌کننده و دارای برگ‌های متنوع است. پراکنش این گونه در مناطق پایین‌بند و تا حدودی میان‌بند جنگل‌های شمال است و به جهت فشارهای اقتصادی - اجتماعی حاکم به شدت در معرض تخریب قرار گرفته است (اسدی و همکاران، ۱۳۸۳). تخریب جنگل‌های جلگه‌ای در نیم قرن اخیر برای سکونت، واگذاری جنگل‌های جلگه به روستاییان، ورود دام، قطع بی‌رویه، از بین رفتن زادآوری، عدم جنگل‌کاری و احیای رویشگاه این گونه (جلیلوند، ۱۳۶۷)، باعث تکه تکه شدن رویشگاه (Habitat fragmentation) و کوچک شدن جمعیت این گونه و در خطر قرار گرفتن بخش عظیمی از ذخایر ژنتیکی این گونه شده است؛ به طوری که در فهرست درختان در خطر انقراض IUCN قرار گرفته است (Jalili and Jamzad, 2000). با توجه به روند سریع تخریب و نابودی جنگل‌ها، به ویژه گونه‌های نادر و ارزشمند، باید تحولی اساسی در مدیریت جنگل‌داری کشور صورت گیرد و با اندیشه‌ای نو مبتنی بر اصول توسعه پایدار، برای حفاظت اصولی از غنای ژنتیک گیاهی گام مؤثری برداشته شود. هدف بلند مدت هر سیاست حفاظت و احیا باید محافظت از پتانسیل تکاملی گونه‌ها و محافظت از تنوع ژنتیکی در سطح داخل و بین جمعیت باشد (Riggs, 1990) و در اهداف کوتاه مدت باید برنامه‌های راهبردی و عملی برای حفظ و احیای تنوع ژنتیکی به‌جا مانده گنجانده شود (Fenster and Dudash, 1994).

در بررسی تنوع ژنتیک، از نشانگرهای مورفولوژیک، ایزوآنزیمی و مولکولی استفاده می‌شود که هر کدام مزایا و معایبی دارند (Gepts, 1995). از میان مشخصه‌های مورفولوژیکی، برگ‌ها به دلیل رشد و تولید مثل درختان، فتوسنتز و کربن‌گیری از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. نتایج بررسی‌های مربوط به گونه‌های *Populus deltoids* Bartr. (Sokal *et al*., 1986)، *Populus nigra* L. (Krstinić *et al*., 1997)، *Populus euphratica* Oliv. (کلاگری، ۱۳۸۳) و تفکیک کلن‌های مختلف صنوبر (اسدی و همکاران، ۱۳۸۳) نشان داده است که مشخصه‌های مورفولوژیک برگ‌ها در تعیین تمایز میان درختان در رویشگاه‌های مختلف نقش مهمی داشته‌اند. به دلیل تأثیر عوامل محیطی بر روی جوامع، وجود اختلاف مورفولوژیک و فنولوژیک در اغلب گونه‌ها مشاهده می‌گردد (Barnes and Han, 1993). بنابراین، اختلاف مورفولوژیک صرفاً نمی‌تواند منشأ ژنتیکی داشته باشد، بلکه بررسی‌های بیوشیمیایی و استفاده از آنزیم می‌تواند به

Archive of SID

www.SID.ir

عنوان مکمل، تمایز جوامع گیاهی را با دقت مطمئن‌تری نشان دهد (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹). آنزیم پراکسیداز، از جمله مهمترین آنزیم‌ها، در روند تحولات فیزیولوژیک گیاهان است و به علت تعدد باندها و نیز امکان وضوح باندها برای مطالعات ایزوآنزیمی همواره از جایگاه خاصی برخوردار است. محققان بسیاری برای بررسی تنوع ژنتیکی گیاهان از تفسیر زیموگرام‌های الکترفورزی این آنزیم استفاده کرده‌اند. بررسی تمایز ژنتیکی راش اروپایی *Fagus sylvatica* L. (Gomory *et al.*, 1992) تنوع ایزوآنزیمی جمعیت‌های انحصاری گونه *Astragalus submitis* Fisch. و *Astragalus persicus* Fisch. (Zarre *et al.*, 2004, 2007) و تغییرات ژنتیکی جوامع پده *Populus euphratica* (کلاگری و همکاران، ۱۳۸۶) مواردی از این دسته مطالعات به شمار می‌روند. در این پژوهش، تعیین اکوتیپ‌های سفیدپلت با هدف تسهیل اتخاذ مدیریت اصولی جنگل‌داری و جنگل‌کاری، نهالستان و پرورش نهال‌های سازگار و مقاوم در شرایط محیطی مختلف، طرح‌های حفاظت پایدار و احیای این ذخیره ژنتیکی ارزشمند جنگل‌های هیرکانی صورت گرفت است.

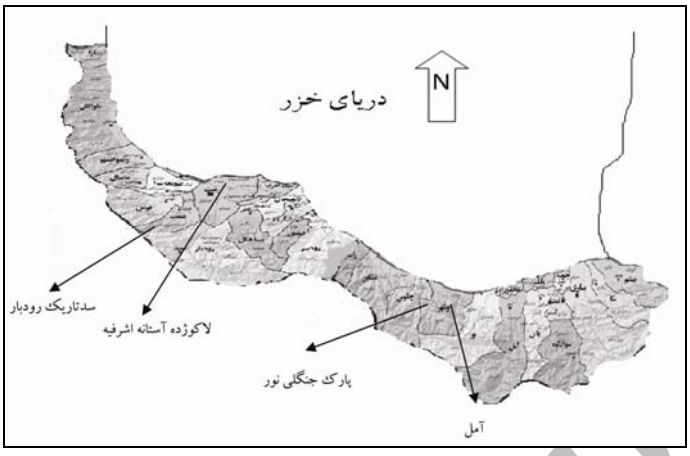
مواد و روش‌ها

ابتدا ۴ رویشگاه جلگه‌ای سفیدپلت در دو استان شمالی گیلان و مازندران انتخاب شد (شکل ۱ و جدول ۱). سپس در هر یک از مناطق مورد بررسی ۱۰ پایه سالم درخت سفیدپلت انتخاب و نمونه‌های شاخه دو ساله، به علت کامل شدن روند فیزیولوژیک آنها، در یک جهت نسبت به تابش آفتاب و ارتفاع معین از سطح زمین برداشت گردید. کلیه نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت به صورت جداگانه در یخدان حاوی یخ خشک (دمای ۴ درجه سانتیگراد) قرارگرفت و برای مطالعات آنزیمی به آزمایشگاه انتقال داده شد.

نمونه‌های مورد نظر، درهاون چینی مخصوص کاملاً خرد شدند و پس از اضافه کردن محلول عصاره‌گیری، توسط دستگاه سانتریفیوژ (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه)، ایزوآنزیم‌ها استخراج و تا شروع آزمایش‌های کیفی در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (Korori, 1989). در مطالعات کیفی با استفاده از دستگاه الکتروفورز عمودی آشکارسازی باندهای پروتئین و نوکلئیک اسید (PAGE) صورت گرفت (Hames and Rickwood, 1990). در مطالعه تاکسونومی صفات ریخت‌شناسی برگ در مجموع ۱۳ صفت ریختی برگ (کلاگری، ۱۳۸۳) با ۱۵ تکرار از نمونه‌های مورد مطالعه اندازه‌گیری شد. حالات مختلف صفات مورد استفاده به صورت کدهایی تعریف شد (جدول ۲). تجزیه و تحلیل داده‌های الکتروفورتیکی (ژل‌های تهیه شده) با تفسیر باندهای ایزوآنزیمی بر اساس حضور و عدم حضور باندها انجام شد و پایه‌های سفیدپلت بر اساس صفات ریختی برگ و فعالیت کیفی پراکسیداز، بین و داخل رویشگاه‌ها با روش فاصله اقلیدسی با نرم‌افزار JMP نسخه ۲.۱.۳ و SPSS نسخه ۱۱/۵ انجام شد. در این روش ابتدا داده‌ها استاندارد شدند و مربع فاصله اقلیدسی به عنوان معیار تشابه (فراهانی و ارزانی، ۱۳۷۸) و برای ادغام گروه‌ها از روش Ward's استفاده شد و نتایج حاصل به صورت دندروگرام ترسیم شد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی مناطق مورد مطالعه روی نقشه، مقیاس: ۱:۵۰۰۰۰

جدول ۱- ویژگی مناطق مورد مطالعه؛ *: ارتفاع از سطح دریا به متر، **: حداقل دما در سردترین ماه سال به سانتیگراد

نام رویشگاه	H*	طول جغرافیایی عرض جغرافیایی	نوع اقلیم به روش آمبرژه	m**	ضریب آمبرژه
سدتاریک رودبار	۱۳۰	۴۹° ۳۳′ ۹۳″ ۳۶° ۵۸′ ۵۰″	مرطوب با زمستان خنک	۲/۲	۱۳۷/۹
لاکوژده آستانه اشرفیه	۱۵- تا ۱۰	۴۹° ۵۷′ ۱۳″ ۳۷° ۲۳′ ۱۰″	نیمه مرطوب با زمستان سرد	-۲/۵۳	۹۴/۲۸
پارک جنگلی نور	۱۰- تا ۷۰	۵۲° ۰۲′ ۵۳″ ۳۶° ۳۴′ ۵۲″	نیمه مرطوب با زمستان خنک	۲/۱	۱۰۷/۲
آمل	۷۰ تا ۱۵۰	۵۲° ۲۳′ ۱۲″ ۳۶° ۲۸′ ۱۱″	نیمه مرطوب با زمستان معتدل	۳/۸	۸۸/۲۶

جدول ۲- صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده درختان سفیدپلت در مناطق مورد بررسی

ردیف	صفات مورفولوژیک مورد اندازه‌گیری	مقیاس	علامت اختصاری
۱	سطح برگ	سانتی‌متر مربع	LA
۲	طول برگ	سانتی‌متر	LL
۳	حداکثر پهنای برگ	سانتی‌متر	MLW
۴	طول دمبرگ	سانتی‌متر	PL
۵	نسبت طول دمبرگ به طول برگ	سانتی‌متر	PL/LL
۶	تعداد دندانه اصلی	عدد	NMS
۷	فاصله پهن ترین قسمت برگ تا قاعده برگ	سانتی‌متر	DLL
۸	فاصله پهن ترین قسمت برگ تا رگبرگ اصلی	سانتی‌متر	DLM
۹	ضخامت برگ	میلی‌متر	TL
۱۰	زاویه بین رگبرگ اصلی و دومین رگبرگ پایینی	درجه	AMV
۱۱	ماده خشک برگ	درصد	LDM
۱۲	ماکزیمم عمق دندانه برگ	میلی‌متر	MDL
۱۳	نسبت طول برگ به پهنا	نسبت	LL/MLW

Archive of SID

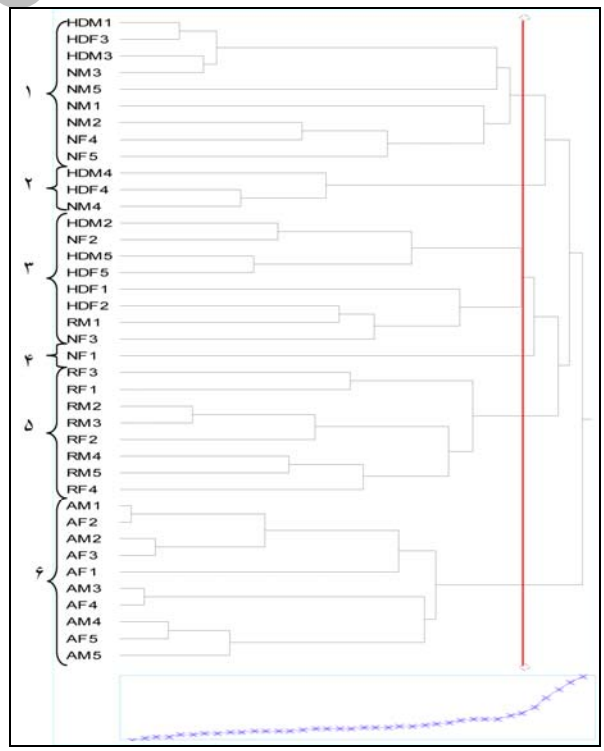
www.SID.ir

نتایج

گروه‌بندی پایه‌های موجود در چهار رویشگاه مورد بررسی بر اساس صفات ریختی برگ با استفاده از آنالیز خوشه‌ای، ۶ خوشه جداگانه را از یکدیگر متمایز نمود (شکل ۲). کلیه پایه‌های رویشگاه آستانه اشرفیه در خوشه ۶ قرار گرفتند. بجز غیر از پایه RM1 رودبار که با پایه‌های HDM5، HDF5، HDM2، HDF2 و HDF1 (آمل) و NF3 و NF2 نور در خوشه ۳ قرار گرفتند، کلیه پایه‌های این رویشگاه در خوشه ۵ قرار گرفتند. پایه‌های رویشگاه نور و آمل علاوه در خوشه ۳، به طور مشترک با تفاوت در تعداد پایه‌ها، در خوشه‌های جداگانه ۱ و ۲ قرار گرفتند. بیشترین فاصله ژنتیکی به لحاظ مورفولوژی بین پایه‌های نر یک HDM1 و دو HDM2 آمل (۱۰/۴۳) و کمترین فاصله ژنتیکی بین پایه‌های AM3 و AF4 آستانه اشرفیه (۰/۳۷) مشاهده شد (شکل ۲). کمترین تنوع درون جمعیتی به لحاظ صفات مورفولوژی در رویشگاه رودبار و بیشترین آن در رویشگاه نور و سپس آمل مشاهده می‌شود (جدول ۳).

جدول ۳- نتایج خوشه‌بندی درون جمعیتی پایه‌های جمعیت‌های جلگه‌ای سفیدپلت بر اساس صفات مورفولوژی

رویشگاه	تعداد خوشه در فاصله ۵	تعداد خوشه در فاصله ۱۰
نور	۴	۳
آمل	۳	۳
آستانه اشرفیه	۴	۲
رودبار	۲	۲



پایه‌ها	فاصله ژنتیکی
AM3 – AF4	۰/۳۷
AM2 – AM3	۰/۴
AM4 – AF5	۰/۵۲
AM1 – AF2	۰/۵۳
HDM1 – HDF3	۰/۸۷
HDM1 – HDM4	۶/۹
HDM2- RF3	۸/۴۴
HDM1 – AM1	۹/۴۷
HDM1 - HDM2	۱۰/۴۳

شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه ای درختان سفیدپلت و جدول فاصله ژنتیکی آن در رویشگاه‌های جلگه‌ای بر اساس صفات مورفولوژی برگ (R= پایه‌های رودبار، N= پارک جنگلی نور، HD= رویشگاه آمل، A=آستانه اشرفیه، M= پایه ماده، F= پایه نر)

Archive of SID

www.SID.ir

در بررسی کیفی پراکسیداز در نمونه‌های شاخه دو ساله در کل ۱۱ باند مجزا بر روی ژل نمایان گردید. باندهای پراکسیداز دو ناحیه متفاوت را بر روی ژل نشان دادند. ناحیه اول (PX1) ناحیه باندهای سبک که ناحیه کاتدی نیز خوانده می‌شود و ناحیه دوم (PX2) ناحیه باندهای سنگین و کند که ناحیه آندی خوانده می‌شود (با حداکثر تحرک نسبی ۴۵ درصد). ناحیه دوم شامل ۵ باند با تحرک نسبی ۱۶، ۲۳، ۲۸، ۳۲ و ۴۲ درصد است. باندهای با تحرک نسبی ۱۶، ۲۳ و ۲۸ درصد دارای فراوانی ۱۰۰ درصد (یعنی کلیه پایه‌های مورد بررسی در رویشگاه‌های مورد مطالعه دارای این باندها است) که باندهای پایه فیزیولوژیک خوانده می‌شوند. باند با تحرک نسبی ۳۲ درصد مختص رویشگاه رودبار و دارای نتایج ایزوآنزیمی پراکسیداز اختلافی به لحاظ نوع جنسیت بین پایه‌های نر و ماده در ۱۰ الگوی باند ایزو آنزیمی نشان ندادند و به عبارتی، درختان نر و ماده در هر یک از مناطق مورد بررسی از نظر الگوی باندی وضعیت تقریباً مشابهی داشتند. نتایج آنالیز خوشه‌ای نیز بر این امر دلالت دارد که پایه‌های نر و ماده رویشگاه‌های مختلف دارای اختلافاتی در الگوی ایزوآنزیمی بوده ولی از نظر نوع جنسیت اختلافی در آنها مشاهده نمی‌شود (شکل‌های ۳ تا ۶).

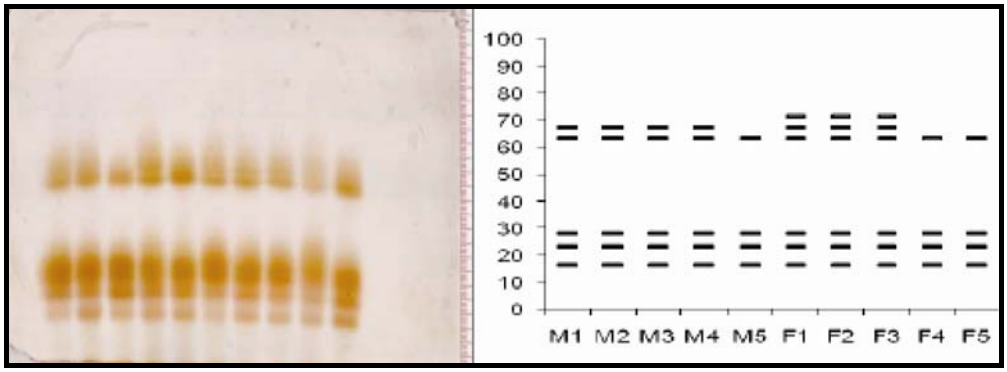
گروه‌بندی پایه‌های موجود در چهار رویشگاه مورد بررسی بر اساس فعالیت کیفی پراکسیداز با استفاده از آنالیز خوشه‌ای، ۸ خوشه جداگانه را از یکدیگر متمایز نمود. پایه‌های رویشگاه آستانه اشرفیه با تفاوت در تعداد پایه‌ها در سه خوشه مجزا ۱، ۲ و ۳ قرار می‌گیرند. پایه‌های رویشگاه رودبار نیز با تفاوت در تعداد پایه‌ها در دو خوشه ۷ و ۸ قرار می‌گیرند. هفت پایه رویشگاه آمل و هفت پایه رویشگاه نور در خوشه ۴ قرار می‌گیرند. پایه‌های ماده ۳ تا ۵ آمل (HDF3-HDF4-HDF5) و ۱ تا ۳ نور (NF1-NF2-NF3) هر کدام به طور جداگانه به ترتیب در خوشه‌های ۵ و ۶ قرار می‌گیرند (شکل ۷). بیشترین فاصله ژنتیکی بین پایه RM1 رودبار و AM1 آستانه اشرفیه دیده می‌شود. رویشگاه‌های نور و آستانه اشرفیه تنوع درون جمعیتی بالایی را نشان دادند و رویشگاه رودبار از این لحاظ کمترین تنوع را نشان داد (جدول ۴).

جدول ۴- نتایج گروه‌بندی پایه‌های داخل رویشگاه‌های جلگه‌ای سفیدپلت براساس فعالیت کیفی آنزیم پروکسیداز

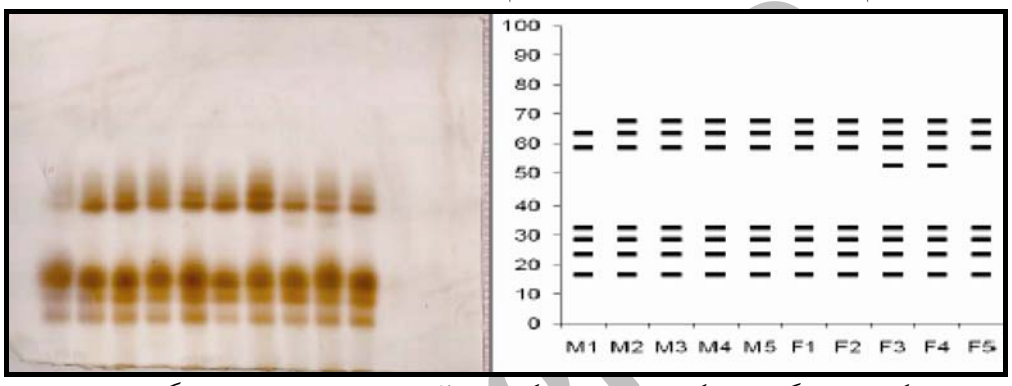
	خوشه‌بندی بر اساس فعالیت کیفی پراکسیداز	
رویشگاه	تعداد خوشه در فاصله واریانسی ۵	تعداد خوشه در فاصله واریانسی ۱۰
آمل	۴	۲
نور	۳	۳
آستانه اشرفیه	۴	۳
رودبار	۲	۲

Archive of SID

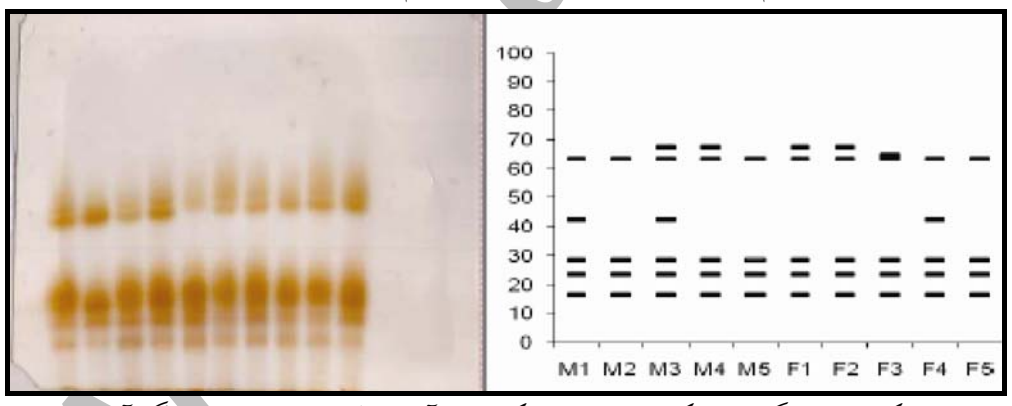
www.SID.ir



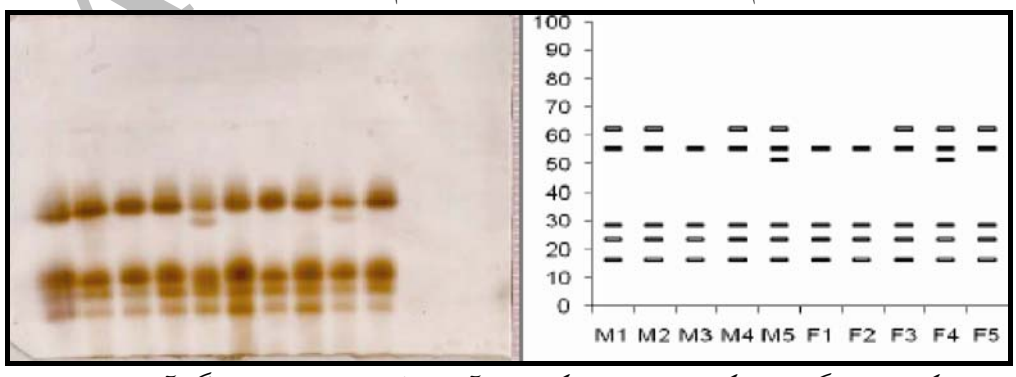
شکل ۳- زیموگرام باند الکتروفورزی و ژل الکتروفورز آنزیم پراکسیداز شاخه در رویشگاه نور (M= پایه نر، F= پایه ماده)



شکل ۴- زیموگرام باند الکتروفورزی و ژل الکتروفورز آنزیم پراکسیداز شاخه در رویشگاه رودبار

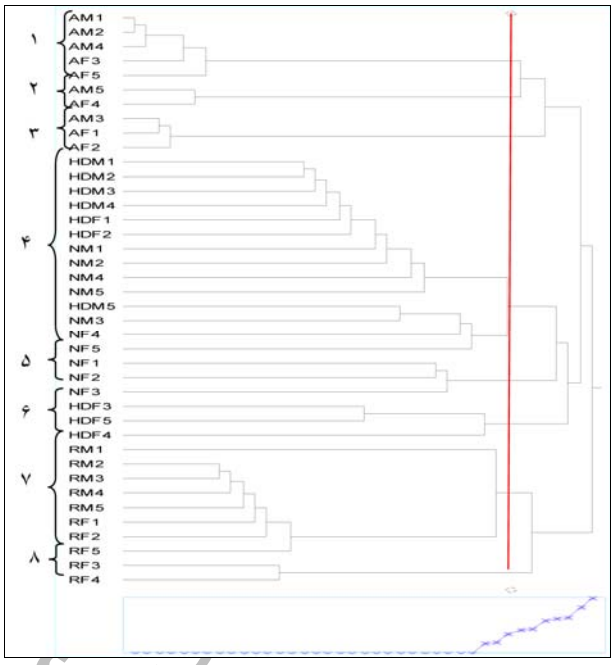


شکل ۵- زیموگرام باند الکتروفورزی و ژل الکتروفورز آنزیم پراکسیداز شاخه در رویشگاه آمل



شکل ۶- زیموگرام باند الکتروفورزی و ژل الکتروفورز آنزیم پراکسیداز شاخه در رویشگاه آستانه اشرفیه

www.SID.ir



پایه‌ها	فاصله ژنتیکی
HDF3- HD F4	۱/۶۳
RM1 – RM2	۱/۸۶
HDM1- HDM5	۳/۳۷
AM1 – AM5	۳/۹۳
RM1 – RF3	۴/۱۷
AM1 – AM3	۵/۶
HDM1 – NF1	۵/۹۶
HDM1- HDF3	۶/۲۳
AM1 – HDM1	/۹۵
AM1 - RM1	۹/۲

شکل ۷- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای درختان سفیدپلت و جدول فاصله ژنتیکی آن در رویشگاه‌های جلگه ای بر اساس فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز (R= پایه‌های رودبار، N= پارک جنگلی نور، HD= رویشگاه آمل، A=آستانه اشرفیه، M= پایه ماده، F= پایه نر)

بحث

صفات مورفولوژیک از قدیمی‌ترین ابزار طبقه‌بندی گیاهان است (اسپهبدی و همکاران، ۱۳۸۴). استفاده از صفات مورفولوژیک برگ از اقدامات لازم در بررسی‌های تنوع ژنتیکی، تفکیک اکوتیپ‌ها و فعالیت‌های اصلاحی صنوبرهاست (Shiji *et al.*, 1996; Krishnan and Sleper, 1997). از طرفی، ایزوپروتئین‌ها و ایزوآنزیم‌ها حساسترین عامل برای جداسازی و تفکیک تاگزونومی گیاهان محسوب می‌شوند و معرف شناسایی جنس، گونه و زیرگونه هستند (Mandal *et al.*, 2000). بنابراین، در بسیاری از تحقیقات، فعالیت کمّی و کیفی ایزوآنزیم پراکسیداز در گیاهان، مبنای طبقه‌بندی فیلوژنتیکی قرار داده شده است (بابایی و همکاران، ۱۳۸۹؛ اسپهبدی و همکاران، ۱۳۸۴؛ Cogolludo-Agustin *et al.*, 2000؛ Bogdanovic *et al.*, 2006).

در تحقیق حاضر، الگوی باندی پراکسیداز تعداد ۱۱ باند جداگانه را بر روی ژل نشان داد. باندهای با تحرک نسبی ۱۶، ۲۳ و ۲۸ درصد دارای فراوانی ۱۰۰ درصد هستند و باندهای پایه فیزیولوژیک خوانده می‌شوند (کلاگری، ۱۳۸۳). همچنین باند با تحرک نسبی ۶۳ درصد با تفاوت در تعداد پایه‌ها در همه رویشگاه‌ها مشاهده شد. حضور این باندهای مشترک در پایه‌های رویشگاه مختلف می‌تواند مؤید دو امر باشد (Aliyu and Awopetu, 2007): اول اینکه احتمالاً دلیلی بر منشأ تکاملی یا اجداد عمومی پایه‌های انتخاب شده هستند؛ دوم این ایزوآنزیم‌ها تحت کنترل ژن‌های مشابهی‌اند، ژن‌هایی که می‌توانند انعطاف‌پذیر و تکامل‌پذیر و قادر به بیان شرایط ژنتیکی مشابه پایه‌ها قبل از یک دوره تکاملی هستند. باندهای مختص به محل (مانند باند با تحرک نسبی ۳۲، ۴۲ ، ۵۶، ۵۸ و ۷۱) و باندهای مختص به تعدادی رویشگاه (باند با تحرک

Archive of SID

www.SID.ir

نسبی ۵۲ درصد رودبار و آستانه اشرفیه) در تمایز درختان رویشگاه‌های مورد بررسی نقش وافری دارند. وجود این باندها (خصوصاً باندهای سبک) نقش مهمی در تعیین خویشاوندی میان پایه‌های درون جمعیت و بین جمعیت دارد (Aliyu and Awopetu, 2007).

یافته‌های این تحقیق، تمایز بین الگوی باندی آنزیم پراکسیداز در گرادیان جلگه پایه‌های رویشگاه آستانه اشرفیه و رودبار را از همدیگر و از سایر رویشگاه متمایز کرد، ولی رویشگاه‌های نور و آمل از یکدیگر متمایز نشدند و با توجه به آن سه اکوتیپ رودبار، آستانه اشرفیه و نور- آمل قابل تفکیک است. همچنین، قرار گرفتن پایه درون هر یک از این رویشگاه‌ها در خوشه‌های جداگانه از تمایز و تنوع درون جمعیتی این رویشگاه‌ها حکایت دارد. نتایج گروه‌بندی پایه‌های سفیدپلت بر اساس آنالیز تجزیه خوشه ای صفات برگ در چهار رویشگاه هماهنگی زیادی با نتایج ایزوآنزیمی نشان داد و اکوتیپ‌های آستانه اشرفیه و نور-آمل تفکیک شدند. هر چند پایه‌های رودبار نیز اختلافات زیادی با پایه‌های سایر رویشگاه‌ها نشان داد و می توان آن را به عنوان یک اکوتیپ قلمداد کرد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین پایه AM1 آستانه اشرفیه و RM1 رودبار و کمترین فاصله ژنتیکی بین پایه NF4 نور و HDM2 آمل دیده می‌شود. به لحاظ تنوع درون جمعیتی رویشگاه نور و آستانه اشرفیه در وضعیت تقریباً مشابهی قرار دارند، ولی رویشگاه رودبار کمترین تنوع درون جمعیتی را نشان می‌دهد. چنین تنوعی برای رویشگاه وسیعی چون نور و آستانه اشرفیه (به ترتیب با ۲۷۰ و ۱۹۸ هکتار) و رویشگاه کوچک رودبار (کمتر ۱/۵ هکتار) مورد انتظار است. جمعیت‌های بزرگ گونه‌ها به دلیل کاهش پدیده درون لقاحی و ایزوله شدن جمعیت (Yong *et al*., 1996) و وجود جریان ژنی متنوع و جهش و ازدیاد هتروزیگوتی، عموماً از سطح تنوع ژنتیکی بیشتری نسبت به جمعیت های کوچک برخوردارند (Lopez-Pujol, 2003).

تنوع درون جمعیتی بیشتر رویشگاه آمل با فلور رودخانه‌ای سفیدپلت نسبت به رویشگاه رودبار را می‌توان تقرب زیاد جغرافیایی و اکولوژیک با رویشگاه گسترده نور و وجود شارژ ژنی این دو رویشگاه عنوان کرد که عدم تمایز دو رویشگاه نور و آمل می‌تواند دلیلی بر این امر باشد. بر اساس بررسی الگوی باندی پراکسیداز از میان پایه‌های نر و ماده درون جامعه اختلافی نشان داده نشد. دلیل آن می‌تواند ناشی از عدم وابستگی این صفت به نوع جنسیت باشد (کلاگری، ۱۳۸۳). عدم اختلاف حضور باندهای ایزوآنزیمی در پایه‌های نر و ماده درخت ارس (*Juniperus* sp.) (صالحی‌شانجانی، ۱۳۷۵؛ Rottenberg *et al*., 2000) و درخت پده *P. euphratica* (کلاگری، ۱۳۸۳) نیز گزارش شده است. سه عامل تنوع جغرافیایی و اقلیمی (Dunlap and Stettler, 1995)، تاریخ تکاملی گونه‌ها و ویژگی گونه (کلاگری، ۱۳۸۳) از مهمترین عوامل مؤثر در ایجاد تنوع و تمایز ژنتیکی است.

گونه سفیدپلت گونه مختص جنگل‌های هیرکانی و معروف به فسیل زنده (Hosseini, 1998) از گونه‌های به جا مانده از دوران سوم زمین‌شناسی (Tertiary) است (مروی مهاجر، ۱۳۸۴) که با این ویژگی تاریخ تکاملی طولانی برای آن پیش‌بینی می‌شود. پراکنش یک گونه در مناطق مختلف جغرافیایی و ارتفاعی، سبب ایجاد تنوع در خصوصیّات مورفولوژیک و فیزیولوژیک آن می‌گردد (Jones and Wilkins, 1971). منطقه هیرکانی از نظر ساختار اکولوژیک- جغرافیایی

Archive of SID

www.SID.ir

ناهمگون است و می‌توان برخی شیب‌های اکولوژی پیوسته‌ای، مثل بارندگی، شرایط خاکی و غیره را در آن یافت (صالحی‌شانجانی و ثاقب طالبی، ۱۳۸۵) که رویشگاه‌های سفیدپلت نیز به این لحاظ دارای تنوع جغرافیایی و اقلیمی متنوع است. همچنین جنس صنوبر به دلیل دوپایه بودن و افزایش تلاقی درون جمعیتی و بین جمعیتی و همچنین پراکنده شدن وسیع بذور و گرده دارای اختلافات ژنتیکی زیادی نسبت به گونه‌هایی هستند که امکان حرکت ژن‌ها در داخل جوامعشان وجود ندارد (کلاگری، ۱۳۸۳). با توجه به همهٔ این مسایل، اکوتیپ‌های زیادی برای گونه سفیدپلت پیش‌بینی می‌شد که با نتایج تحقیق حاضر کاملاً سازگاری دارد. حضور اکوتیپ‌های متعدد این گونه ضرورت حفاظت و بازسازی کلیه جمعیت‌های این گونه با پایه‌های همان رویشگاه و انجام مدیریت *ex situ* و *in situ* با توجه به تنوع ژنتیکی رویشگاه‌های مورد مطالعه این گونه بومزاد و کم نظیر جنگل‌های باستانی هیرکانی را که ذخیره‌گاه ژنتیکی نادر بسیاری از گونه‌ها در مقیاس جهانی است، گوشزد می‌کند. در نهایت، شایان ذکر است که استفاده از نشانگرهای مولکولی نظیر RAPD، RFLP، AFLP و EST برای نقشه‌برداری کامل از ژنوم در چنین تحقیقاتی ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

از مسؤولان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به خاطر ارائه تسهیلات و امکانات لازم برای انجام این تحقیق، و نیز همکاری‌های آقای مهندس حامد یوسف‌زاده، خانم مهندس فریبا بابایی سوستانی و خانم مهندس وحیده محمدی قدردانی می‌شود.

منابع

اسپهبدی، ک.، میرزایی‌ندوشن ح. طبری، م. اکبری‌نیا، م. و دهقان شورکی، ی. (۱۳۸۴) بررسی تنوع ژنتیکی بارانک با ارزیابی مورفولوژی برگ و میوه.، پژوهش و سازندگی ۴۴:۱۹-۵۷.

اسدی، ف.، میرزایی‌ندوشن، ح. مدیر رحمتی، ع. و نادری‌شهاب، م. ع. (۱۳۸۳) استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی در تمایز کلن‌های صنوبر، فصلنامه پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۲(۲): ۲۶۷-۳۰۰.

بابایی، ف.، جلالی، س. غ. و آزادفر، د. (۱۳۸۹) بررسی تنوع ژنتیکی درختان آزاد با استفاده از ایزوآنزیم پراکسیداز برگ در سه رویشگاه جلگه‌ای شمال ایران، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان جنگلی و مرتعی ایران ۱۸(۱): ۸۳-۹۲.

جلیلوند، ح. (۱۳۶۷) بررسی انتشار جغرافیایی و شرایط اکولوژیکی گونه سفیدپلت در جنگل‌های شمال ایران، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

صالحی‌شانجانی، پ. (۱۳۷۵) کشت بافت و بررسی عوامل محیطی بر متابولیسم ثانوی و تغییرات کمی و کیفی پروتئینی، ایزوآنزیمی پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز. پایان‌نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

صالحی‌شانجانی، پ. و ثاقب‌طالبی، خ. (۱۳۸۵) مطالعه تمایز ژنتیکی راشستان‌های خزری (*Fagus orientalis*) از جمعیت‌های راش (*Fagus* spp.) در آسیای صغیر و اروپا. منابع طبیعی ایران ۵۸ (۴): ۷۷۹-۷۹۱.

Archive of SID

www.SID.ir

ضیایی ضیابری، س، ف. (۱۳۷۱) ذخایر ژنتیکی گونه‌های صنوبر در ایران و روش حفاظت از آنها. فصلنامه پژوهش و سازندگی ۱۶: ۲۸-۳۱.

فراهانی، ا. و ارزانی، ا.(۱۳۷۸) بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم دوروم با تجزیه و تحلیل آماری چند متغیره، مجله الکترونیک تولید گیاهی زراعی ۱(۴): ۵۱-۶۴.

کلاگری، م. (۱۳۸۳) بررسی تغییرات اکولوژیکی و ژنتیکی پده در رویشگاه‌های طبیعی ایران. پایان‌نامه دکتری، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران.

کلاگری، م.، جعفری مفیدآبادی، ع. طبری، م. و حسینی، س، م. (۱۳۸۶) بررسی تغییرات ژنتیکی جوامع پده با استفاده از آنزیم پراکسیداز، تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۵(۲): ۱۱۵-۱۲۲.

مروی مهاجر، م. (۱۳۸۴) جنگل‌شناسی و پرورش جنگل. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

Aliyu, O. M. and Awopetu, J. A. (2007) Assessment of genetic diversity in three population of cashew (*Anacardium occidental* L.) using protein– isoenzyme electrophoretic analysis. Genetic Resource Crop Evolution 10:722-73.

Barnes, B. and Han, F. (1993) Phenotypic variation of Chinese aspens and their relationships to similar taxa in Europe and North America. Canadian Journal of Botany 71: 799-815.

Bogdanovic, J., Milosavic, N. Prodanovic, R. Ducic, T. and Radotic, K. (2006) Variability of antioxidant enzyme activity and isoenzyme profile in needles of Serbian spruce (*Picea omorika* Panc.). Biochemical Systematic and Ecology 35: 263-273.

Cogolludo-Agustin, M. A., Agundez, D. and Gil, L. (2000) Identification of native and hybrid elms in Spain using isozyme gene markers. Heredity 85:157-166.

Dunlap, J. M. and Stettler, R. F. (1995) Genetic variation and productivity of *Populus trichocarpa* and its hybrids. X. Trait correlations in young black cottonwood from four river valleys in Washington. Forest Ecology and Management 25: 1710-1725.

Fenster, C. B. and Dudash, M. R. (1994) Genetic considerations for plant population restoration and conservation. Cambridge University Press, Cambridge.

Gepts, P. (1995) Genetic markers and core collections. In: Core collections of plant genetic resources. John Wiley & Sons Press, New York.

Gomory, D., Vysny, J. Comps, B. and Thiebaut, B. (1992) Geographical patterns of genetic differentiation and diversity in European beech (*Fagus sylvatica* L.). Population in France. Biologia 47: 571-579.

Hames, B. D. and Rickwood, D. (1999) Gel electrophoresis of proteins, a practical approach 2nd Ed, Oxford University Press, Oxford.

Hosseini, S. M. (1998) Iranian native conifer forests decline due to snow, wind, drought and diseases. Proceedings of IUFRO conferences: Environmental interaction in forest decline.

Jalili, A. and Jamzad, Z. (2000) Red data book of Iran. Iranian Research Institute of Forest and Rangeland, Tehran.

Jones, D. A. and Wilkins, D. A. (1971) Variation and adaptation in plant species. 1st Ed, Heinemann Educational Books, London.

Archive of SID

www.SID.ir

Korori, S. A. A. (1989) Dissertationsarbeit zur eelangung des dokorgrades and der Universtat fer Badenkult in Wien Enginereicht. Phyton 39: 61-80.

Krishnan, H. B. and Sleper, D. A. (1997) Identification of tall fescue cultivars by sodium dodecyl sulfate polyacryl amide gel electrophoresis of seed proteins. Crop Science 37: 215-219 .

Krstinić, A., Trinajstić, I., Kajba, D., Samardžić, J. (1997) Morphological variability of leaves of Black Poplar (*Populus nigra* L.) in natural stands along the Sava River Crotia. *Populus nigra* Network 71-77.

López-Pujol, J., Orellana, M. Bosch, R. M. Simon, J. and Blanch, C. (2003) Effects of habitat fragmentation on allozyme diversity and conservation status of the Coastal Sand Dune plant *Stachys maritima* (Lamiaceae) in the Iberian Peninsula. Plant biology 5: 504- 512.

Mandal, A. B., Maiti, A. Chowdhury, B. and Elanchezhian, R. (2000) Isozyme markers in varietal identification of Banana. Plant 37:599- 604.

Riggs, L. A. (1990) Conserving genetic resources on-site in forest ecosystems. Forest Ecology and Management 35:45-68.

Rottenberg, A., Nevo, E. and Zhary, D. (2000) Genetic variability in sexually dimorphic and monomorphic population of *Populus euphratica* (Salicaseae). Canadian Journal of Forest Research 30: 482- 486.

Shiji, W., Binghao, C. and Hugun, L. (1996) Euphrates poplar forest. China Environmental Science Press, Beijing.

Sokal, R. R., Grovello, T. J. and Unrasch, R. S. (1986) Geographic variation of vegetative characters of populus deltoids. Systematic and Botany 11:419- 432.

Young, A., Boyle, T. and Brown, T. (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. Trends in Ecology and Evolution 11: 413- 418.

Zarre, S., Khodaei, Z. Karamali, Z. Nikname, V. and Mirmasoumi M. (2007) Isoenzyme variation patterns and species concept in *Astragalus gossypinus* and *Astragalus persicus* complexes (Fabaceae) in Iran. Biochemical Systematices and Ecology 35: 757 -763.

Zarre, S., Rajaiy, N. Ebrahimzadeh, H. Habibi, M. and Nikname, V. (2004) Isoenzyme variation in some populations of a rare endemic species *Astragaluse submitis* (Fabaceae) in Iran. Biochemical Systematics and Ecology 32: 675 - 684.

Archive of SID

www.SID.ir

Determination ecotypes of *Populus caspica* Bornm. in plain communities of Caspian forests using morphological markers of leaf and peroxidase isoenzymes

Hassan Fallah
Department of Forestry, Faculty of Natural Resource, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
Masoud Tabari *
Department of Forestry, Faculty of Natural Resource, Tarbiat Modares University, Noor, Iran
Davoud Azadfar
Department of Forestry, Faculty of Natural Resource, Gorgan, Iran

Archive of SID

Abstract
In order to determine ecotypes of Persian poplar (*Populus caspica*) in plain communities, 40 tree individuals were selected in provinces of Guilan (Roodbar, Astane Ashrafieh) and Mazandaran (Noor, Amol). Samples of two-year branches were taken in similar height and direction of tree crown to assess the quality of peroxidase activity using polyacrilamide gel electrophoresis (PAGE). Also, in numerical taxonomy study of morphology, 13 leaf morphologal traits were measured. Peroxidase banding pattern showed 11 individual bands in two zones of polyacrilamide gel. First zone included 5 polymorphism bands and the second zone represented 6 bands. The results of isoenzyme bands classification and leaf morphological traits showed high isoenzymes and morphological differentiation among populations of these species showing three separated ecotypes including Roodbar, Astaneh Ashrafieh and Noor-Amol. Also, peroxidase band pattern and leaf morphology trait between male and female individuals showed no difference within the population. The results emphasize the used of effective methods of *in situ* and *ex situ* to maintain genetic diversity of this species as an endangered and valuable in Hyrcanian forests.
Key words: Cluster analysis, Ecotype, Peroxidase, *Populus caspica*, Morphological marker

* mtabari@modares.ac.ir

www.SID.ir