تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال سوم، شماره هفتم، تابستان ۱۳۹۰، صفحه ۱۱-۲۲
دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۱۱/۰۹ پذیرش نهایی: ۱۳۹۰/۰۶/۲۰

بررسی تنوع ژنتیکی گونه بلندمازو در جنگل‌های نکا و نور مازندران با استفاده از فعالیت آنزیمی پروکسیداز

شهلا رئیسی، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
سید غلامعلی جلالی، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
کامبیز اسپهبدی *، بخش منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، ساری، ایران

چکیده

برای بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی گونه بلوط بلندمازو (*Quercus castanefolia*) بر اساس فعالیت کمّی و کیفی آنزیم پراکسیداز، از ۵۰ پایه درخت بلندمازو در پنج رویشگاه در جنگل‌های نکا و نور مازندران از ارتفاع ۱۷۰ تا ۱۱۰۰ متر از سطح دریا، نمونه‌های شاخه یک‌ساله برداشت شد. پس از عصاره‌گیری از نمونه‌ها، بررسی کمّی آنزیم پروکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر UV و بررسی کیفی آن با استفاده از روش پلی‌اکریل‌آمید ژل الکتروفورز (PAGE) انجام گردید. بر اساس نتایج بررسی کمّی آنزیم پروکسیداز، بیشترین میزان فعالیت آنزیم به رویشگاه‌های واقع در ارتفاع میان‌بند (لاویج نور و خرم‌چماز نکا) مربوط شد. در بررسی کیفی آنزیم پروکسیداز با توجه به الگوهای باندی، رویشگاه‌های مورد بررسی در سه گروه قرار گرفتند و رویشگاه لایی‌پاسند (واقع در ارتفاعات) از بقیه جدا گردید. آنالیز خوشه‌ای باندهای ایزوآنزیمی ۵۰ پایه بلندمازو را در ۱۰ خوشه قرار داد. بیشترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه‌های میان‌بند و بالابند مشاهده شد. کمترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه‌های میان‌بند و پایین‌بند دیده شد. تغییرات ارتفاعی به خوبی در گروه‌بندی رویشگاه‌ها ایفای نقش کرده است به‌طوری‌که بیشترین فاصله ژنتیکی بین پایه‌های مرتفع‌ترین رویشگاه با پایه‌های کم ارتفاع‌ترین رویشگاه دیده شده است. بررسی تکثر آللی، تعداد آلل مؤثر و هتروزیگوسیتی و مقایسه مقادیر فوق با مطالعات خارجی نشان داد که تنوع آللی و هتروزیگوسیتی در جمعیت بلوط‌های هیرکانی بیشتر از بلوط‌های اروپاست، اما تنوع درون جمعیتی بلوط هیرکانی بیشتر از تنوع برون‌جمعیتی آن است.

واژه‌های کلیدی: بلوط بلندمازو، پروکسیداز، تنوع ژنتیکی، تکثر آللی، هتروزیگوسیتی، فاصله ژنتیکی

مقدمه

جنگل‌ها از مهمترین منابع تجدیدشونده و تأمین‌کننده نیازهای گوناگون انسان هستند، بنابراین اطلاع از روش‌های اصلاح درختان در جهت حفظ و توسعه این سرمایه در حال تخریب، از اهمیت ویژه‌ای

* k_espahbodi@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

برخوردار است. درخت بلندمازو (*Quercus castanefolia* C. A. Mey) مخصوص جنگل‌های خزر بوده و از سایر گونه‌های جنس بلوط فراوان‌تر است، و در ارتفاعات ساحلی پایین‌بند تا ارتفاعات میان‌بند و فوقانی جنگل‌های خزری دیده می‌شود (ثابتی، ۱۳۸۲).

پژوهشگران بسیاری تنوع گونه‌های درختی را با استفاده از آنزیم پراکسیداز بررسی کرده‌اند. الگوهای وراثت‌پذیری پراکسیداز در اکالیپتوس (*Eucalyptus viminalis*) (پرهیزکار و همکاران، ۱۳۸۱)؛ در بارانک (*Sorbus torminalis*) (ایرانمنش و همکاران، ۱۳۸۵)؛ در راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky) (ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۸۶)؛ در نارون‌ها (*Ulmus*) (Feret and Statrs, 1971)؛ در صنوبرها (*Populus tremuloides*) (Mitton and Grant, 1980)؛ و در جمعیت‌های طبیعی از *Pinus oocarpa* (Saenz-Romero and Tapia-Olivares, 2003) بررسی شده است.

بررسی تغییرات ایزوآنزیمی در جنس‌های بلوط نشان داد که تغییرپذیری در گونه‌های بلوط، بالا و مشابه سوزنی‌برگان است (Hamrick *et al.*, 1992). بررسی تغییرات ژنتیکی بلوط چوب‌پنبه (*Q. sobur*) در ۷ جمعیت مدیترانه‌ای آن در اسپانیا با استفاده از ۱۳ جایگاه در ۷ سیستم آنزیمی نیز نشان داد که بلوط چوب‌پنبه دارای مقدار بالایی از هتروزیگوسیتی (H=۰/۲۸) است. همچنین، میانگین تعداد آلل برای هر جایگاه ۲/۴۶ و تنوع درون جمعیتی ۱۶/۹ درصد از تنوع کل برآورد شد (Elena-Rossello and Cabrera, 1996).

در بررسی دیگر ۱۴ جایگاه از ۱۲ سیستم آنزیمی از ۱۸ جمعیت بلوط چوب‌پنبه مطالعه و میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۱۵۸ و میانگین تعداد آلل‌ها ۲/۰۷ محاسبه شد (Jimenez *et al.*, 1999). بنابراین، به دلیل ارزش بالای صنعتی گونه بلندمازو در جنگل‌های هیرکانی، این تحقیق به مطالعه تنوع ژنتیکی آن با استفاده از نشانگر ایزوآنزیمی در پنج رویشگاه طبیعی از جنگل‌های هیرکانی پرداخته است.

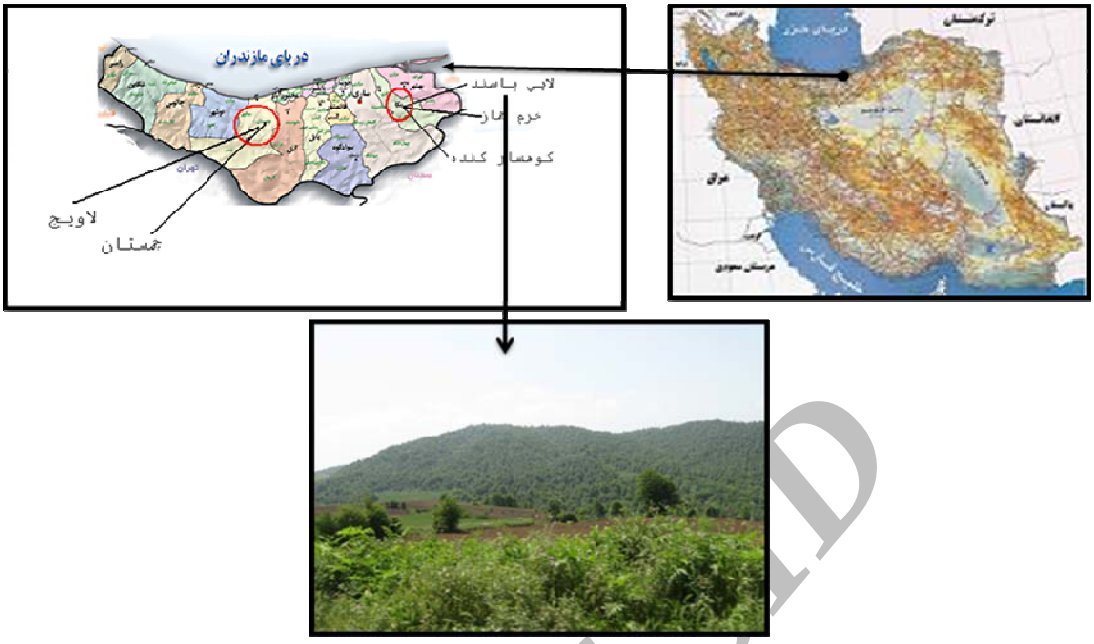
مواد و روش‌ها

سه رویشگاه بلندمازو در جنگل‌های نکا، شامل کوهسار کنده، خرم‌چماز و لایی‌پاسند و دو رویشگاه در جنگل‌های نور شامل لاویج و چمستان در حوزه اداره کل منابع طبیعی مازندران در سه نیمرخ ارتفاعی پایین‌بند، میان‌بند و بالابند شناسایی گردید (شکل ۱ و جدول ۱). در هر رویشگاه ۱۰ پایه سالم درخت بلندمازو، با فاصله تقریبی ۵۰ تا ۱۰۰ متر از همدیگر برای اجتناب از قرابت‌های احتمالی رویشی (Miles *et al.*, 1995) به طور تصادفی انتخاب و علامت‌گذاری شدند. ابتدا با بررسی اندام‌های برگ، شاخه یک‌ساله، شاخه دوساله، شاخه سه‌ساله و بذر، مناسب‌ترین اندام برای ظهور باندهای آنزیمی بررسی گردید که شاخه‌های یک‌ساله انتخاب شدند. سپس در فصل بهار نمونه‌برداری از شاخه یک‌ساله، از قسمت جنوبی تاج هر درخت صورت گرفت. برای حفظ رطوبت، نمونه‌ها درون کیسه نایلونی و در مجاورت یخ قرار داده شده، بلافاصله برای عصاره‌گیری به آزمایشگاه منتقل شدند.

در بعضی از قسمت‌های متن، رویشگاه‌ها با علامت اختصاری بیان شده‌اند که این علایم عبارتند از: چمستان (Ch)، لاویج (L)، کوهسار کنده (K)، خرم‌چماز (Kh) و لایی‌پاسند (Lp).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- موقعیت جمعیت‌های مورد مطالعه (تصویر پایین: جنگل لایی‌پاسند)

جدول ۱- اطلاعات جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

منطقه	جمعیت	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا
شهرستان نور	چمستان	″۴۰ ´۰۴ °۵۳	″۵۲ ´۲۸ °۳۶	۱۲۷ متر
شهرستان نور	لاویج	″۰۵ ´۰۵ °۵۳	″۵۴ ´۲۵ °۳۶	۴۷۰ تا ۵۲۷ متر
شهرستان نکا	کوهسارکنده	″۱۸ ´۱۹ °۵۳	″۵۰ ´۳۵ °۳۶	۱۳۴ تا ۱۶۰ متر
شهرستان نکا	خرم‌چماز	″۱۵ ´۳۱ °۵۳	″۳۰ ´۳۳ °۳۶	۶۰۴ تا ۶۴۹ متر
شهرستان نکا	لایی‌پاسند	″۰۸ ´۳۹ °۵۳	″۳۱ ´۳۱ °۳۶	۱۰۶۹ تا ۱۱۱۵ متر

فعالیت کمّی آنزیم با دستگاه اسپکتوفتومتر بررسی شد و برای تجزیه و تحلیل داده‌های کمّی از آزمون ANOVA، و مقایسات چندگانه دانکن استفاده گردید. فعالیت کیفی پراکسیداز به روش ژل الکتروفورز (PAGE) و تفسیر زیموگرام‌های ترسیمی انجام گردید. بررسی همزمان فعالیت کمّی و کیفی نشانگر توسط تجزیه و تحلیل خوشه‌ای و به روش Ward's و با استفاده از نرم‌افزار JMP انجام و نتایج حاصل به صورت دندروگرام ترسیم شد. برای بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز از نرم‌افزار GenAlEx-Genetic Analysis in Excel نسخه ۶/۴ (Peakall and Smous, 2006) استفاده شد. شاخص‌های، تعداد آلل در جایگاه ژنی (Na)، تعداد مؤثر آلل (Ne)، انديکس شانون (I)، هتروزیگوتی مشاهده شده (Ho) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) محاسبه گردید. مقادیر آماری F ارایه شده توسط (Wright, 1931 and 1951) با استفاده از مقدار هتروزیگوسیتی، سه سطح لقاح درون گروهی، شاخص ثبات درون گروهی (Fis)، شاخص ثبات بین گروهی (Fit) و شاخص ثبات کل گروهی (Fst) محاسبه شد و مقادیر فوق برای بررسی هرگونه انحراف از معادله هاردی- وینبرگ در جمعیت و تمایز ژنتیکی بین پنج جمعیت مورد بررسی به‌کار می‌روند.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج

نتایج بررسی فعالیت کمّی پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس فعالیت کمّی آنزیم پراکسیداز نشان داد که رویشگاه‌های مورد بررسی در ۱۰ ثانیه اول، هیچ اختلافی با هم ندارند، ولی در ۶۰ ثانیه و ۱۲۰ ثانیه با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان دادند (جدول ۲)؛ به‌طوری‌که در هر دو زمان رویشگاه لاویج دارای بیشترین میانگین و چمستان و لایی‌پاسند کمترین میانگین را دارا بودند (جدول ۳). بررسی تنوع بین پایه‌های هر جمعیت از نظر فعالیت کمّی آنزیم پروکسیداز نشان داد که در رویشگاه‌های لاویج نور و نیز خرم‌چماز نکا پایه‌های موجود رویشگاه، در گروه‌های بیشتری نسبت به سایر رویشگاه‌ها گروه‌بندی شده‌اند (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس تفاوت بین رویشگاه‌ها در فعالیت کمّی آنزیم پروکسیداز

منابع تغییر	بین رویشگاه‌ها	داخل رویشگاه‌ها	F
فعالیت در ۶۰ ثانیه	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	^{ns}۱/۴۳
فعالیت در ۱۲۰ ثانیه	۰/۱۱۳	۰/۰۱۵	**۷/۴۳
میانگین فعالیت در ۶۰ ثانیه	۰/۰۳۵	۰/۰۰۴	**۸/۴۶

**: اختلاف در سطح P<0.01 معنی‌دار شد. ns: اختلاف تیمارها معنی‌دار نشد.

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار بررسی کمّی پراکسیداز در رویشگاه‌های مورد مطالعه

رویشگاه	میانگین ۶۰ ثانیه	۱۲۰ ثانیه	۶۰ ثانیه
چمستان	۰/۰۵۲ ±۰/۰۰۸^{c}	۰/۰۷۷ ±۰/۰۱۴^{c}	۰/۰۲۷± ۰/۰۱۴^{a}
لاویج	۰/۱۹ ±۰/۰۲۹^{a}	۰/۳۳ ±۰/۰۵۸^{a}	۰/۰۴۹ ±۰/۰۱۴^{a}
کوهسارکنده	۰/۱۳۹ ±۰/۰۲۹^{ab}	۰/۲۱ ±۰/۰۵۲^{b}	۰/۰۵۵ ±۰/۰۱۷^{a}
خرم‌چماز	۰/۱۱ ±۰/۰۱۷^{bc}	۰/۱۸ ±۰/۰۳۶^{bc}	۰/۰۳۴ ±۰/۰۰۶^{a}
لایی‌پاسند	۰/۰۴۹ ±۰/۰۰۶^{c}	۰/۰۷۹ ±۰/۰۱۱^{c}	۰/۰۱۹ ±۰/۰۰۷^{a}

حروف نامشابه نشانه اختلاف معنی‌دار رویشگاه‌ها در سطح P<0.05 است.

جدول ۴- تعداد گروه‌بندی در رویشگاه‌های مختلف بر اساس فعالیت کمّی آنزیم پروکسیداز

رویشگاه	تعداد خوشه در فاصله ۵	تعداد خوشه در فاصله ۱۰
چمسان نور	۳	۲
لاویج نور	۴	۳
کوهسارکنده نکا	۳	۲
خرم‌چماز نکا	۴	۳
لای‌پاسند نکا	۳	۲

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج بررسی فعالیت کیفی پراکسیداز

در بررسی فعالیت کیفی پراکسیداز در نمونه‌های شاخه یک‌ساله، مجموعاً هفت باند ۱۵، ۱۷، ۱۹، ۳۹، ۴۱، ۴۲ و ۴۵ مشاهده شد. سه باند ۱۵، ۱۷ و ۱۹ در بخش مولکول‌های سنگین (در یک سوم شروع حرکت عصاره، یعنی در ۳۳٪ طول ژل) و باندهای ۳۹، ۴۱، ۴۲ و ۴۵ در منطقه مولکول‌های متوسط (در یک سوم میانی طول حرکت عصاره برروی ژل بین ۳۳ تا ۶۶٪ فاصله شروع حرکت عصاره بر روی ژل) قرار داشتند. در ناحیه مولکول‌های سبک هیچ باندی دیده نشد.

باند شماره ۱۵ فراوانی ۱۰۰ درصد را نشان داد و در هر ۵۰ پایه مورد بررسی دیده شد. باند شماره ۱۷، دارای فراوانی ۵۲ درصد است؛ یعنی پایه‌های ۱ تا ۱۰ چمستان، پایه‌های ۱، ۲، ۳، ۵، ۶ و ۷ لاویج، پایه‌های ۷، ۸ و ۹ کوهسارکنده و پایه‌های ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۹ و ۱۰ لایی‌پاسند را شامل می‌شود. باند شماره ۱۹ دارای فراوانی ۲۶ درصد بوده، ۱۳ تا از پایه‌های درختی را شامل می‌شود. که پایه‌های ۱ تا ۱۰ خرم‌چماز، پایه ۱ کوهسارکنده و پایه ۸ و ۱۰ لاویج را در بر می‌گیرد.

باند شماره ۳۹ که فقط در ۱۰ تا از پایه‌ها مشاهده گردید، فراوانی ۲۰ درصد را نشان داد، که در پایه‌های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ لایی‌پاسند، پایه‌های ۶، ۷، ۸ و ۹ کوهسارکنده و پایه ۶ چمستان دیده شد. باند ۴۱ فقط با ۲ درصد فراوانی، در پایه ۱۰ لاویج دیده شد. باند ۴۲ با داشتن ۲۶ درصد فراوانی در پایه‌های ۳ و ۵ لایی‌پاسند پایه‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۶ و ۷ لاویج و پایه‌های ۱، ۶، ۹ و ۱۰ چمستان مشاهده گردید. باند ۴۵ با ۱۴ درصد فراوانی در پایه‌های ۲، ۳ و ۴ کوهسارکنده، ۱، ۲ و ۳ خرم‌چماز و پایه ۸ لاویج دیده شد (شکل‌های ۲ تا ۵).

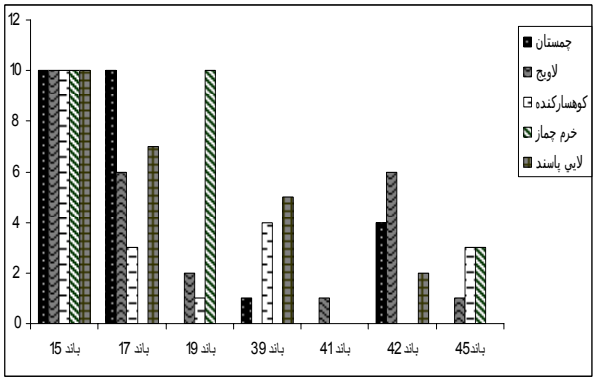
نتایج گروه‌بندی باندهای آنزیمی جوامع بلوط با استفاده از آنالیز خوشه‌ای

نتایج حاصل از گروه‌بندی درختان در مناطق مختلف به صورت دندروگرام مشخص گردید و درختان هر منطقه پس از تعیین خط برش و بر اساس شباهت‌های ژنتیکی به خوشه‌ها یا کلاسترها تقسیم شدند. نتایج گروه‌بندی باندهای آنزیمی با نرم‌افزار JMP، ۱۰ خوشه را نشان داد؛ به این ترتیب که: پایه‌های ۱، ۳، ۴، ۵، ۹ و ۱۰ چمستان به همراه پایه ۳ و ۵ لایی‌پاسند و ۲ و ۳ لاویج در خوشه اول قرار گرفتند. پایه‌های ۲، ۷، ۸ چمستان ۹ و ۷ لایی‌پاسند در خوشه دوم، پایه‌های ۲، ۳ و ۴ کوهسارکنده در خوشه سوم، پایه ۸ لاویج و ۲، ۳ و ۴ خرم‌چماز در گروه چهارم، و پایه‌های ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰خرم‌چماز به همراه پایه‌های ۱ کوهسارکنده و ۱ لایی‌پاسند در خوشه پنجم قرار گرفتند. پایه‌های ۱، ۴، ۶ و ۷ لاویج و ۱۰ کوهسارکنده در خوشه ششم، پایه‌های ۵ و ۹ لاویج به همراه ۵ و ۶ کوهسارکنده در خوشه هفتم، و پایه ۶ و ۴ لایی‌پاسند، ۳ و ۴ کوهسارکنده و ۶ چمستان در خوشه هشتم قرار گرفتند. در خوشه نهم پایه‌های ۱، ۲ و ۸، لایی‌پاسند و در خوشه دهم (آخر) پایه ۱۰ لاویج و ۷ کوهسارکنده قرار گرفتند (شکل ۶).

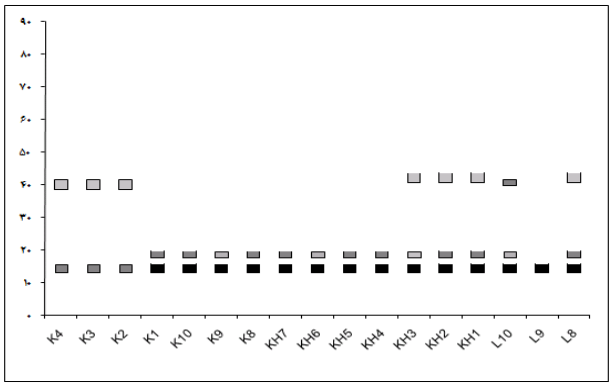
نتایج گروه‌بندی فعالیت آنزیم در بین رویشگاه‌ها نشان می‌دهد که رویشگاه‌ها در سه گروه قرار دارند: در گروه اول رویشگاه‌های چمستان، لاویج و خرم‌چماز؛ در گروه دوم رویشگاه کوهسارکنده و در گروه سوم رویشگاه لایی‌پاسند مشاهده می‌شوند (شکل ۷).

Archive of SID

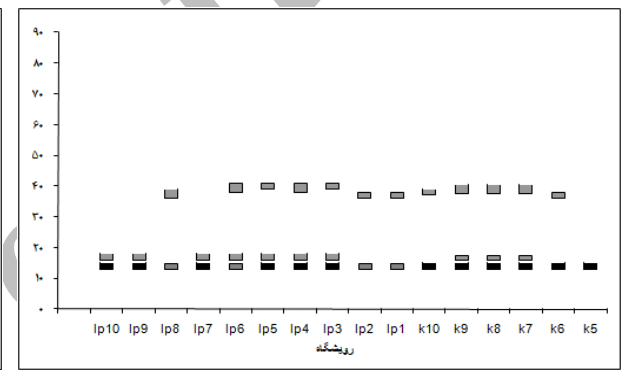
www.SID.ir



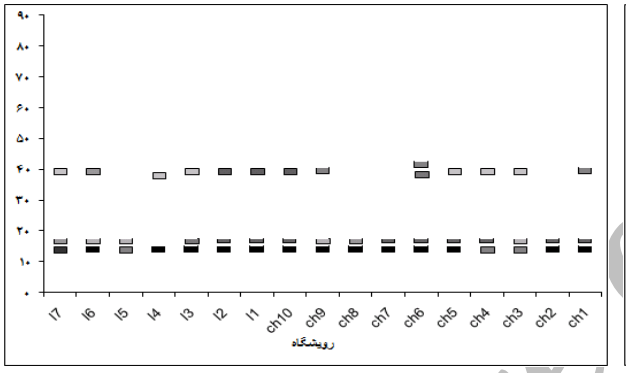
شکل ۲- فراوانی تعداد باندها در رویشگاه‌های مورد بررسی



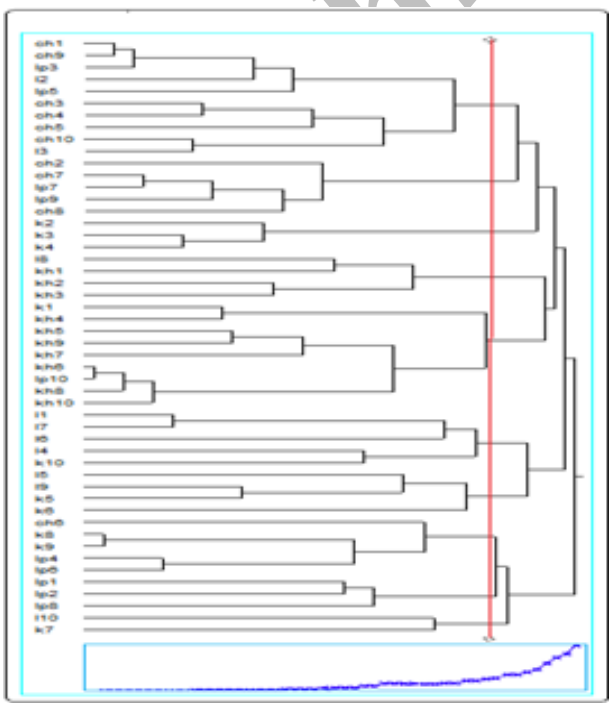
شکل ۳- زیموگرام ژل الکتروفورز مربوط به پراکسیداز شاخه پایه‌های ۱ تا ۴ کوهسارکنده (K1 تا K4)، پایه‌های ۱ تا ۱۰ خرم‌چماز (KH1 تا KH10) و پایه‌های ۸، ۹ و ۱۰ لاویج (L8، L9 و L10)



شکل ۴- زیموگرام ژل الکتروفورز مربوط به پراکسیداز شاخه پایه‌های ۵ تا ۱۰ کوهسارکنده (k5 تا k10) و پایه‌های ۱ تا ۱۰ لایی‌پاسند (lp1 تا lp10)

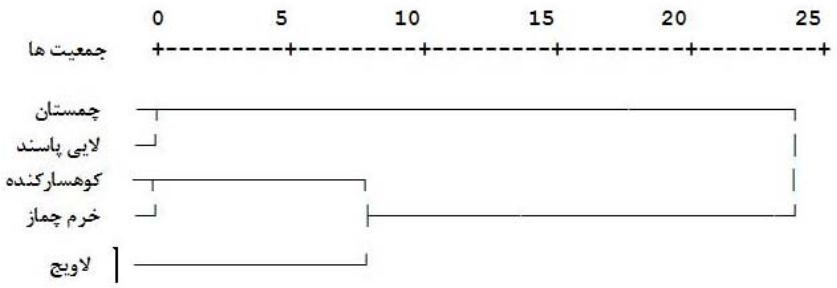


شکل ۵- ژل الکتروفورز مربوط به پراکسیداز شاخه پایه‌های ۳ تا ۷ لاویج (l3 تا l7) و پایه‌های ۱ تا ۱۰ چمستان (ch1 تا ch10)



شکل ۶- دندوگرام حاصل از آنالیز خوشه‌ای فعالیت آنزیمی درختان بلندمازو در مناطق مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار JMP و به روش Ward's

www.SID.ir



شکل ۷- دندوگرام حاصل از آنالیز خوشه‌ای فعالیت آنزیم در بین رویشگاه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS

نتایج تجزیه و تحلیل ژنتیکی بر اساس باندهای ایزوآنزیمی

مشاهده باندها بر روی ژل نشان داد که دو ناحیه باند بر روی ژل نمایان هستند که دارای فعالیت کافی هستند. ویژگی های ژنتیکی در پنج رویشگاه بلندمازو نشان داد که میانگین شاخص‌های اصلی، مقادیر تعداد آلل (Na)، تعداد آلل‌های مؤثر (Ne)، انديکس شانون (I)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) به ترتیب برابر با ۴، ۳/۳۸، ۱/۲۷، ۰/۸و ۰/۷۰ است (جدول ۴).

تعداد مؤثر آلل که مقیاسی برای محاسبه تنوع ژنتیکی در میان جمعیت‌هاست، از ۲/۹۸ در رویشگاه خرم‌چماز تا ۳/۸۴ در رویشگاه لایی‌پاسند متغیر است.

هتروزیگوسیتی مشاهده شده بین ۱ تا ۰/۶ است و در رویشگاه‌های چمستان، خرم‌چماز و لایی‌پاسند بیشتر از حد هتروزیگوسیتی مورد انتظار، و در دو رویشگاه لاویج و کوهسارکنده، میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده، اندکی کمتر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار مشاهده شد (جدول ۵).

مقادیر آماری F نشان داد اکثر رویشگاه‌های بلندمازو در تعادل بوده، دو جمعیت نقص جزئی در هتروزیگوت دارند (جدول ۵). نتایج نشان داد اگرچه مقادیر F نشان‌دهنده نقص جزئی هتروزیگوت‌هاست، ولی تعداد رویشگاه‌هایی که زیادی هتروزیگوت (با مقادیر منفی F) نشان می‌دهند، بیشتر از تعداد رویشگاه‌هایی با نقص هموزیگوت (با مقادیر مثبت F) است. عموماً مقدار مثبت Fis (شاخص ثبات درون‌جمعیتی) و Fit (شاخص ثبات بین جمعیتی) نشان‌دهنده انحراف جزئی از معادله هاردی- وینبرگ به طرف افزایش هموزیگوت‌هاست. مقدار Fis و Fit برای پنج رویشگاه بلندمازو به ترتیب ۰/۱۴- و ۰/۰۳۵- محاسبه شد (جدول ۵). Fis انحراف از توزیع تصادفی ژنوتیپی را اندازه‌گیری کرده، ارتباط بین آلل‌های مشابه درون جمعیت‌ها را نشان می‌دهد. به عبارت دیگر، مقیاسی برای مقایسه لقاح درون گروهی (Inbreeding) است. Fis منفی نشان از کمبود هموزیگوت‌ها در جمعیت‌هاست.

مقدار Fst (شاخص ثبات کل جمعیتی) بیان‌کنندهٔ چگونگی شرکت تک تک جایگاه‌های ژنی در تمایز ژنتیکی است و بین ۰ تا ۱ است. مقادیر به سمت یک نشان‌دهندهٔ میزان تمایز جمعیت‌ها از یکدیگر است. مقادیر کم Fst نشان‌دهنده درجه پایین پلی‌مورفیسم است. مقدار Fst برای پنج رویشگاه بلندمازو ۰/۰۹۲ محاسبه شد (جدول ۶).

Archive of SID

www.SID.ir

شارش ژنی بین جمعیت‌ها و درون جمعیت‌ها یک نیروی تکاملی به شمار می‌رود که ساختار و تنوع ژنتیکی را در مکان و زمان تعیین می‌کند. شارش ژنی معمولاً با انتقال بذر و گرده اتفاق می‌افتد. شارش ژنی در گونه‌هایی که توسط باد گرده‌افشانی می‌شوند، تا مسافت‌های بیشتری انتقال می‌یابد و تفاوت ژنتیکی بین جمعیتی را کم می‌کند (Govindaraju, 1989). مقدار شارش ژنی برای گونه بلندمازو ۲/۴۷ محاسبه شد.

مقدار شباهت و فاصله ژنتیکی برای پنج رویشگاه بلندمازو به روش Nei (۱۹۷۸) محاسبه گردید. مشاهد شد که مقدار شباهت ژنتیکی Nei دامنه‌ای بین ۰/۴۶ تا ۰/۹۴ داشته است و دو رویشگاه خرم‌چماز و لاویج بیشترین شباهت را نشان دادند (جدول ۷). فاصله ژنتیکی بین ۰/۰۵ و ۰/۷۵ است که بیشترین اختلاف ژنتیکی بین دو جمعیت لایی‌پاسند و لاویج مشاهده گردید (جدول ۸).

جدول ۵- مقایسه شاخص‌های ژنتیکی آنزیم پراکسیداز در پنج رویشگاه بلوط بلندمازو

رویشگاه	N	Na	Ne	I	Ho	He	F
چمستان	۱۰	۵	۳/۱۲۵	۱/۳۰۵	۱	۰/۶۸	-۰/۴۷
لاویج	۱۰	۴	۳/۳۹	۱/۲۸۷	۰/۷۰	۰/۷۰۵	۰/۰۰۷
کوهسارکنده	۱۰	۴	۳/۵۷۱	۱/۳۱۴	۰/۶	۰/۷۲	۰/۱۶۷
خرم‌چماز	۱۰	۳	۲/۹۸۵	۱/۰۹۶	۰/۷	۰/۶۶۵	-۰/۰۵
لایی‌پاسند	۱۰	۴	۳/۸۴۶	۱/۳۶۶	۱	۰/۷۴۰	-۰/۰۳۵
میانگین	۱۰	۴	۳/۳۸۳	۱/۲۷۴	۰/۸	۰/۷۰۲	-۰/۱۴
اشتباه معیار	۰	۰/۳۱۶	۰/۱۵۴	۰/۰۴۶	۰/۰۸۴	۰/۰۱۳	۰/۱۱۸

جدول ۶- مقدار شاخص ثبوت (F) برای پنج رویشگاه بلندمازو

جایگاه ژنی	Fis	Fit	Fst	Nm
آنزیم پراکسیداز	-۰/۱۴۰	-۰/۰۳۵	۰/۰۹۲	۲/۴۷

جدول ۷- ماتریکس Nei (۱۹۷۸) شباهت ژنتیکی در بین پنج رویشگاه بلندمازو

	چمستان	لاویج	کوهسارکنده	خرم‌چماز	لایی‌پاسند
چمستان	۱				
لاویج	۰/۴۶	۱			
کوهسارکنده	۰/۹۱	۰/۶۰	۱		
خرم‌چماز	۰/۵۷	۰/۹۴	۰/۶۳	۱	
لایی‌پاسند	۰/۸۱	۰/۴۶	۰/۸۸	۰/۵۵	۱

جدول ۸- ماتریکس Nei (۱۹۷۸) فاصله ژنتیکی در بین پنج رویشگاه بلندمازو

	چمستان	لاویج	کوهسارکنده	خرم‌چماز	لایی‌پاسند
چمستان	۱				
لاویج	۰/۴۶	۱			
کوهسارکنده	۰/۰۸	۰/۴۹	۱		
خرم‌چماز	۰/۵۵	۰/۰۵	۰/۴۵	۱	
لایی‌پاسند	۰/۲۰	۰/۷۵	۰/۱۱	۰/۵۸	۱

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

در بررسی زیموگرام باندهای ایزوآنزیمی، تنها دو ناحیه مولکول‌های سنگین و متوسط، مشاهده گردید و در ناحیه مولکول‌های سبک باندی دیده نشد (شکل‌های ۳ تا ۵). این امر احتمالاً به دو علت است: اولاً ممکن است رویشگاه‌های بررسی شده در ناحیه مولکول‌های سبک باندی نداشته باشند که این موضوع در بررسی صالحی شانجانی (۱۳۸۰) روی سرخدار، در دو رویشگاه گلستان و ارسباران نیز گزارش گردید. وی مشاهده کرد که در کلیه نمونه‌ها، باندهای ایزوآنزیمی کُند رونده، یا اصلاً وجود ندارد و یا فعالیت ناچیزی دارند؛ دوم ممکن است به دلیل فصل نمونه‌برداری باشد. در فصل بهار به علت گرمای هوا، فعالیت آنزیم پروکسیداز کم شده، لذا احتمال دارد در ناحیه مولکول‌های سبک (کُند رونده) باندی ایجاد نشده باشد. تأثیر فصل نمونه‌برداری در ظهور باندهای آنزیمی گونه درختی بارانک از سوی ایرانمنش و همکاران (۱۳۸۰) گزارش گردید. به هر حال، بررسی فعالیت آنزیمی در فصول مختلف سال برای بلندمازو ضروری به نظر می‌رسد.

بررسی فعالیت کیفی پراکسیداز باند شماره ۱۵ با فراوانی ۱۰۰ درصد در تمام پایه های مورد بررسی هر پنج رویشگاه دیده شد. بنابراین، این باند می‌تواند به عنوان باند پایه بررسی آنزیمی بلندمازو معرفی شود. در میان رویشگاه‌های مورد بررسی رویشگاه لاویج ۶ باند، کوهسارکنده ۵ باند، رویشگاه‌های چمستان و لایی‌پاسند ۴ باند و رویشگاه خرم‌چماز ۳ باند نشان دادند. رویشگاه چمستان باند ۱۵ و ۱۷ و در رویشگاه خرم‌چماز باند ۱۵ و ۱۹ در هر ۱۰ پایه مشاهده شد. در رویشگاه لاویج باند ۱۹ تنها در پایه‌های ۸ و ۱۰، باند ۴۱ تنها در پایه شماره ۱۰ و باند ۴۵ در پایه ۸ مشاهده گردید و بقیه پایه‌ها فقط ۳ باند (۱۵، ۱۷ و ۴۲) را نشان دادند. در رویشگاه چمستان باند ۳۹ فقط در پایه ۶ و در رویشگاه کوهسارکنده باند ۱۹ تنها در پایه ۱ دیده شد (شکل ۲). حضور و عدم حضور این باندها با فراوانی‌های متفاوت، باعث به وجودآمدن تنوع در میان و درون رویشگاه‌های مورد بررسی شده است. به نظر می‌آید پایه‌های ۸ و ۱۰ لاویج و ۶ چمستان و ۱ کوهسارکنده دارای تنوع متفاوتی نسبت به سایر پایه‌ها در رویشگاه‌های خود هستند.

نتایج آنالیز خوشه‌ای باندهای ایزوآنزیمی جوامع بلندمازو ۱۰ خوشه را نشان داد (شکل ۶) که کمترین فاصله ژنتیکی بین پایه ۶ خرم‌چماز و ۱۰ لایی‌پاسند و ۹ و ۸ کوهسارکنده بود و بیشترین فاصله ژنتیکی بین پایه ۱ و ۶ چمستان و ۱ لاویج و ۱ چمستان دیده شد و این امر احتمالاً به علت اختلاف ارتفاعی بین دو رویشگاه رخ داده است.

بررسی تنوع ژنتیکی ۴۱ پایه بارانک از دو رویشگاه در جنگل‌های فریم توسط ایران منش در سال ۱۳۸۰، بررسی تنوع ژنتیکی گونه راش (*Fagus orientalis*) (صالحی شانجانی و همکاران، ۱۳۸۲) و بررسی تنوع ژنتیکی گونه پده (*Populus euphratica* Oliv.) (کلاگری و همکاران ۱۳۸۶)، از طریق آنزیم پراکسیداز نیز تفاوت‌های موجود بین پایه‌های مورد بررسی را ناشی از وجود تنوع در شرایط آب و هوایی و اکولوژیک حاکم بر مناطق مورد بررسی عنوان کرده‌اند. اگرچه در مجموع فعالیت آنزیم پروکسیداز در رویشگاه‌ها متفاوت بود و ممکن است این تفاوت به شرایط محیطی و یا گرمی هوا مربوط باشد. اما در هر یک از رویشگاه‌ها بین پایه ها نیز اختلاف وجود داشت

Archive of SID

www.SID.ir

و چون در یک رویشگاه شرایط اقلیمی مشابه است، بنابراین، این گوناگونی ممکن است به علت اختلاف ژنتیکی باشد.

تکثر آللی (Na)، تعداد آلل مؤثر (Ne)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) و هتروزیگوتی مورد انتظار از معاله هاردی- وینبرگ (H_e) به ترتیب ۴، ۳/۳۸، ۰/۸ و ۰/۷۰ بود (جدول ۴). مقایسه مقادیر فوق با مطالعات Rossello-Elena و Cabrera (۱۹۹۶) و Jimenez و همکاران (۱۹۹۹) نشان می‌دهد که تنوع آللی و هتروزیگوسیتی در جمعیت بلوط‌های هیرکانی بیشتر از بلوط‌های اروپاست و این امر را می‌توان به قدمت جنگل‌های هیرکانی نسبت به جنگل‌های اروپا نسبت داد که باعث افزایش تنوع ژنتیکی جنگل‌های هیرکانی شده است (مروی مهاجر، ۱۳۸۴).

بررسی مقادیر هتروزیگوسیتی نشان داد که هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_o) در سه رویشگاه چمستان، خرم‌چماز و لایی‌پاسند بیشتر و در دو رویشگاه لاویج و کوهسارکنده کمتر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار بوده است (جدول ۴). میزان هتروزیگوسیتی بین ۰ تا ۱ متغیر بوده، هرگاه میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بزرگتر باشد بدان معناست که یک جدایی ژنتیکی در درون جمعیت در حال رخ دادن است. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تنوع در سه رویشگاه چمستان، خرم‌چماز و لایی‌پاسند قابل توجه است؛ اگرچه در جنگل‌های هیرکانی با افزایش ارتفاع، بلوط اوری (*Q. macrocarpa*) جایگزین بلوط بلندمازو می‌گردد (مروی مهاجر، ۱۳۸۴). رویشگاه لایی‌پاسند در ارتفاعی (۱۱۰۰ متر) واقع شده است که بلوط اوری در حال آشکار شدن است. به همین دلیل، وجود دورگه‌هایی از اوری و بلندمازو دور از انتظار نیست. اما علاوه بر شرایط خاص اقلیمی منطقه لایی‌پاسند (سرمای زیاد، دوره رویش کمتر و رطوبت کمتر نسبت به سایر رویشگاه‌ها)، این رویشگاه تا کیلومترها توسط روستاهای منطقه احاطه شده است. با توجه سنگینی بذر، این موضوع نیز می‌تواند سبب جدایی رویشگاه لایی‌پاسند از سایر رویشگاه‌ها شده باشد.

مقدار شارش ژنی در رویشگاه‌های مورد بررسی ۲/۴۷ محاسبه شد. این جریان ژن در میان جمعیت برای جلوگیری از تمایزهای محلی به علت رانش ژنتیکی به اندازه کافی بالا است (Wright, 1951). مقدار شارش ژنی در صورتی که بیشتر از یک باشد به این معناست که شارش ژنی کافی برای از بین بردن جدایی ژنتیکی بین گونه‌ها وجود دارد و هر گاه مقدار آن از ۴ بیشتر گردد جمعیت‌ها به یک جمعیت مشابه تبدیل می‌شوند (Wright, 1931). مقدار شارش ژنی به دست آمده برای گونه بلندمازو (Nm=۲/۴۷) کمتر از شارش ژنی گزارش شده برای گونه بلوط چوب‌پنبه (Nm=۲/۵۷) (Elena-Rossello and Cabrera, 1996)، و بیشتر از شارش ژنی بین جمعیت‌های از *Q. Rubrra* (Kremer *et al.*, 1991) است. به هرحال، ویژگی‌های حیات گذشته گونه و تاریخچه تکاملی آن به صورت معنی‌داری بر مقدار شارش ژنی مؤثر است.

مقادیر تمایز ژنتیکی (Fis و Fit) نشان داد که تنوع درون جمعیتی بیشتر از تنوع برون جمعیتی است؛ در حالی‌که با توجه به سنگینی بذر بلوط و شعاع کم پراکنش طبیعی آن، انتظار می‌رفت تنوع درون جمعیتی بلندمازو از تنوع برون جمعیتی آن کمتر باشد. سطوح تنوع ژنتیکی می‌تواند از برخی ویژگی‌های گونه، مانند چگونگی انتشار گرده و بذر، سیستم تولید مثلی و گستره جغرافیایی متأثر باشد (Hamrick and Godt,

Archive of SID

www.SID.ir

(1986). بنابراین، در بلوط بلندمازو که گونه‌ای باد گرده‌افشان است، سیستم گرده افشانی ممکن است نقش بارزتری در کاهش تنوع‌های بین گروهی داشته باشد.

کمترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه‌های لاویج و خرم‌چماز (۰/۹۴) و چمستان و کوهسارکنده (۰/۹۱) دیده شد (جدول ۷). دو رویشگاه لاویج و خرم‌چماز در ارتفاع ۵۰۰ متر و چمستان و کوهسارکنده در ارتفاع ۱۰۰ متر از سطح دریا قرار گرفته‌اند و احتمالاً شرایط آب و هوایی مشابه باعث شده که این دو رویشگاه بیشترین شباهت را با هم داشته باشند و طول جغرافیایی نتوانسته تأثیری بر تنوع ژنتیکی این رویشگاه‌ها داشته باشد. همچنین، بیشترین اختلاف ژنتیکی بین رویشگاه‌های لاویج و لایی‌پاسند (۰/۷۵) و خرم‌چماز و لایی‌پاسند (۰/۵۸) مشاهده شد (جدول ۸). رویشگاه لایی‌پاسند در ارتفاع ۱۱۰۰ متری از سطح دریا واقع بوده که احتمالاً اختلافات ارتفاعی موجب اختلاف ژنتیکی بین این دو رویشگاه شده است.

در جمع‌بندی نتایج این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت در قیاس با تنوع درون جمعیتی، تنوع بین جمعیتی بلوط تا اندازه‌ای نیست که رویشگاه‌های آن از هم تفکیک شوند. با این حال، تغییرات ارتفاعی به خوبی در گروه‌بندی رویشگاه‌ها ایفای نقش کرده است؛ طوری که بیشترین فاصله ژنتیکی بین پایه‌های مرتفع‌ترین رویشگاه با پایه‌های کم ارتفاع‌ترین رویشگاه دیده شده است. از این رو، بهتر است برای حفظ تنوع ژنتیکی، تا حد امکان بذر رویشگاه‌های مرتفع نیز جمع‌آوری و نهال‌های تولیدی آن جنگل‌کاری شوند.

منابع

ایرانمنش، ی. (۱۳۸۰) استفاده از مطالعات آنزیمی به منظور جداسازی اکوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌های بارانک در منطقه جنگلی فریم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه مازندران، بابلسر.

ایرانمنش، ی.، علی احمدکروری، س.، عمادیان، س.، آزادفر، د. و اسپهبدی، ک. (۱۳۸۵) بررسی نقش مطالعات آنزیمی در جداسازی اکوتیپ‌های گونه بارانک. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۴(۴ (۲۶)): ۲۹۲- ۳۰۵.

پرهیزکار، پ.، علی احمدکروری، س.، مراقبی، ف. و عادلی پیش بیجاری، ا. (۱۳۸۱) آنزیم پراکسیداز، آنزیمی جهت یافتن پایه‌های مقاوم. پژوهش و سازندگی ۱۵(۳-۴) (پی‌آیند ۵۶-۵۷) (در منابع طبیعی): ۴۴-۴۷.

ثابتی، ح. (۱۳۸۲) درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات دانشگاه یزد، یزد.

ذوالفقاری، ر.، علی احمدکروری، س. و اعتماد، و. (۱۳۸۶) استفاده از آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز برای شناسایی پایه‌های مقاوم به سرما در گونه راش ایرانی (*Fagus orientalis* Lipsky). منابع طبیعی ایران ۶۰(۱): ۶۷-۷۶.

صالحی شانجانی، پ. (۱۳۸۰) بررسی کمّی و کیفی فعالیت آنزیم پراکسید از سرخدار جنگل‌های استان گلستان و ارسباران. مجله منابع طبیعی ایران ۱۰(۱-۲) ۳۱-۳۹.

صالحی شانجانی، پ.، پائوله، ل. و گومری، د. (۱۳۸۲) تنوّع و تمایز ژنتیکی جنگل‌های راش ایران. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران ۱۱(۱): ۳۵-۹۴.

Archive of SID

www.SID.ir

قمری زارع، ع.، حیدری شریف‌آبادی، ح.، جبلی، م. و فتحی‌پور، م. (۱۳۸۲) اثر سرما بر مقدار آنزیم پراکسیداز در ۹ ژنوتیپ یونجه یک‌ساله (*Medicago* spp.) تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران ۱۱(۱): ۲۷-۳۸.

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. ر. (۱۳۸۴) جنگل‌شناسی و پرورش جنگل. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

Elena-Rossello, J. A. and Cabrera, E. (1996) Isozyme variation in natural populations of Cork-Oak (*Quercus suber* L.). Silvae Genetica 45(4): 229-235.

Feret, P. P. and Statrs, G. R. (1971) Peroxides inheritance in Siberian elm. Forest Science 17: 472-475.

Govindaraju, D. R. (1989) Estimates of gene flow in forest trees. Biological Journal of the Linnean Society 37: 345-357.

Hamrick, J. L. and Godt. M. J. (1986) Allozyme diversity in plant species. In*:* Populations genetics and germplasm resources in crop improvement (eds. Brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. and Wier, B. S.) 44-64.

Hamrick, J. L., Godt. M. J. and Sherman-Broyles, S. L. (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forests 6:95-124.

Jimenez, P., Agundez, D., Alla, R. and Gil, L. (1999) Genetic Variation in Central and Marginal Populations of *Quercus suber* L.. Silvae Genetica 48: 278-284.

Kremer, A., Petit, R. J., Zanetto, A., Fougere, V., Ducousso, A., Wagner, D. and Chauvin, C. (1991) Nuclear and organelle gene diversity in *Quercus robur* and *Quercus petraea*. In: Genetic variation in European populations of forest trees. (eds. Müller-Starck, G. and Ziehe, M.) Sauerländer's. Verlag, Frankfurt am Main.

Miles, L. M., Jeanne, A .M. and Robert, D. W. (1995) Provenance and progeny variation in growth and frost tolerance of *Casuarina Cunninghmiana* in California, USA. Forest Ecology and Management 79:161-171.

Mitton, J. B. and Grant, C. (1980) Observations on the ecology and evolution of quaking aspen *Populus tremuloide*s in the Colorado Front range. American Journal of Botany 67(2):202-209.

Saenz-Romero, C. and Tapia-Olivares, B. L. (2003) *Pinus oocarpa* isoenzymatic variation along an altitudinal gradient in Michoacán, México. Silvae Genetica 52(5-6): 237-240.

Wright, S. (1931) Evolution in Mendelian populations. Genetics 16: 97-159.

Wright, S. (1951) The genetically structure of populations. Annals of Eugenics 15: 323-354.

Archive of SID

www.SID.ir

An investigation of genetic variation of (*Quercus. castaneafolia* C. A. Mey) in Neka and Noor forest of Mazandarn using peroxides activities.

Shahla Reisi [1], Seyed Gholamali Jalali [1] and Kambiz Espahbodi [2]*

[1] Department of Forestry, Faculty of Natural Resource, Trabiat Modares University, Noor, Iran
[2] Agricultural and Natural Resources Research Center of Mazandaran, Sari, Iran

Archive of SID

Abstract

In order to determine the within and between genetic variation of Caspian oak (Quercus. castanefolia) populations, Based on quantitative and qualitative peroxides activity, 50 trees were selected in 5 habitats in Neka and Noor forest of Mazandaran in Iran. Habitat were located from 170 to 1100 meter above see level. One-year-old branch samples of trees was prepared to enzyme extraction. Quantitative studies accomplished by UV spectrophotometer (in 530 NM wave lengths) and qualitative studies performed by poly acryl amid gel electrophoresis (PAGE). Based on quantitative studies results, the most peroxides activity related to midland habitats (Ladvije and Khoram Chamaz). According to isozyme bands grouping, all five habitats classified in three groups. Laei Pasand habitat (1100 meter a.s.l.) performed a single group. A cluster analysis of 50 trees performed 10 clusters. The most genetic distance had been seen between midland habitats and highland habitats. The minimal genetic distance related to some trees of lowland habitats and midland habiatats. Therefore elevation changes were great role in habitats classification. According to allelic diversity, and heterozygosis values (compared with foreign studies) genetic variation of Caspian oak was higher than the European oaks habitats, but within genetic variation of Caucasian oak habitats was more than it's between genetic variation.

Key words: *Quercus castanefolia*, Peroxides, Genetic variation, Allelic diversity, Heterozygosis, Genetic distance

* k_espahbodi@yahoo.com

www.SID.ir