تنوع ایزوزیمی منادیون ردوکتاز ، ایزو سیترات دهیدروژناز و مالات دهیدروژناز راش شرقی *Fagus orientalis* Lipsky در ایران

پروین صالحی شانجانی

موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران

چکیده

گونه راش یکی از فراوان ترین و از نظر اقتصادی مهمترین سرده های درختان چوبی شمال ایران است. تنوع ایزوزیمی *Fagus orientalis* Lipsky در ١٤ جمعیت راش ایرانی در طول گستره پراکنش این گونه درختی در منطقه هیرکانی بوسیله مطالعات آنزیمی بررسی گردید.

گوناگونی آنزیمی جمعیتهای راش با استفاده از ٥ لوکوس آنزیمی در ٣ سیستم آنزیمی شامل منادیون ردوکتاز (MNR)، ایزو سیترات دهیدروژناز (IDH) و مالات دهیدروژناز (MDH) بوسیله الکتروفورز ژل نشاسته مطالعه گردید. از میان ١٥ آلل مشاهده شده، ٨ آلل نادر (با فراوانی کمتر از ٥٪) در ٥ لوکوس و ٤ آلل مختص به محل (با حضور در کمتر از ٥ جمعیت) ردیابی شدند و ملاحظه گردید که کلیه آللهای مختص به محل نادر نیز هستند ولی کلیه آللهای نادر مختص به محل نمی باشند. جمعیتهای نکا در ارتفاع ٩٠٠ متر از سطح دریا، خیرود در ارتفاع ٦٠٠ متر و اسالم در ارتفاع ٦٠٠ متر که هر سه در محدوده پایینی پراکنش راش قرار دارند، بیشترین تعداد آلل نادر را دارا می باشند. در این پژوهش با توجه به وجود اختلافات آب و هوایی مهم در جمعیتهای انتخابی (از شرقی ترین تا غربی ترین و از بالاترین تا پایین ترین منطقه پراکنش راش در جنگلهای راش) طرح مشخصی از گوناگونی آللهای غالب MNR-A و MDH-A شیبهای جغرافیایی در میان جمعیتها یافت شد.

واژه های کلیدی: راش، *Fagus orientalis* Lipsky، ایران، ناحیه هیرکانی، تنوع ایزوزیمی، منادیون ردوکتاز، ایزو سیترات دهیدروژناز ، مالات دهیدروژناز

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

ایزوزیمها یا آلوزیمها اشکال قابل مشاهده الکتروفورزی پروتئینهای آنزیمی هستند که بوسیله رنگ آمیزی اختصاصی- گهرمایه ظاهر می‌شوند. آلوزیمها اشکال مختلف آنزیمی هستند که بوسیله آللهای مختلف یک لوکوس به رمز درآمده و بعنوان نشانگرهای ژنتیکی قابل استفاده می‌باشند. بررسی گوناگونی آلوزیمی که ناشی از تغییرات در توالیهای DNA رمزکننده پروتئین می‌باشد از روشهای متداول در زیست‌شناسی جمعیتهای گیاهی است (۲۳ و ۲۸) کاربرد الکتروفورز ژل نشاسته (۲۲) و ظاهرسازی هیستوشیمیایی آنزیمها روی ژل (۱۰ و۲۷) تحول عظیمی در شناخت فرایندهای تکامل ایجاد نمود.

تجزیه ایزوزیمی نه تنها در مقایسه با ویژگیهای متریک (مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی) بلکه نسبت به سایر نشانگرهای ژنتیکی دارای مزایای بسیاری است که از مهمترین آنها می توان به مندلی بودن توارث و بیان کودومینانت بسیاری از لوکوسهای ایزوزیمی اشاره نمود. بعلاوه ایزوآنزیمها را می‌توان برای بسیاری از گونه‌های گیاهی بدون توجه به رویشگاه، اندازه یا طول عمر استفاده نمود. این بدین معنی است که طرحهای ایزوزیمی بسیاری از سیستمهای آنزیمی مستقل از شرایط محیطی بوده و بسیاری از طرحهای ایزوزیمی در طول اونتوژنی پایدار می‌باشند.

علیرغم مزایای بسیار این نشانگرهای ژنی و کاربرد وسیع در مطالعات تکاملی و ژنتیک جمعیتها، استفاده از نشانگرهای ژنی ایزوآنزیمی محدودیتهایی نیز دارد (۳، ۹ و ١٤). بطوریکه شناسایی لوکوسهای آنزیمی بوسیله روش زیموگرام فقط شامل بخش کوچک و غیرتصادفی از میان تمام ژنهای ساختمانی موجود در ژنوم می‌باشد. لوکوسهای بسیاری از پروتئینهای ساختمانی، آنزیمهای نامحلول در آب یا متصل به دیواره سلولی در زمره پروتئینهای مورد مطالعه قرار نمی‌گیرند. بعلاوه فقط بخش مشخصی از جانشینیهای نوکلئوتیدی در DNA (حدود ۳۰٪) بصورت جانشینیهای اسید آمینه‌ای (مثل مولکولهای آنزیمی) در می‌آیند که قابل ردیابی بوسیله روش الکتروفورز است. با این وجود امروزه هنوز هم ایزوزیمهااغلب بعنوان بهترین ابزار برای پاسخ به سؤالات موجود در ژنتیک حفاظت درختان جنگلی شناخته می‌شوند (۲۹).

کاربرد ایزوزیمها برای بررسی تنوع جمعیتها در ابتدا از سوزنی برگان شروع شد. Paganelli و همکاران (۱۸) بعنوان اولین گروه، پایداری و گوناگونی بیان دهیدروژنازها را در *F. sylvatica* مطالعه نمودند. Kim (۱۱) با مطالعه

Archive of SID

www.SID.ir

زیموگرام اسید فسفاتاز (ACP) و لوسین آمینوپپیتداز (LAP) در درختان بالغ و نتاج آنها اولین لوکوسهای ژنی آنزیمی را شناسایی نمود. Thiébaut و همکاران (۲٤) نحوهٔ وراثت ژنتیکی سه نشانگر جدید (دو تا در پراکسیدازها (LPX) و یکی در گلوتامات اکسالواستات ترانس آمیناز (GOT)) را در جوانه‌های خواب بررسی کردند. Müller-Starck (۱٦) برای تعیین اختلافات ژنتیکی بین راشهای حساس و مقاوم در یک توده جنگلی که در معرض تنش محیطی قرار گرفته بودند از چندین نشانگر استفاده کرد. Merzeau و همکاران (۱۵) کنترل ژنتیکی سیستمهای ایزوزیمی مالات دهیدرژناز (MDH)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، ٦-فسفوگلوکونات دهیدروژناز (٦-PGD)، فسفوگلوکز ایزومراز (PGI) را در نتاج حاصل از مادران هتروزیگوس مطالعه نمود. Müller-Starck و Starke (۱۷) طرحهای وراثتی لوکوسهای ژنی آنزیمی (۲۰ لوکوس) را در نتایج حاصل از تلقیح کنترل شده و درختان منفرد بررسی نمودند.

جنگلهای راش ایران روی شیب شمالی رشته کوه البرز در محدوده ارتفاع ۵۰۰-۲۱۰۰ متر از سطح دریا واقع هستند. آنها نوار جنگلی به طول ۷۰۰ کیلومتر را در سه استان گیلان، مازندران و گلستان تشکیل می‌دهند. در این پژوهش با انتخاب توده هایی از راش که در مناطق جغرافیایی کاملا متفاوت گسترشگاه راش واقع می باشند سعی گردید گوناگونی آنزیمهای منادیون ردوکتاز، ایزو سیترات دهیدروژناز و مالات دهیدروژناز در سه سطح توده، منطقه و ناحیه ای بررسی گردد. هدف اصلی این پژوهش جمع آوری اطلاعات مفید برای استقرار ذخیره گاههای ژنی در مناطق مورد لزوم از گستره طبیعی راش در ایران است.

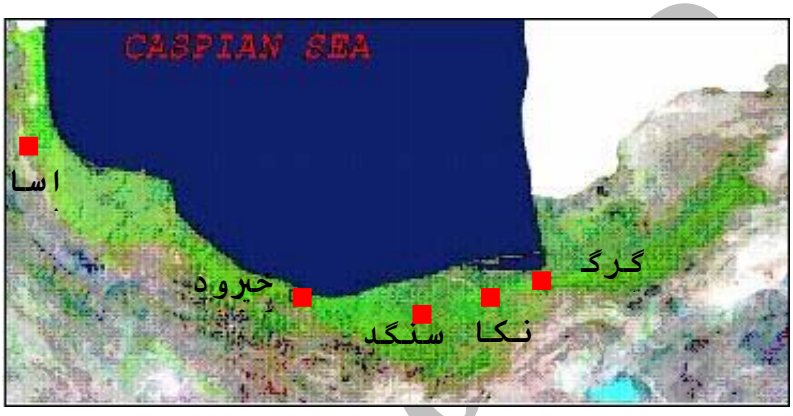
مواد و روشها

ویژگیهای مناطق مورد مطالعه: نمونه های گیاهی با نمونه‌برداری از ١٤ جمعیت طبیعی راش صورت گرفت که بخش وسیعی از گسترهٔ پراکنش راش (Fagus orientalis Lipsky) دارای اختلافات متمایز جغرافیایی را در شمال ایران زیر پوشش قرار داد (شکل شماره ۱). بدین منظور پنج نقطه در طول گسترشگاه راش از غرب به شرق (اسالم در استان گیلان، خیرود، سنگده و نکا در استان مازندران و گرگان در استان گلستان) جنگلهای هیرکانی انتخاب شد و در هر نقطه سه پایگاه (ارتفاعهای پایین، میان و بالابند، به استثنای منطقه نکا که بعلت نامساعد بودن وضعیت آب و هوایی فقط دو قطعه نمونه در نظر گرفته شد) مستقر گردید (شکل شماره ۱). اختصارات بکار برده شده در متن و جداول

Archive of SID

www.SID.ir

برای نام و ارتفاع جمعیتهای مورد مطالعه عبارتند از: گ-۲۰۰۰، گ-۱٤۰۰ و گ-٦۰۰ (برای منطقه گرگان ارتفاعهای ۲۰۰۰، ۱٤۰۰ و ٦۰۰ متر از سطح دریا)، ن-۱٤۰۰ و ن-۹۰۰ (برای منطقه نکا ارتفاعهای ۱٤۰۰ و ۹۰۰ متر از سطح دریا)، س-۱۹۰۰، س-۱٤۰۰ و س-۹۰۰ (برای منطقه سنگده ارتفاعهای ۱۹۰۰، ۱٤۰۰ و ۹۰۰ متر از سطح دریا)، خ-۲۰۰۰، خ-۱۲۰۰ و خ-٦۰۰ (برای منطقه خیرود ارتفاعهای ۲۰۰۰، ۱۲۰۰ و ٦۰۰ متر از سطح دریا)، الف-۱۹۰۰، الف-۱۲۰۰ و الف-٦۰۰ (برای منطقه اسالم ارتفاعهای ۱۹۰۰، ۱۲۰۰ و ٦۰۰ متر از سطح دریا).



شکل شماره ۱ – توزیع مناطق مورد بررسی در ایران

روشهای مطالعه آنزیمی: در هر توده مواد رویشی (شاخه‌های حامل جوانه‌های خواب) از ۵۰ درخت غیر همجوار بصورت تصادفی در یک محیط همگن نمونه‌برداری گردید. برای تجزیه آنزیمی، بافت جوانه خواب (۲-۳ جوانه از هر درخت) و بافت پوستی شاخه‌ها همگن شده و به نسبت ۲:۱ در تامپون استخراج pH =۷ (Tris-HCl ۰/۱ مولار با pH =۷/۳، یک گرم PVP٤۰، یک گرم EDTA II و یک میلی لیتر ۲-مرکاپتواتانول) با استفاده از هاون دستی عصاره‌گیری شد (۱). همگناها بوسیله دستگاه الکتروفورز افقی ژل نشاسته و سیستمهای تامپونی اختصاصی آنزیمی مختلف، الکتروفورز و ژلها برای سیستمهای آنزیمی مختلف رنگ‌آمیزی شدند (جدول شماره یک). غلظت ژل ۱۲٪ و فاصله پل (ابتدا تا انتهای حرکت همگنا) ۱۲ سانتیمتر بود (۱).

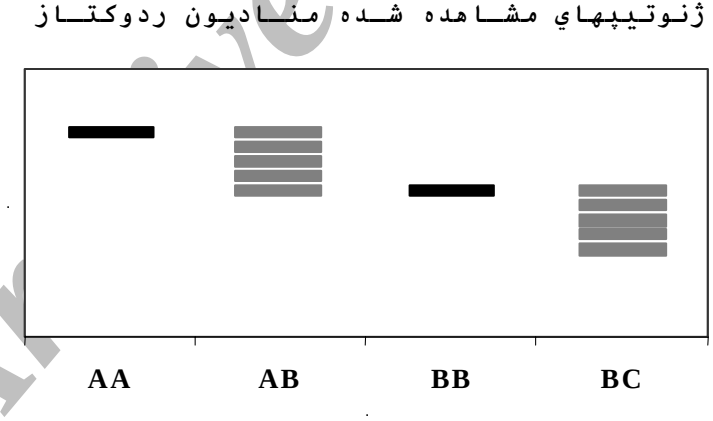
تنوع ایزوزیمی جمعیتهای راش با استفاده از ۳ سیستم آنزیمی که توسط ۵ لوکوس ژنی رمز می شوند مطالعه، (به جدول شماره یک توجه نمایید) وراثت ایزوآنزیمها و تفسیر زیموگرامها با روش Merzceau و همکاران (۱۵) انجام شد. لوکوسها بنام اختصاری آنزیم‌نامگذاری و براساس سرعت حرکت (کاتودی‌ترین زون

Archive of SID
www.SID.ir

بعنوان لوکوس A و دومین لوکوس قبل آن B و غیره) حرف‌گذاری شدند. برای هر فرد، ژنوتیپهای دیپلوئید شماره‌گذاری گردید. فراوانیهای ژنوتیپی و آللی بطور وسیعی مطالعه (توسط نرم افزار GENEPOP، ۲۰) و ناهمگونی فراوانیهای آللی در میان جمعیتها با استفاده از آزمون فیشر بررسی گردید (۲۰).

نتایج

پلی‌مورفیسم سیستمهای آنزیمی مورد استفاده: منادیون ردوکتاز بوسیله یک لوکوس MNR-A با ۳ آلل دارای Rm ۱۲٦، ۱۰۰، ۷٤ رمز می‌شود (شکل شماره ۲). ساختار آنزیمی آن تترامری است. اختلافات مهمی (در سطح ۹۵٪) در فراوانیهای آللی در مرزهای شرقی و غربی در مقایسه با نواحی مرکزی مشاهده شد. چنانچه، فراونی فراوان ترین آلل (A)در مرزها بیش از ۲ برابر فراوانی آن در مرکز جنگلهای هیرکانی است (جدول شماره ۲). ٤ ژنوتیپ AA، AB، BB و BC در الگوی الکتوفورزی لوکوس MNR-A مشاهده گردید که AB فراوان ترین هتروزیگوت و BB فراوان ترین هموزیگوت می باشد (جدول شماره ۳).



شکل شماره ۲- زیموگرام ژنوتیپهای مشاهده شده منادیون ردوکتاز در درختان راش مناطق مورد مطالعه.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۱ – شرایط الکتروفورز با ژل نشاسته و رنگامیزی آنزیمهای مورد مطالعه.

آنزیم	تامپون ژل برای حجم ml ۱۰۰۰	تامپون الکترود برای حجم ml ۱۰۰۰	ترکیب ژل					قدرت برق		ترکیب محلول رنگامیزی
			آب (ml)	تامپون ژل (ml)	تامپون الکترود (ml)	اوره (gr)	ساکارز (gr)	نشاسته (gr)	جریان میدان (mA)	ولتاژ (V)	
منادیون ردوکتاز	Tris: ۱٦/۳٤ گرم اسید سیتریک: ۹/۰٤ گرم Ph: ۷	Tris: ۱٦/۳٤ گرم اسید سیتریک: ۹/۰٤ گرم Ph: ۸/۱	–	۱۷۷	۲۳	–	۱۲	۲۴	۷۵–۶۰	۳۰۰–۲۸۰	تامپون Tris-HCl ۰/۱ مولار pH= ۷: ۲۵ میلی لیتر Menadione : ۵۰ میلی گرم NADP ۱٪: ۱ میلی لیتر MTT ۱٪: ۱ میلی لیتر PMS ۰/۱٪: ۱ میلی لیتر
ایزوسیترات دهیدروژناز	Tris: ٦/۱۷ گرم اسید سیتریک: ۹/۰٤ گرم Ph: ۸/۱	اسید بوریک: ۱۲/۸۱ گرم هیدروکسید لیتیم: ۱/۱۹ گرم Ph: ۸/۱	۱۵۵	۴۵	–	۳	–	۲۴	۱۰۰–۹۰	۱۷۰	تامپون Tris-HCl ۰/۲ مولار pH= ۸: ۲۵ میلی لیتر MgCl2 ۱۰٪: ۱ میلی لیتر D,L-Isocitric acid : ۸۰ میلی گرم NADP ۱٪: ۱ میلی لیتر MTT ۱٪: ۱ میلی لیتر PMS ۰/۱٪: ۱ میلی لیتر
مالات دهیدروژناز	Tris: ٦/۱۷ گرم اسید سیتریک: ۹/۰٤ گرم Ph: ۸/۱	اسید بوریک: ۱۲/۸۱ گرم هیدروکسید لیتیم: ۱/۱۹ گرم Ph: ۸/۱	۱۵۵	۴۵	–	۳	–	۲۴	۱۰۰–۹۰	۱۷۰	تامپون Tris-HCl ۰/۲ مولار pH=۸/۵ : ۲۵ میلی لیتر D,L-Malic acid ۰/۲ مولار pH=۸/۵ : ٦ میلی لیتر NAD ۱٪: ۱ میلی لیتر MTT ۱٪: ۱ میلی لیتر PMS ۰/۱٪: ۱ میلی لیتر NBT: ۱ میلی لیتر

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲- بازنگری سیستمهای آنزیمی، شماره کمیسون آنزیمی (EC) و آللهای مشاهده شده

سیستم آنزیمی	طبقه آنزیمی	شماره EC	لوکوسهای پلی‌مورفیک رمز کننده آنزیم	تعداد آلل مشاهده شده در لوکوس (در ایران)	آللهای مشاهده شده در هر لوکوس	ساختمان چهارم	گروه‌بندی آنزیم
منادیون ردوکتاز	اکسیدوردوکتازها	۱.٦.۹۹.۲	MNR-A	۳	A' *: ۱۳۷, A: ۱۲٦ , B' *: ۱۱۳ B: ۱۰۰, C: ۷٤, D' *: ٦۳	تترامر	متابولیسم ثانوی
ایزوسیترات دهیدرژناز	اکسیدوردوکتازها	۱.۱.۱.٤۲	IDH-A	۳	A' *: ۱۳۲, A: ۱۱٦ , B: ۱۰۰, C: ۸٤	دیمر	متابولیسم اولیه
مالات دهیدوژناز	اکسیدوردوکتازها	۱.۱.۱.۳۷	MDH-A MDH-B MDH-C	٤ ۳ ۲	B: ۱۳۰, C: ۱۲٥, D' *: ۱۳۱, E :۱۰۱ ,F: ۸۸ A:۱۱۸, B' *: ۱۰۹, C: ۱۰۰, D: ۷۸, E*: ٦٦ A: ۲۲ , B: ۱۸	دیمر دیمر منومر	متابولیسم اولیه

*** آللی که در ایران مشاهده نشد.**

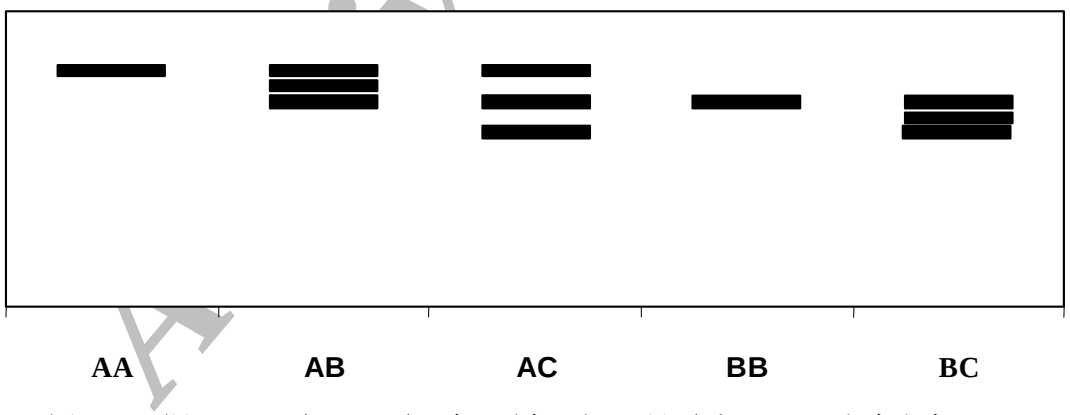
ایزوزیمهای ایزوسیترات دهیدروژناز بوسیله ۲ لوکوس ژنی رمز می‌شود ولی از آنجایی که منطقه دوم فعالیت روی ژل (IDH-B) رنگ‌پذیری کمی داشت و قابل بررسی نبود فقط لوکوس IDH-A با ۳ آلل مطالعه گردید (شکل شماره ۳). تحرک نسبی ۳ آلل ۱۱٦، ۱۰۰، ۸٤ بود. ساختار آنزیم دیمری می‌باشد. اختلاف مهمی بین فراوانی آلل فراوان (B) در جمعیتها مشاهده نشد (جدول شماره ۲). ٥ ژنوتیپ AA ، AB، AC، BB و BC در الگوی الکتوفورزی لوکوس IDH-B مشاهده گردید که BB ژنوتیپ غالب در تمام جمعیتها بود. از میان ۱٤ جمعیت مطالعه شده جمعیتهای گرگان-۲۰۰۰، خیرود-۱۲۰۰ و اسالم-۱۹۰۰ حالت منومورفیک از ژنوتیپ BB را نشان دادند و به استثناء جمعیتهای نکا-۹۰۰ و سنگده-۱۹۰۰ که در هر یک ۳ ژنوتیپ مشاهده گردید باقی جمعیتها دو ژنوتیپ نشان دادند (جدول شماره ۳). مالات دهیدروژناز بوسیله ۳ لوکوس آنزیمی (MDH-A، MDH-B و MDH-C) رمز می‌شود. در لوکوسهای MDH-A، MDH-B و MDH-C بترتیب ٤، ۳ و ۲ شکل آللی مشاهده گردید (شکل شماره ٤). بیان فنوتیپی لوکوس MDH-A بسیار مشابه به MDH-B است و هر دو آنزیم تولید شده بوسیله این لوکوسها دیمری می‌باشند. در حالیکه آنزیم حاصل از لوکوس MDH-C منومری است. در لوکوس MDH-A، کمترین فراوانی آلل E و بیشترین فراوانی آلل C در جمعیتهای مرزی مشاهده می‌شود. در حالیکه در لوکوس MDH-B یک تمایل جغرافیایی از

Archive of SID

www.SID.ir

شرق به غرب و غرب به شرق بترتیب در آللهای C و A ملاحظه گردید. در لوکوس MDH-C در حقیقت ٤ شکل آللی وجود دارد. ولی از آنجایی که سرعت مهاجرت آلل اول و دوم و نیز آلل سوم و چهارم بسیار شبیه هم است فقط دو آلل تفسیر گردید. در لوکوس MDH-C، بیشترین فراوانی آللی متعلق به آلل B می‌باشد (جدول شماره ۲).

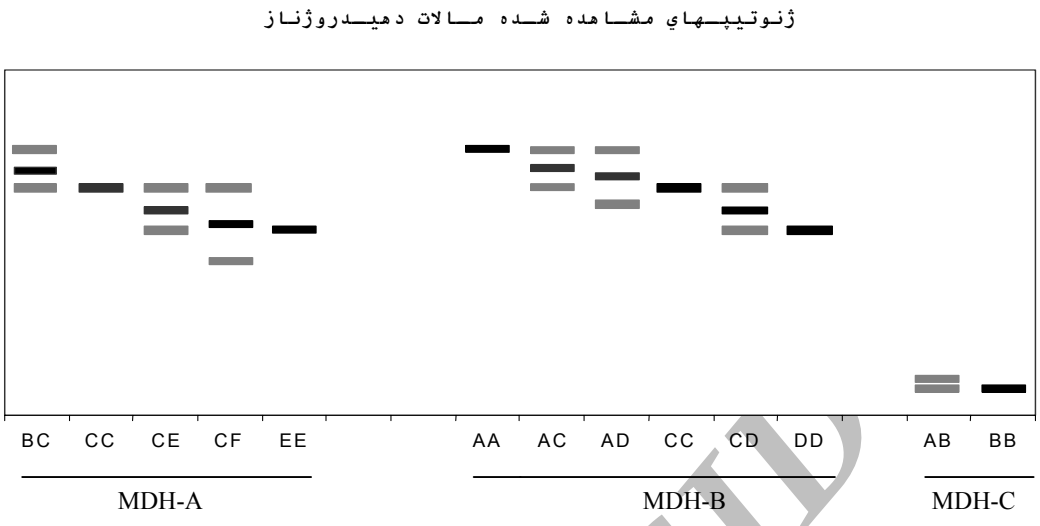
در الگوی الکتوفورزی در لوکوسهای MDH-A، MDH-B و MDH-C بترتیب ٥، ٦ و ۲ ژنوتیپ مشاهده گردید. فراوانی ۳ ژنوتیپ CC، CE و EEدر لوکوس MDH-A بطور قابل ملاحظه ای بیش از دو ژنوتیپ BC و CF است. فراوانی ژنوتیپی CC در MDH-B بطور محسوسی بیش از سایر ژنوتیپها می باشد. خیرود-۱۲۰۰ و خیرود-۲۰۰۰ با نمایش دو ژنوتیپ کمترین پلی مورفیسم ژنوتیپی را نشان دادند. همانطوریکه در الگو الکتروفورزی MDH-C مشاهده می شود فقط دو ژنوتیپ AB و BB وجود دارد که ژنوتیپ BB فراوانی غالبی را در جمعیتهای مورد مطالعه نشان می دهد (جدول شماره ۳):



شکل شماره ۳- زیموگرام ژنوتیپهای مشاهده شده ایزوسیترات دهیدروژناز در درختان راش مناطق مورد مطالعه.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل شماره ۴- زیموگرام ژنوتیپهای مشاهده شده مالات دهیدروژناز در درختان راش مناطق مورد مطالعه.

فراوانی و توزیع آللی : جدول شماره ۲ فراوانی آللی را در تک‌تک جمعیتها، مناطق و کل ناحیه هیرکانی نشان می‌دهد. در ٤ لوکوس ناهمگونی فراوانی آللی در میان جمعیتها کاملاً معنی‌دار است. بعبارت دیگر فراوانی آللی بسیاری از لوکوسها بطور قابل ملاحظه‌ای در بین گروههای درختان نمونه‌برداری شده از جمعیتهای مختلف متفاوت است. بعلت تمایز نسبتاً کم و پلی‌مورفیسم نادر، تعداد نمونه‌برداری برای نتیجه‌گیری روی ناهمگونی فراوانی آللی در لوکوس MDH-A کافی نبود. از میان ٥ لوکوس MDH-C در ۷ جمعیت منومورفیک بود. در هر لوکوس عمدتاً یک آلل فراوان‌تر از بقیه است. در حالی که لوکوس MDH-A با دو آلل فراوان در برخی جمعیتها متمایز بود. ۲ لوکوس IDH-A و MDH-C پلی‌مورفیسم کمی را نشان دادند و حتی اگر تعداد آلل در لوکوس آنها ۳ عدد بود فراوانی یک آلل معمولاً بسیار بالا و سایر آللها نادر و یا کاملاً غایب از برخی جمعیتها بودند. از سوی دیگر، لوکوسهای MDH-A و MDH-B تقریباً در تمام جمعیتها پلی‌مورفیسم بسیار بالایی نشان دادند. تعداد آللهای مشاهده شده در ٥ لوکوس از ۲ آلل (در لوکوس MDH-C) تا ۳ آلل (در لوکوسهای MNR-A و IDH-A) و ٤ آلل (در لوکوسهایMDH-A و MDH-B) متغیر است (جدول شماره ۲). در برخی لوکوسها، "تعداد آلل در لوکوس" در میان جمعیتها متفاوت بود در حالیکه در سایر موارد ثابت می‌باشد. برای مثال "تعداد آلل در لوکوس" IDH-A از یک (در جمعیتهای گرگان-۲۰۰۰،

Archive of SID
www.SID.ir

خیرود–۱۲۰۰ و اسالم ۱۹۰۰)، ۲ (در بسیاری از جمعیتها) و ۳ آلل (در جمعیتهای نکا–۹۰۰ و سنگده–۱۹۰۰) متغیر بود در حالیکه در لوکوس MDH-B در تمام جمعیتها ۳ آلل مشاهده گردید.

اگرچه درون هر منطقه، اشکال آللی بین ارتفاعات مختلف متفاوت بود ولی هیچ تمایل خاص جغرافیایی یافت نشد. در آلل فراوان لوکوسهای MNR-A و MDH-A تمایل و شیب جغرافیایی محسوسی مشاهده گردید. بطوریکه فراوانی آللی MNR-A/A در مناطق مرکزی افزایش و فراوانی آلل MDH-A کاهش می‌یابد (شکل شماره ٤). ۸ آلل از ۱۵ آلل در تمام جمعیتها وجود داشت ولی چندین آلل نیز شناسایی شدند که فقط در برخی بخشهای گسترش راش مشاهده شدند. تعداد کمی از این آللها منحصراً در یک جمعیت مشاهده شد (MNR-A/C در نکا–۹۰۰؛ MDH-A/F در خیرود– ٦۰۰). در این پژوهش آللهای مختص به محل به آللهایی اختصاص داده شد که در کمتر از ۵۰٪ جمعیتها حضور داشتند. که با این معیار ٤ آلل از ۳ لوکوس، آلل مختص به محل بودند (جدول شماره ٤). با توجه به اینکه آللها مختص به محل عموماً نادر نیز هستند (فراوانی آنها معمولاً کمتر از ۵٪ است)، بنابراین اختصاصی بودن آنها را به یک منطقه یا محل می‌بایست همراه با احتیاط در نظر گرفت زیرا با توجه به محدودیت اندازه‌گیری، همواره احتمال از دست رفتن یک آلل در طی نمونه‌برداری وجود دارد. با این وجود، بعلت اهمیت خاص آنها در بررسی روابط فیلوژنی، ارزیابی شدند.

در این پژوهش، به آللهایی آلل نادر اطلاق می‌شود که دارای فراوانی کمتر از ۵٪ باشند. در کل، ۸ آلل نادر در ۵ لوکوس شناسایی شد که حضورشان از یک جمعیت (MNR-A/C، MDH-B/D و MDH-A/F) تا ۹ جمعیت (IDH-A/A) متغیر بود (جدول شماره ۵). تعداد آللهای نادر در جمعیتها از ۱ آلل در جمعیتهای گرگان–۲۰۰۰، سنگده–۹۰۰ و خیرود–۲۰۰۰تا ٤ آلل در جمعیتهای نکا– ۹۰۰، خیرود– ٦۰۰ و اسالم–٦۰۰ که هر سه در محدوده پایینی پراکنش راش قرار دارند متفاوت بود. توزیع این ۸ آلل مختص به محل از شرق به غرب جنگلهای راش در ایران متفاوت است که می‌توان آنها را در گروههای زیر قرار داد: ۱) حضور در غرب به طرف مرکز (مثل MDH-A/B) ۲) حضور در مناطق مرزی (مثل MDH-C/A) ۳) حضور در نواحی دور از دریا: نکا و سنگده (مثل IDH-A/C) ٤) حضور فقط در یک منطقه (نکا).

توزیع موزائیکی برخی آللها (مثل IDH-A/A) امکان نتیجه‌گیری در مورد اختصاصی بودن آنها را به محل خاصی فراهم نمی‌کند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۲- فراوانی آللی در سطح جمعیتها، مناطق و کل ناحیه مطالعه شده (ارزش p برگرفته از آزمون فیشر (۲۰) است).

لوکوس و آلل	جمعیت													منطقه					کل ناحیه
	گ ۲۰۰۰	گ ۱۴۰۰	گ ۶۰۰	ن ۱۴۰۰	ن ۹۰۰	س ۱۹۰۰	س ۱۴۰۰	س ۹۰۰	خ ۲۰۰۰	خ ۱۲۰۰	خ ۶۰۰	الف ۱۹۰۰	الف ۱۲۰۰	الف ۶۰۰	ارزش p	گرگان	نکا	سنگده	خیرود	اسالم	
MNR-A																				
A	۰/۳٤٤	۰/۱٦۷	۰/۱۷٤	۰/۱۷۰	۰/۲۰۸	۰/۱۹۸	۰/۱۲۵	۰/۲۰۸	۰/۱۹۸	۰/۱۷۷	۰/۲۲۹	۰/۲۵۰	۰/۳۳۳	۰/۲۹۳		۰/۲۲۹	۰/۱۹۰	۰/۱۷۷	۰/۲۰۱	۰/۲۹۲	۰/۲۱۹٦
B	۰/٦۵٦	۰/۸۳۳	۰/۸۲٦	۰/۸۳۰	۰/۷۸۱	۰/۸۰۲	۰/۸۷۵	۰/۷۹۲	۰/۸۰۲	۰/۸۲۳	۰/۷۷۱	۰/۷۵۰	۰/٦٦۷	۰/۷۰۷		۰/۷۷۱	۰/۸۰۵	۰/۸۲۳	۰/۷۹۹	۰/۷۰۸	۰/۷۷۹٦
C	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۵۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰۷
IDH-A																				
A	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۲۱	۰/۰٤۲	۰/۰۵۲	۰/۰۱۰	۰/۰٤۲	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۳۱	۰/۰۰۰	۰/۰۵۲	۰/۰۱۰		۰/۰۰۷	۰/۰۳۱	۰/۰۳۵	۰/۰۱٤	۰/۰۲۱	۰/۰۰۲۲
B	۱/۰۰۰	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰	۰/۹۷۹	۰/۹٤۸	۰/۹۳۸	۰/۹۹۰	۰/۹۵۸	۰/۹۹۰	۱/۰۰۰	۰/۹٦۹	۱/۰۰۰	۰/۹٤۸	۰/۹۹۰		۰/۹۹۳	۰/۹٦٤	۰/۹٦۲	۰/۹۸٦	۰/۹۷۹	۰/۹۷۷
C	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۲۹۷	۰/۰۰۰	۰/۰۰۵	۰/۰۰٤	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۵۰
MDH-A																				
B	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰		۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰٤	۰/۰۰۰	۰/۰۰٤	۰/۰۰۱۵
C	۰/۰۵۷۳	۰/۷۰۸	۰/۰۵۹٦	۰/٤۹۰	۰/۰۵۷۳	۰/۰۵۲۱	۰/۰۵۱۰	۰/٤۹۰	۰/٤۲٤	۰/۰۵۹٤	۰/٦۷۷	۰/۰۵۹٤	۰/٦۰٤	۰/۰۵۹٤		۰/٦۲٦	۰/۰۵۳۱	۰/۰۵۰٦	۰/۰۵٤٦	۰/۰۵۹۷	۰/۰۵٦۳۵
E	۰/٤۲۷	۰/۲۹۲	۰/٤۰٤	۰/۰۵۱۰	۰/٤۲۷	۰/٤٦۹	۰/٤۹۰	۰/۰۵۱۰	۰/۰۵۷٦	۰/٤۰٦	۰/۳۱۳	۰/٤۰٦	۰/۳۹٦	۰/۳۹٦		۰/۳۷٤	۰/٤٦۹	۰/٤۹۰	۰/٤۵۱	۰/۳٤۰	۰/٤۳٤۲
F	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰٤	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰٤	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰۷
MDH-B																				
A	۰/۰۵۲	۰/۱۱۵	۰/۰۵۲	۰/۱۰٤	۰/۰٤۲	۰/۰۷٤	۰/۰٤۲	۰/۰۷۳	۰/۰۰۰	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰		۰/۰۷۳	۰/۰۷۳	۰/۰٦۳	۰/۰۱۸	۰/۰۱۱	۰/۰٤۵٦
C	۰/۸٤٤	۰/۸۳۳	۰/۸۹٦	۰/۸۱۳	۰/۸۹٦	۰/۸٦۲	۰/۸٦۵	۰/۸٦۵	۰/۹٤٦	۰/۹۲۷	۰/۹۱۷	۰/۹۲۷	۰/۹۳۸	۰/۹٤۸		۰/۸۵۸	۰/۸۵٤	۰/۸٦٤	۰/۹۳٤	۰/۹۳۸	۰/۸۹۳۹
D	۰/۱۰٤	۰/۰۵۲	۰/۰۵۲	۰/۰۸۳	۰/۰٦۳	۰/۰٦٤	۰/۰۹٤	۰/۰٦۳	۰/۰۵٤	۰/۰۵۲	۰/۰٦۳	۰/۰۵۲	۰/۰٦۲	۰/۰٤۲	۰/۰۰۳۱	۰/۰٦۹	۰/۰۷۳	۰/۰۷۳	۰/۰۳۹	۰/۰۵۲	۰/۰٦۰۵
MDH-C																				
A	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۲۱	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰		۰/۰۱۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۷	۰/۰۰٦۰
B	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۹۹۰	۰/۹۷۹	۰/۹۹۰	۰/۹۹۰	۱/۰۰۰	۰/۹۱٤۷	۰/۹۹۰	۱۰/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۹۹۰	۰/۹۹۳	۰/۹۹٤۰

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۳- فراوانیهای ژنوتیپی در سطح جمعیتها

	اسالم			خیرود			سنگده			نکا		گرگان		
	۶۰۰	۱۲۰۰	۱۹۰۰	۶۰۰	۱۲۰۰	۲۰۰۰	۹۰۰	۱۴۰۰	۱۹۰۰	۹۰۰	۱۴۰۰	۶۰۰	۱۴۰۰	۲۰۰۰
MNR-A														
AA	۳	٤	۳	۳	۳	۲	۱	۱	۱	۲	۲	۲	۱	۵
AB	۲۱	۲٤	۱۸	۱٦	۱۱	۱۵	۱۸	۱۰	۱۷	۱٦	۱۲	۱۲	۱٤	۱۳
BB	۲۲	۲۰	۲۷	۲۹	۳٤	۳۱	۲۹	۳۷	۳۰	۲۹	۳۳	۳۲	۳۳	۲۰
BC	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۱	–	–	–	–
N	٤٦	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۷	٤٦	٤۸	٤۸
IDH-A														
AA	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۱	–	–	–
AB	۱	۵	–	۳	–	۱	٤	۱	۵	۳	–	۱	۱	–
AC	–	–	–	–	–	–	۱	–	–	۱	–	–	–	–
BB	٤۷	٤۳	٤۸	٤۵	٤۸	٤۷	٤٤	٤۷	٤۲	٤٤	٤۷	٤۷	٤۷	٤۸
BC	–	–	–	–	–	–	–	–	۱	–	–	–	–	–
N	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸
MDH-A														
BC	۱	–	–	–	–	–	–	–	۱	–	–	–	–	–
CC	۱٤	۱۸	۱۹	۲۱	۱۱	۵	۱۱	۱۱	۱۳	۱۷	۱۲	۱۷	۲٤	۱۵
CE	۲۸	۲۲	۱۹	۲۲	۲۹	۲۷	۲۵	۲۷	۲۳	۲۱	۲۳	۲۲	۲۰	۲۵
CF	–	–	–	۱	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
EE	۵	۸	۱۰	٤	۸	۱۳	۱۲	۱۰	۱۱	۱۰	۱۳	۸	٤	۸
N	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤٦	٤۸	٤۸	٤۷	٤۸	٤۸	٤۷	٤۸	٤۸
MDH-B														
AA	–	–	–	–	–	–	–	–	۱	–	–	–	–	–
AC	۱	–	۲	۲	۳	–	۷	٤	۵	٤	۹	۵	۱۱	۵
AD	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۱	–	–	–	–
CC	٤۳	٤٤	٤۱	٤۱	٤۵	٤۱	۳٦	۳۷	۳۵	۳۲	۳۸	۳۸	۳۳	۳٤
CD	٤	۲	۵	٤	–	۵	٤	۵	٦	۵	٦	۵	۳	۸
DD	–	۲	–	۱	–	–	۱	۲	–	۱	–	–	۱	۱
N	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤٦	٤۸	٤۸	٤۷	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸
MDH-C														
AB	–	۱	۱	۲	۱	–	–	–	–	–	–	۱	۱	۱
BB	٤۸	٤۷	٤۷	٤٦	٤۷	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۷	٤۷	٤۷
N	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸	٤۸

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۴- فراوانی و توزیع آللهای مختص به محل در کلیه جمعیتهای مورد مطالعه

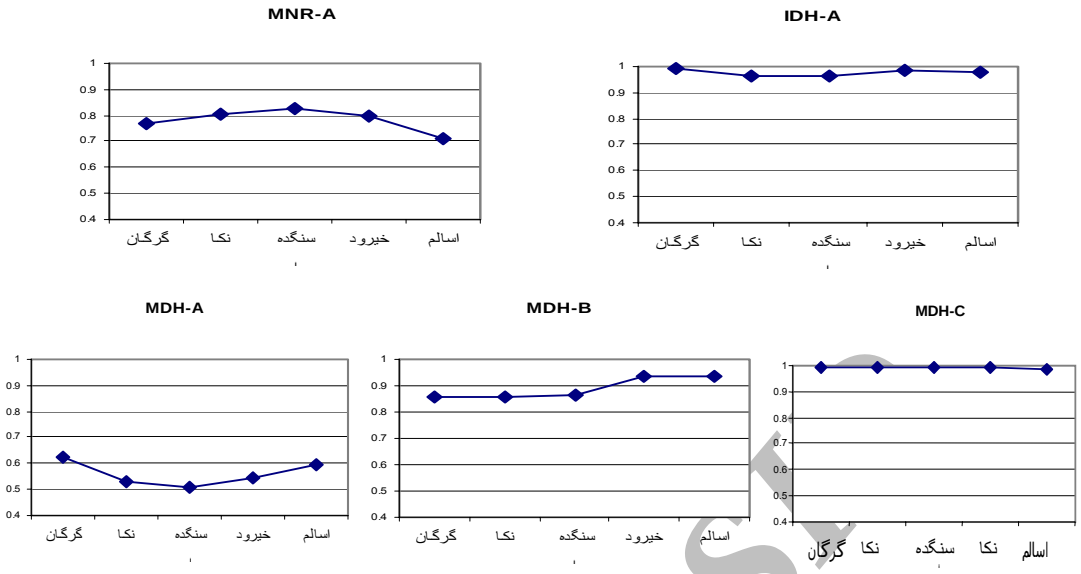
	گ-۲۰۰۰	گ-۱۴۰۰	گ-۶۰۰	ن-۱۴۰۰	ن-۹۰۰	س-۱۹۰۰	س-۱۴۰۰	س-۹۰۰	خ-۲۰۰۰	خ-۱۲۰۰	خ-۶۰۰	الف-۱۹۰۰	الف-۱۲۰۰	الف-۶۰۰	کل
MNR-A															
C	-	-	-	-	۰/۰۱۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱
IDH-A															
C	-	-	-	-	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	-	-	-	-	-	-	-	-	۲
MDH-A															
B	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰	۲
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰	-	-	-	۱
کل	۰	۰	۰	۰	۲	۲	۰	۰	۰	۰	1	۰	۰	۱	

جدول شماره ۵- فراوانی و توزیع آللهای نادر در کلیه جمعیتهای مورد مطالعه

	گ-۲۰۰۰	گ-۱۴۰۰	گ-۶۰۰	ن-۱۴۰۰	ن-۹۰۰	س-۱۹۰۰	س-۱۴۰۰	س-۹۰۰	خ-۲۰۰۰	خ-۱۲۰۰	خ-۶۰۰	الف-۱۹۰۰	الف-۱۲۰۰	الف-۶۰۰	کل
MNR-A															
C	-	-	-	-	۰/۰۱۰	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۱
IDH-A															
A	-	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۲۱	۰/۰٤۲	-	۰/۰۱۰	۰/۰٤۲	۰/۰۱۰	-	۰/۰۳۱	-	-	۰/۰۱۰	۹
C	-	-	-	-	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	-	-	-	-	-	-	-	-	۲
MDH-A															
B	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰	۲
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰	-	-	-	۱
MDH-B															
A	-	-	-	-	۰/۰٤۲	-	۰/۰٤۲	-	-	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۷
D	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	۰/۰٤۲	۱
MDH-C															
A	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	-	-	-	-	-	-	۰/۰۱۰	۰/۰۲۱	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	-	۷
کل	۱	۲	۲	۲	٤	۲	۲	۱	۱	۲	٤	۲	۲	٤	

Archive of SID

www.SID.ir



شکل شماره ۴- توزیع فراوانی آلل غالب در ۵ لوکوس مناطق مطالعه شده

بحث و نتیجه گیری

طرحهای آللی: چندین آلل نادر و یا شدیداً نادر در بخشهای مختلف دامنه پراکنش راش ایران مشاهده شد که طبق نظر Bergman و همکاران (۳) نقش مهمی در پتانسیل سازگاری جمعیت بازی کرده و به لحاظ نقش مهمشان در تغییرات احتمالی آینده محیط مورد توجه می‌باشند. در موارد بسیاری، تعداد و فراوانی آللهای مشاهده شده (شامل آللهای نادر) با داده‌های سایر پژوهشگران در راش اروپایی و شرقی مطابقت دارد. از هفت آلل یافت شده در مناديون ردوکتاز، در بررسی حاضر ۳ آلل مشاهده شد که دو تا از آنها فراوان و یکی بشدت نادر (MNR-A/C) بود که بنظر می‌رسد این آلل در جمعیتهای فرانسه و ایتالیا وجود ندارد (۲و ۷).

برای ایزوسیترات دهیدروژناز، یک لوکوس با ۳ آلل تفسیر شد که کندروندهترین آلل (IDH-A/C) کاملاً نادر است. این طرح آللی با نتایج ارائه شده در جمعیتهای غربی اروپا (۲٤، ۸، ۲۱ و ۲۵) مطابقت دارد. Vyšny (۲٦) یک آلل تندروند (IDH-A/A') را یافت که فقط در یکی از جمعیتهای راش شرقی وجود داشت. Konnert (۱۲) نیز یک آلل تندرونده را در Bavaria گزارش نمود ولی از آنجایی که او مقدار Rm مربوطه را ذکر ننموده است ممکن است این آلل همان آلل IDH-A/A' گزارش شده توسط Vyšny (۲٦) نباشد.

Archive of SID
www.SID.ir

سه لوکوس گوناگونی مالات دهیدروژناز را در راش کنترل می‌کند. تند رونده‌ترین لوکوس (MDH-A) در غرب اروپا و در بیشتر جمعیتهای مرکزی اروپا منومورفیک است. طبق گزارش Vyšny (۲٦) و Gömöry و همکاران (۸) این لوکوس در راش شرقی و جمعیتهایی از راش اروپایی که در نزدیکی راش شرقی واقع شده‌اند گوناگونی نشان می‌دهد. از ٤ آلل این لوکوس دو تا از آنها بشدت نادر است. در لوکوس دوم (MDH-B) سه آلل مشاهده گردید که دو تا از آنها در بیشتر جمعیتها نادر هستند. در نمونه‌های جمعیتهای اروپایی غربی (۷ و ۱۵) سه آلل که دو تا از آنها (تند رونده‌تر) نادر بودند یافت گردید. در حالی که آللهای بیشتری در نمونه‌های آلمان مشاهده گردید.Konnert (۱۲) ٦ آلل را در این لوکوس تشریح نمود که فقط یکی از آنها کندتر از آلل فراوان حرکت می‌کرد، ولی Vyšny (۲٦) ٥ آلل را گزارش نمود که سه تا از آنها مشابه با همان آللهایی هستند که قبلاً گزارش شده بود و ۲ آلل (کند رونده) دیگر فقط در راش شرقی و جمعیتهای راش اروپایی مجاور با راش شرقی، یافت می‌شود. دو آلل در لوکوس MDH-C یافت گردید. این لوکوس برخلاف راش اروپایی در بیشتر جنگلهای راش هیرکانی، منومورفیک بود.

توزیع جغرافیایی آللها: برخی پژوهشها با اشاره به رابطه بین گوناگونی فروانیهای آللی (در چند لوکوس) و شرایط محیطی، بر نقش احتمالی سازگاری این آللها تأکید می‌کنند (۲، ٤، ٥، ۷، و ۲٤). اگرچه ژنوتیپهای آنزیمی و نه آللها نماینده آنزیمهایی هستند که متابولیسم یک گیاه را تسریع می‌نمایند، ولی معمولاً فراوانی آللی بیش از فراوانی ژنوتیپی در رابطه با سازگاری اقلیمی مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

Comps و همکاران (٤ و٥) وجود رابطه بین لوکوسهای پراکسیداز (PX-A و PX-B) و ویژگیهای جغرافیایی و اقلیمی جمعیتها را در کارهای خود ثابت کردند. این پژوهشگران پلی‌مورفیسم بالای لوکوس PX-A را در نواحی با تغییرات اقلیمی شدید گزارش نمودند. از آنجایی که آنها بروز اشکال آللی خاصی را در تغییرات اقلیمی معینی مشاهده نمودند احتمال وجود یک اثر انتخابی را در تشکیل طرحهای آللی پیشنهاد نمودند. اگرچه مناطق مورد مطالعه در این پژوهش بعلت اختلاف زیاد در ارتفاع دامنه پراکنش راش (۱۰۰۰-۱۳۰۰ متر)، در شرایط اقلیمی متفاوتی قرار داشتند ولی در هیچیک از لوکوسها درجه خاصی از پلی‌مورفیسم مشاهده نگردید. در لوکوسهای آنزیمی GOT-B، MDH-B، SKDH-A، Paule و همکاران (۱۹) آللهایی را پیدا کردند که برای یک یا چند منطقه مجاور در جنوب شرقی اروپا اختصاصی بودند. در این پژوهش نیز چندین آلل شناسایی شدند که

Archive of SID
www.SID.ir

فقط در برخی از بخشهای گسترهٔ پراکنش راش ایران وجود داشت (جدول شماره ٤). Leonardi و Menozzi (۱۳) در بین ۲۱ جمعیت راش ایتالیایی نشان دادند که فراوانی آللی با ارتفاع و طول جغرافیایی ارتباط دارد، در حالیکه مشاهدات بررسی در ایران روند یکسانی را در ٥ دامنه پراکنش عمودی (ارتفاعی) نشان نداد. منطقه هیرکانی از نظر ساختار اکولوژی- جغرافیایی ناهمگون بوده و می‌توان برخی روندهای اکولوژیکی پیوسته‌ای مثل بارندگی، شرایط خاکی و غیره را در آن یافت. بنابراین می‌توان وجود طرح مشخص از گوناگونی آللهای غالب MNR-A و MDH-A موجود در نمونه‌های مورد مطالعه را تفسیر نمود. ولی ناهمگونی قابل ملاحظه موجود در سایر لوکوسها بدون ارتباط با تغییرات جغرافیایی، احتمالا ناشی از فرایندهای تصادفی و نیز سازگاری حاصل از مجموعه عوامل محیطی است که در انتخاب ذخیره گاههای ژنی بسیار حایز اهمیت است.

منابع

۱. صالحی شانجانی، پ. ۱۳۸۱. تنوع ژنتیکی راش شرقی و ارتباط آن با برخی ویژگیهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی راش در راشستانهای ایران. رساله دکتری دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم تهران، ایران.

2-Belleti, P. and Lanteri, S. 1996. Allozyme variation among European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands in Piedomont, north western Italy. *Silveae Genetica*, **45**(1).

3-Bergmann, F. 1991. Isozyme Gene Markers. In: Müller-Starck, G., and Ziehe, M. J. D. (Eds). Genetic Variation in European populations of forest trees. Sauerlander's Verlag, Frankfurt, Germany: 67-79.

4-Comps, B., B. Thiébaut, L. Paule, D. Merzeau and J. Letouzey.1990 a. Allozymic variability in beechwoods (*Fagus sylvatica* L.*)* over central Europe: Spatial differentional among and withinpopulations. *Heredity.* **65**:406-417

Archive of SID
www.SID.ir

5-Comps, B., Thiebaut, B. Paule, L., Merzeau, D. and Letouzey, J. 1990 b. Allozymic variability in beech woods (*Fagus sylvatica* L.) over central Europe: spatial differentiation among and within populations. *Heredity.* **65**: 407-417.

6-Gömöry, D., Paule, L., Brus, R., Zhelev, P., Tomovic, Z. and Gracan, J. 1999. Genetic structure and Taxonomy of beech on Balkan Peninsula. *J. Evol. Biol.* **12**: 746-754.

7-Gömöry, D., Vyšnỳ, J., Comps, B. and Thiébaut, B. 1992a. Geographical patterns of genetic differentiation and diversity in European beech (*Fagus sylvatica* L.) populations in France. *Biológia (Bratislava)*. **47**: 571-579.

8-Gömöry, D., Vyšnỳ, J., Paule, L. and Comps, B. 1992b. Genetic structure of European beech (*Fagus sylvatica* L.) populations in Czecho-Slovakia. In: Proceedings of the International Conference "Fytotechnica a hospodarska uprava Lesov v sucasnych ekologickych podmienkach, Technicka Univerzita, Zvolen. 27-33.

9-Hamrick, J. L., and Godt, M. J. W. 1990. Allozyme diversity in plant species. In brown, A. H. D., Clegg, M. T., Kahler, A. L. and Weir, B. S. (Eds) Plant population genetics, breeding and genetic resources. Sinauer Assocates Inc., Sunderland, Massachusetts. USA.

10-Hunter, R. L. and Markert, C. L. 1957. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. *Science.* **125**:1294-1295.

11-Kim, Z. S. 1979. Inheritance of leucine aminopeptidase and phosphate isozymes in beech (*Fagus sylvatica* L.). *Silvae Genetica.* **28(2-3)**: 68-71.

12-Konnert, M. 1995. Investigation on the genetic variation of beech (*Fagus sylvatica* L.) in Bavaria. *Silvea Genetica.* **44(5-6)**: 346-351.

Archive of SID

www.SID.ir

13-Leonardi, S. and Menozzi, P. 1995. Genetic variability of *Fagus sylvatica* L. in Italy: the role of post-glacial recolonization. *Heredity*, **75**: 35-44.

14-Longauer, R. 1996. Genetic diversity of European silver fir (*Abies alba* Mill). Ph.D thesis Tachniká Univerzita vo Zvolene. 154 p.

15-Merzeau, D., Di Giusto, F., Comps, B., Theibaut, B., and Letouzey, J. and Cuguen, J. 1989. The allozyme variants of beech (Fagus Sylvatica L.): Inheritance and application to a study of the mating system. *Silvae Genetica*. **38**: 195-201.

16-Müller-Starck, G. 1985. Genetic differences between "tolerant" and "sensitive" beeches (*Fagus sylvatica* L.) in an environmentally stressed adult forest stand. *Silvea Genetica*. **34 (6)**: 241-247.

17-Müller-Starck, G. and Starke, R. 1993. Inheritance of isozymes in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *J. Hered*. **84**: 291-296.

18-Paganelli, A., Paganelli-Capelleti, E. M. and De Battisti, T. 1973. Attivita deidrogenasia di gemme di Faggio durante el riposp e la reprisa vegetative. Publ. Centro Speriment. *Agric forest.* **12**: 153-161.

19-Paule, L., Gömöry, D. and Vyšny, J. 1995. Genetic diversity and differentiation of beech populations in Eastern Europe. In: Madsen, S. (Eds). Genetics and silviculture of beech. *Forskningsserien (Copenhagen)*. **11**: 159-167.

20-Raymond, M. and Rousset, F. 1995. An exact test of population differentiation. *Evolution*. **49**: 1280-1283.

21-Rossi, P., Vendramin, G.G., Giannini, R. 1996. Estimation of mating system parameters in two Italian natural populations of *Fagus sylvatica. Can. J. For.* 26.

Archive of SID

www.SID.ir

22-Smithies, O. 1955. Zone electrophoresisin starch gels: group variations in the serum proteins of normal individuals. *Biochem. J.,* **61**:629-641.

23-Tanksely, S. D. 1983. Molecular markers in plant breeding. Plant mol. Biol. Rep., **1**: 3-8.

24-Thiébaut, B., Lumaret, R. and Vernet, P.H. 1982. The bud enzymes of beech (*Fagus sylvatica* L.) Genetic distinction and analysis of polymorphism in several French populations. *Silvea Genetica*,**31**: 51-60.

25-Thiébaut, B., Cuguen, J., Comps, B., and Merzeau, D. 1986. Influence du mode reproduction sur la structure génétique des populations' d'arbers anémophiles: le cas du hêtre (*Fagus sylvatica* L.). Coll. Nat. CNRS "Biologie dse populations", Lyon,: 518-527.

26-Vyšnỳ, J. 1997. Genetic diversity and differentiation of beech populations in the Eastern Europe. Kandidátska dizertačná práca Tachniká Univerzita vo Zvolene, 154 p.

27-Wang, X.-R. and Szmidt, A. E. 2001. Molecular markers in population genetics of forest trees. *Scand. J. For. Res*. **16**: 199-220.

28-Wendel, J. F. and Weeden, N. F. 1989. Visualization and interperetation of plant isozymes. In: Soltis, D. E. and Solits, P. S. (Eds). Isozymes in plant biology,: 5-45. Chapman and hall, London.

29-Young, A., Boshier, D., and Bayle, T. 2000. Forest conservation Genetics: Principles and Practice. CSIRO Publishing. **1**: 102-290.

Archive of SID

www.SID.ir