دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۶، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۱۸۱-۱۷۲ (۱۳۸۷)

مطالعه تنوع ژنتیکی بلوط ایرانی *Quercus branti* Lindl. در جوامع مختلف ارتفاعی استان کهکیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره (SSR)[1]

رقیه ذوالفقاری[1]، مسلم اکبری نیا[2]*، محسن مردی[3] و فائزه قناتی[4]

۱ – دکتری جنگل داری، دانشگاه یاسوج
۲* – نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس نور، پست الکترونیک: Akbarinia@modares.ac.ir
۳ – استادیار، بخش ژنومیکس، مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج
٤ – دانشیار گروه زیست گیاهی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

تاریخ دریافت:۱۳۸۷/۵/۲۰ تاریخ پذیرش:۱۳۸۷/۸/۲۳

چکیده:

مطالعه تنوع ژنتیکی بلوط ایرانی در جنگل‌های زاگرس و نیز ترکیب این تنوع ژنتیکی امری ضروری به شمار می‌آید. به این منظور برگ ۵۲ درخت از ارتفاعات مختلف استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری گردید. پس از استخراج DNA ژنومی، تنوع ژنتیکی بین و داخل جوامع ارتفاعی با استفاده از ۵ جفت آغازگر ریزماهواره ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده در تمام آغازگرهای مورد استفاده کمتر از میزان مورد انتظار برای این گونه بود. همچنین جوامع درختی طبقات ارتفاعی میانی تنوع ژنتیکی بالاتری را نسبت به جامعه درختان طبقات ارتفاعی پایین و بالای خود نشان دادند. تفاوت ژنتیکی بین جوامع مختلف ارتفاعی نیز با استفاده از آغازگرهای مختلف بسیار اندک ولی معنی‌دار بود. جامعه درختان طبقه ارتفاعی پایین نیز بیشترین فاصله ژنتیکی را با جامعه درختان طبقات ارتفاعی دیگر نشان دادند. همچنین تنوع ژنتیکی برای این گونه با استفاده از آغازگر zag۹ حداقل میزان را نسبت به آغازگرهای دیگر داشت. آغازگر zag ۱۱۹ نیز توانست تفاوت ژنتیکی بین جوامع مختلف ارتفاعی را نسبت به آغازگرهای دیگر بهتر نشان دهد.

کلمات کلیدی: بلوط ایرانی، تنوع ژنتیکی، جوامع ارتفاعی و نشانگر ریزماهواره

مقدمه

گونه بلوط ایرانی *Quercus branti* Lindl بومی مناطق معتدله آسیا می‌باشد و در غرب آسیا شامل ایران عراق، سوریه و ترکیه پراکنش دارد. این گونه یکی از مهمترین گونه‌های چوبی تشکیل دهنده جنگلهای زاگرس محسوب می‌شود. جنگلهای زاگرس در اثر عوامل زیادی مانند رشد جمعیت، نیاز به زمین برای کشاورزی، بهره برداری از جنگل به وسیله ساکنان آن و افزایش تقاضا به چوب برای مصارف ساختمانی و سوخت در حال تخریب می‌باشند (Ghazanfari *et al.*, 2004). در واقع کشاورزی ناپایدار و چرای شدید در این جنگلها می‌تواند موجب تخریب تنوع ژنتیکی گونه بلوط ایرانی شود. از طرف دیگر تنوع ژنتیکی موجود در گونه‌ها و نیز ترکیب این تنوع ژنتیکی، پایداری اکوسیستم‌ها را تعیین می‌کند (Ziehe & Müller Stark, 1991). از طرفی انتخاب

۱- این مقاله ار رساله دکترای نویسنده اول در رشته جنگلداری دانشگاه تربیت مدرس استخراج شده است

Archive of SID
www.SID.ir

جمعیت‌ها یا توده‌هایی که تنوع ژنتیکی بالاتری دارند، می‌تواند برای حفاظت ژنتیکی مناسب باشد (Greet *et al.*, 1998). زیرا به واسطه تغییرات اقلیم در سطح جهان، درختان به وسیله حوادث طبیعی حاد مثل سیل یا خشکی در معرض تهدید می‌باشند و جمعیت‌های گیاهی که دارای تنوع ژنتیکی بیشتری هستند بهتر می‌توانند در مقابل این عوامل مقاومت کنند (Ngulube *et al.*, 1997). جنس بلوط نیز در طول دوره زندگی طولانی ۲۰۰ سال یا بیشتر خود باید با شرایط محیطی ناهمگون سازگار شود، بنابراین تنوع ژنتیکی یک نقش تعیین کننده برای این گونه دارد تا بتواند در محیط‌های متفاوت زمانی و مکانی زنده بماند (Mueller Stark, 1991 & Ziehe). از طرف دیگر امروزه مطالعات عملی در مباحث اکولوژی و تکامل اغلب وابسته به سنجش دقیق تنوع ژنتیکی است (Mueller&Wolfenbarge, 1999). از این رو مدیریت و حفاظت بهتر اکوسیستم جنگل نیازمند آگاهی از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌باشد (Epperson, 1992). برای رسیدن به این اهداف نشانگرهای ژنتیکی می‌توانند به عنوان ابزاری ضروری در توصیف و کمی‌کردن تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها می‌باشند (Avise, 1994).یکی از این نشانگرهای مولکولی بر پایه PCR، نشانگر ریزماهواره می‌باشد که به طور گسترده‌ای در مطالعات ژنتیک گیاهی در سالهای اخیر استفاده می‌شود (Senior & Heun, 1993). در یوکاریوت‌ها توالی‌های رمز شونده (coding sequence) فقط بخش محدودی از DNA را در بر می‌گیرند. در حقیقت بخش عمده‌ای از DNA را توالی‌های غیر رمز شونده تشکیل می‌دهد که عمل و نقش آن‌ها دقیقا مشخص نشده است. قسمت عمده این توالی‌های غیر رمز شونده را در DNA ردیف‌های پشت سرهم تکرار شونده (tandem repetitive) تشکیل می‌دهد (نقوی و همکاران، ۱۳۸٤) و ریزماهواره دارای این توالی‌های تکراری ساده می‌باشد. توالی تکراری ساده در میکروساتلایت شامل ۲ تا ٦ نوکلئوتید می‌باشد، اما معمولا ۲ یا ۳ نوکلئوتید دارد. در حال حاضر این نشانگر به عنوان یک نشانگر کامل برای گونه-های مختلف بلوط مورد توجه است (Muir& Schlötterer, 2005) و همچنین این نشانگر یک ابزار قوی برای تخمین جریان ژن درون‌گونه‌ای، خارج‌گونه‌ای و ساختار ژنتیکی داخل جمعیت‌ها است (Down & Ashley, 1998). اختلاف در تعداد تکرارها در ریز ماهواره عموما به وسیله تفاوت در اندازه قطعات تکثیر شده شناخته می‌شود (Tatuz, 1989). در واقع میزان بالای تنوع و هم بارز بودن این نشانگر سبب می-شود که به عنوان یک نشانگر ایده‌آل برای تنوع بین گونه‌ای و ساختار ژنتیک جمعیت بین گونه‌های چوبی اس‌تفاده شود (Cottrell *et al.*, 2003).

بنابراین با توجه به مطالب بالا در این تحقیق سعی شد تا تنوع ژنتیکی بین پایه‌های مختلف بلوط ایرانی واقع در جنگلهای استان کهگیلویه و بویر احمد و نیز تفاوت‌های ژنتیکی بین ارتفاعات مختلف این استان با استفاده از نشانگر مولکولی ریز ماهواره بررسی شود تا سپس بتوان از این اطلاعات برای حفاظت ژنتیکی و مدیریت بهتر این جنگلها استفاده نمود.

مواد و روشها

برای انجام این تحقیق در مرداد ماه برگ ۵۲ درخت بذرده بلوط ایرانی با حداقل فاصله ۵۰۰ متری درختان از یکدیگر و از ارتفاع ۷۰۰ تا ۲۷۰۰ متری (قرار گرفته در ٤ طبقه ارتفاعی) مناطق مختلف جنگلهای استان کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری و در دمای٤°C به آزمایشگاه منتقل شدند (جدول۱). نمونه‌های برگ درختان تا قبل از زمان استخراج DNA در دمای ۸۰°C- نگهداری شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱- مشخصات مکانی و اقلیمی مناطق ارتفاعی مختلف از منطقه مورد مطالعه

طبقه ارتفاعی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	تعداد نمونه	میانگین درجه حرارت سالیانه (^{0}c)	میانگین بارندگی سالیانه (mm)
پایین	۱۲۰۰-۷۰۰	۱۰	۲۱/۷	٥٦۰/٥
میانی	۱۷۰۰-۱۲۰۰	۱۳	۱٥/۸	٦۳٦/۳
بالا	۲۲۰۰-۱۷۰۰	۲۰	۱۳/۷	۷٦۸/٥
خیلی بالا	۲۷۰۰-۲۲۰۰	۹	-	۷۰۸/۷

استخراج DNA با استفاده از کیت ۹٦ تایی استخراج DNA (Qiagen،Hilden، Germany) انجام شد. برای این کار DNA حدود ۰/۱ گرم برگ منجمد شده از درختان براساس روشی که در دستور کار کیت بود استخراج شد. در این تحقیق از ٥ جفت آغازگر برای تجزیه مولکولی درختان بلوط استفاده شد. مشخصات این آغازگرها در جدول ۲ آورده شده است. سپس برای تکثیر با PCR نیز محلول واکنش با حجم نهایی ۱٥ میکرولیتر تهیه گردید که شامل ۲ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت حدود ۱۰ نانوگرم، ۷/٥ میکرولیتر محلول واکنش Qiagen (Master Mix) ۲واحد در میکرولیتر، ۲ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای چپ و راست با غلظت ٥ پیکو مولار و ۱/٥ میلی لیتر آب مقطر بود. چرخه حرارتی PCR نیز شامل مرحله تقلیب (denaturation) در دمای ۹٥°c برای ۱٥ دقیقه و به دنبال آن مرحله اتصال (annealing) ۳٥ بار چرخه (۹٤°c برای ۱ دقیقه، ٥۱/٥٥°c برای ٤٥ ثانیه و ۷۲°c برای ۱ دقیقه) و سپس مرحله نهایی یا طویل شدن (extension) که ۷۲ °c برای مدت ۲۰ دقیقه بود. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از دستگاه PCR مدل ۲۰۰ -PT C، (Mj Research) انجام شد. سپس محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با ژل آگارز ۱/٥ درصد چک شدند. محصول PCR نمونه‌های حاوی باند بر روی ژل آگارز، به منظور مشاهده و ارزیابی دقیق اندازه باندهای حاصل از تکثیر آغازگرها، با استفاده از توالی یاب خودکار ABI prism مطالعه شدند.

جدول ۲- فهرست آغازگرهای مورد استفاده

نام آغازگر	واحد تکرار شونده	توالی آغازگر	دمای ذوب
ssrQPZAG۱٥	$(GA)_{۲۳}$	**'۳'- cgatttgataatgacactatgg -٥F** **'۳'- catcgactcattgttaagcac-٥R**	٥۱
ssrQPZAG۹	$(GA)_{۱۲}$	**'۳'- gcaattacaggctaggctgg -٥F** **'۳'- gtctggacctagccctcatg-٥R**	٥٥
ssrQPZAG۳٦	$(GA)_{۱۹}$	**'۳'- gatcaaaatttggaatattaagagag -٥F** **'۳'- actgtggtggtgagtctaacatgtag-٥R**	٥٥
ssrQPZAG۱۱۹	$(AG)_{۲٤}$	**'۳'- gatcagtgatagtgcctctc -٥F** **'۳'- gatcaacaagcccaagccac-٥R**	٥٥
ssrQP ZAG۱-٥	$(GT)_٥$ $(GA)_۹$	**'۳'- gcttgagagttgagatttgt-٥F** **'۳'- gcaacacccttttaactacca-٥R**	٥۱

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده از آغازگرهای مختلف به وسیله نرم افزار Genealex ٦ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پارامترهای ژنتیکی مانند تعداد الل، تعداد الل مؤثر، شاخص شانون، هتروزیگوتی مشاهده شده، هتروزیگوتی مورد انتظار، جریان ژن، نقص هتروزیگوتی و تفاوت ژنتیکی بین جوامع مختلف ارتفاعی (FST)[1] برای هر یک از آغازگرهای مطالعه شده به صورت جداگانه محاسبه شد. همچنین درصد اللهای پلی‌مورفیسم، تعداد الل در هر جایگاه ژنی، تعداد الل مؤثر، تعداد اللهای خصوصی، شاخص شانون و هتروزیگوتی با استفاده از تمامی آغازگرهای مطالعه شده برای هر یک از جوامع ارتفاعی محاسبه شد. انحراف از قانون هاردی واینبرگ نیز برای آغازگرهای مختلف در هر یک از جوامع مختلف ارتفاعی به صورت جداگانه محاسبه شد. فاصله ژنتیکی بر اساس فرمول Nei (1978) نیز بین جوامع مختلف ارتفاعی بر اساس آغازگرهای مطالعه شده محاسبه شد. همچنین از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای یافتن ساختار ژنتیکی معنی‌دار بین جوامع مختلف ارتفاعی استفاده شد (Schneider et al., 2000).

نتایج

نتایج حاصل از تنوع ژنتیکی به‌دست آمده بر اساس ٦٣ الل مشاهده شده از ۵ آغازگر مختلف نشان داد که تنوع ژنتیکی موجود در گونه بلوط شامل تعداد الل، تعداد الل مؤثر و میانگین هتروزیگوسیتی در آغازگرهای مختلف با هم متفاوت بودند (جدول۳). آغازگر ۹ کمترین مقدار و آغازگر ۱۵ بیشترین میزان تنوع ژنتیکی را از لحاظ تعداد الل مؤثر و میانگین هتروزیگوتی دارا بود. همچنین گونه بلوط با استفاده از تمامی آغازگرها نقص هتروزیگوتی را نشان داد، اما آغازگر ۹ از این لحاظ با تفاوت قابل ملاحظه‌ای بیشترین میزان نقص هتروزیگوتی را نسبت به سایر آغازگرها داشت. جریان ژن بین جوامع با استفاده از تمامی آغازگرهای مطالعه شده بالا و تفاوت ژنتیکی بین جوامع ارتفاعی مختلف (FST) پایین بود. آغازگر ۱۱۹ بالاترین میزان FST و آغازگر ۵-۱ کمترین میزان FST را نشان داد (جدول۳).

جدول ۳- پارامترهای مختلف تنوع ژنتیکی با استفاده از آغازگرهای متفاوت SSR برای تمام درختان بلوط منطقه مورد مطالعه

پارامترهای تنوع ژنتیکی	آغازگرهای مختلف نشانگر ریزماهواره					
	۱۵	۹	۳٦	۱۱۹	۵-۱	میانگین
تعداد الل	۱۳	۹	۱۳	۲۲	٦	٦/۱۲
تعداد الل مؤثر	٦/۳۷	۲/۹۷	۵/۲٦	۵/۱٤	٤/۰۵	٤/۷٦
شاخص شانون	۲/۰۹	۱/۳۹	۲/۰۳	۲/۳٦	۱/۵۳	۱/۸۸
میانگین هتروزیگوتی	۰/۷۹	۰/٦۳	۰/۷۵	۰/٦۵	۰/۷۲	۰/۷۱
هتروزیگوتی مورد انتظار	۰/۸۵	۰/٦۷	۰/۸۱	۰/۸۱	۰/۷٦	۰/۷۸
هتروزیگوتی مشاهده شده	۰/٤۱	۰/۱۲	۰/٤۱	۰/۳۹	۰/٤۱	۰/۳۵
جریان ژن	٤/۱۷	۳/۸۹	۳/۱٤	۱/۵٦	٦/۷۲	۳/۰۲
نقص هتروزیگوتی	۰/٤۷	۰/۷۳	۰/٤٤	۰/٤۳	۰/٤۲	۰/٤۹
تفاوت ژنتیکی بین جوامع (FST)	۰/۰۵	۰/۰٦	۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۰۳	۰/۰۷

1- Fixation Index-Statistics (population genetics)

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج حاصل از میزان انحراف از معادله هاردی- واینبرگ نیز نشان داد که همه آغازگرهای مطالعه‌شده دارای انحراف از معادله هاردی – واینبرگ در هر یک از جوامع ارتفاعی گونه بلوط هستند. اما آغازگر ۹ در همه جوامع مختلف ارتفاعی مطالعه شده به جز طبقه ارتفاعی پایین انحراف از معادله هاردی- واینبرگ را نشان داد (جدول ٤).

جدول ٤- انحراف از قانون هاردی واینبرگ برای هر یک از آغازگرهای مختلف SSR در جوامع مختلف ارتفاعی منطقه مطالعه شده (جوامع دارای انحراف از قانون هاردی واینبرگ برای هر آغازگر با X مشخص شده‌اند)

آغازگرهای مختلف نشانگر ریزماهواره	طبقات ارتفاعی مختلف (متر)			
	پایین	میانی	بالا	خیلی بالا
۱۵			X	
۹		X	X	X
۳٦				X
۱۱۹	مونومورفیک		X	
۱-۵			X	

مقادیر مختلف تنوع ژنتیکی برای جوامع ارتفاعی مختلف نیز نشان داد که در بین طبقات ارتفاعی مختلف کمترین میزان تعداد اللهای پلی‌مورفیک در درختان طبقه ارتفاعی پایین وجود دارد (جدول۵). همچنین درختان طبقه ارتفاعی میانی و بالا مقادیر تنوع ژنتیکی بالاتری را که شامل چندشکلی، هتروزیگوتی، شاخص شانون و تعداد الل مشاهده شده و الل مؤثر بود از درختان طبقه ارتفاعی پایین و خیلی بالا داشتند (جدول۵).

جدول۵- پارامترهای مختلف تنوع ژنتیکی با استفاده از آغازگرهای مختلف برای جوامع مختلف ارتفاعی منطقه مورد مطالعه

پارامترهای تنوع ژنتیکی	پایین	میانی	بالا	خیلی بالا
درصد اللهای پلی مورفیک	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
میانگین تعداد الل در هر جایگاه ژنی	٤/٤	٦	۵/۲	٤/۲
میانگین تعداد الل مؤثر در هر جایگاه ژنی	۰/۵۷٦	۰/۸۳٤	۱/٦۹	۰/۷۳۱
شاخص شانون	۱/۱۰۸	۱/٦	۱/۵۹٤	۱/۱
اللهای خصوصی	۰/٤	۱/٦	۱/۸	۱
هتروزیگوتی	۰/۵٤	۰/۷۵	۰/۷۱	۰/۵۷

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی AMOVA نیز نشان داد که تفاوت ژنتیکی بین جوامع (FST) در این گونه پایین و حدود ۸ درصد می‌باشد و بیشترین تفاوت ژنتیکی داخل جوامع وجود دارد و نیز این تفاوت ژنتیکی بین جوامع بر اساس تجزیه واریانس معنی‌دار بود (جدول ٦).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ٦: جدول تجزیه واریانس مولکولی AMOVA برای تفاوت ژنتیکی بین جوامع ارتفاعی (FST) منطقه مورد مطالعه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	FST	سطح احتمال
میان جوامع	۳	٤/٦١	۸	
داخل جوامع	۷٦	۱/۷٦	۹۲	۰/۰۱
کل	۷۹	٦/۳٦		

همچنین مقایسه جوامع مختلف ارتفاعی با یکدیگر نیز نشان داد که درختان طبقه ارتفاعی پایین از لحاظ ساختار ژنتیکی تفاوت معنی‌دار با جوامع درختی ارتفاعات دیگر دارند. همچنین از لحاظ فاصله ژنتیکی بین درختان جوامع مختلف نیز درختان طبقه ارتفاعی پایین فاصله ژنتیکی بیشتری را با درختان طبقات ارتفاعی دیگر داشتند و کمترین فاصله ژنتیکی نیز بین درختان طبقه ارتفاعی بالا و خیلی بالا مشاهده شد (جدول۷).

جدول ۷- ماتریس تفاوت ژنتیکی بین جوامع (FST) در بالا و ماتریس فاصله ژنتیکی Nei در پایین به وسیله آغازگرهای مختلف

	پایین	میانی	بالا	خیلی بالا
پایین		۰/۱۳۸**	۰/۱۱۸**	۰/۱٦۲**
میانی	۰/٦۷٦		۰/۰۰۲	۰/۰٦٦
بالا	۰/٤٤	۰/۲۳		۰/۰۳۸
خیلی بالا	۰/٤۹٥	۰/۳۸	۰/۱۹۱	

بحث

بر اساس نتایج به دست‌آمده با استفاده از آغازگرهای مختلف به نظر می‌رسد که گونه بلوط ایرانی در جایگاه ژنی مطالعه شده به وسیله آغازگر ۱۵ جهش بالاتری نسبت به جایگاه ژنهای مطالعه شده دیگر دارد. زیرا مطالعات نشان داده است که هر چه تنوع ژنتیکی و فراوانی الل میان جوامع افزایش یابد، آن جایگاه ژنی دارای جهش بیشتری است (Bowcock *et al.*, 1991; Allendorf & Seeb, 2000). میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده در این گونه با استفاده از آغازگرهای مختلف ۰/۳۵ بود که کمتر از میانگین هتروزیگوتی مشاهده شده در جوامع مختلف *Quercus robur* و *Quercus petrea* (۰/۸۲ و ۰/۷۹) بود (Cottrell *et al.*, 2003). کمتر بودن میزان هتروزیگوتی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوتی مورد انتظار نیز در این گونه می‌تواند مؤید این مطلب باشد که تنوع ژنتیکی گونه بلوط ایرانی بسیار پایین می‌باشد و باید توجه بیشتری به این گونه از لحاظ تنوع ژنتیکی نمود. همچنین با توجه به اینکه بالاترین میزان نقص هتروزیگوتی (هموزیگوتی زیاد) را با استفاده از آغازگر ۹ مشاهده شد، باید توجه بیشتری به تنوع ژنتیکی این گونه بر اساس این آغازگر داشت و سعی در جنگل کاری با بذر آن پایه‌های مادری نمود که از نظر آغازگر ۹ دارای هتروزیگوتی بالاتری هستند و نیز جوامعی از این گونه که از این نظر دارای تنوع ژنتیکی بیشتری هستند حفظ شوند.

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین با توجه به اینکه بیشترین میزان جریان ژن بین جوامع ارتفاعی مختلف و به تبع آن کمترین تفاوت ژنتیکی بین آن جوامع (FST) در آغازگر ۵ـ۱ مشاهده شد، این آغازگر نمی تواند برای تشخیص تفاوت‌های ژنتیکی بین گونه‌های مختلف یا بین جوامع محیطی متفاوت نسبت به آغازگرهای دیگر مناسب باشد. مطالعه بر روی *Quercus robur* و *Quercus petrea* نیز نشان داد که فراوانی اللهای این آغازگر بین دو گونه متفاوت نبود (Bruschi *et al.*, 2000). اما با توجه به اینکه آغازگر ۱۱۹، FST بالاتری را نسبت به دیگر آغازگرهای مطالعه شده نشان داد، بهتر می‌تواند تفاوتهای بین جوامع را نشان دهد. همچنین می‌توان این آغازگر را برای مطالعه شناسایی گونه‌های مختلف بلوط پیشنهاد نمود. مقایسه بین جوامع *Quercus robur* و *Quercus petrea* نیز نشان داد که آغازگر ۱۱۹ بیشترین میزان FST را نسبت به آغازگرهای دیگر مانند ۵ـ۱، ۹، ۱۵ و ۳۶ داشت (Muir& Schlötterer, 2005). همچنین به نظر می‌رسد که این نشانگر به علت دارا بودن FST بالاتر، بیشتر فشارهای انتخابی را که عوامل محیطی ناشی از ارتفاع از سطح دریا سبب آن می‌شود، نشان می‌دهد و در نتیجه دارای ارزش سازگاری بیشتری می‌باشد. زیرا FST یک همبستگی مثبت با ویژگی‌های کمی و ویژگی‌های سازگاری در جوامع مختلف دارد (Merilä & Crokrak, 2001).

مونومورفیک بودن آغازگر ۱۱۹ نیز موجب کاهش درصد الهای پلی‌مورفیک درختان طبقه ارتفاعی پایین نسبت به درختان طبقات ارتفاعی دیگر شد. همچنین درختان طبقه ارتفاعی میانی و بالا نسبت به درختان طبقه ارتفاعی پایین و خیلی بالا تنوع ژنتیکی بالاتری را داشتند که این می‌تواند به دو دلیل باشد: ۱- جریان ژن بالا در درختان این طبقات ارتفاعی نسبت به طبقات ارتفاعی پایین و خیلی بالا ۲- درختان این طبقات ارتفاعی (میانی و بالا) در شرایط محیطی بهتری نسبت به درختان ارتفاعات پایین و خیلی بالا قرار دارند. زیرا درختان طبقه ارتفاعی پایین در شرایط اکولوژیک سخت تر از لحاظ دما و تابستان خشک بسر می‌برند. همچنین این منطقه قشلاق عشایر می‌باشد و تخریب چرای دام نیز در این منطقه زیاد می‌باشد و در طبقه ارتفاعی خیلی بالا نیز درختان همراه با ارس قرار دارند و بنظر می‌رسد خاک در این ارتفاع کم عمق است و نیز به دلیل بالا بودن ارتفاع این منطقه، میزان شدت نور خیلی بالا می‌باشد. این شرایط نامساعد محیطی می‌تواند سبب رانش ژنتیکی برای درختان باقیمانده در ارتفاعات پایین و خیلی بالا شود و تنوع ژنتیکی را در آنها کاهش دهد (Barrett & Kohn, 1991).

همچنین پایین بودن تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌ها (FST) نیز می‌تواند به این دلیل باشد که این گونه مانند سایر گونه‌های درختی دارای دگرگشنی و طول عمر بالا می‌باشد و جریان ژن بسیار بالا در این گونه اتفاق می‌افتد که سبب کاهش اختلاف بین جمعیت‌ها می‌شود (Schnäbel & Hamrick, 1990). از طرف دیگر بالاترین میزان فاصله ژنتیکی و تفاوت ژنتیکی بین درختان منطقه ارتفاعی پایین با درختان جوامع ارتفاعی دیگر می‌تواند در اثر موانع اکولوژیکی باشد که جریان ژن بین درختان این منطقه را با دیگر نقاط کاهش می‌دهد و باید به این جامعه توجه بیشتری از لحاظ حفاظت ژنتیکی نمود تا از تنوع ژنتیکی آن کاسته نشود. اما درختان طبقات ارتفاعی دیگر به خصوص طبقه

Archive of SID

www.SID.ir

ارتفاعی بالا و خیلی بالا به دلیل امکان تبادل ژن بیشتر با یکدیگر فاصله ژنتیکی کمتری را نشان دادند.

بنابراین بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان پیشنهاد نمود که بهترین جامعه ارتفاعی درختان بلوط ایرانی از لحاظ تنوع ژنتیکی جامعه درختان ارتفاع میانی و بالا می‌باشد که رویشگاه اصلی بلوط ایرانی نیز می‌باشند و باید به حفاظت این مناطق توجه زیادی نمود. همچنین می‌توان برای احیای مناطق مخروبه از بذر درختان این مناطق استفاده نمود تا جنگلکاریها از تنوع بالایی برخوردار شوند. جامعه درختان طبقه ارتفاعی پایین هم به دلیل متفاوت بودن با دیگر جوامع باید بیشتر مورد حفاظت ژنتیکی قرار گیرند و سعی شود تا بذر مناطق دیگر در صورت امکان به این منطقه آورده شود تا بر تنوع ژنتیکی آنها افزوده شود.

منابع مورد استفاده

–نقوی، م.ر.، قره یاضی، ب. و حسینی سالکده، ق.، ۱۳۸٤. نشانگرهای مولکولی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ اول، ۳۲۰ص.

–Allendorf, W.F., 1983. Isolation, gene flow, and genetic differentiation among populations: 51-65. In: Schonewald-Cox, C.M., Chambers, S.M., MacBryde, B. and Thomas, W.L., (Ed.). Genetics and Conservation. The Benjamin Cummings Publishing Company, Menlo Park, 722 p.

–Avise, J.C., 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York, 528 p.

–Barrett, S.C.H. and Kohn, J.R., 1991. Genetics and evolutionary consequences of small population size in plant: implications for conservation: 3-30. In: Falk, D.A. and Holsinger, K.E., (Ed.), Genetics and Conservation of Rare Plants. Oxford University Press, Oxford, 304 p.

–Bowcock, A.M., Kidd, J.R., Mountain, J.L., Hebert, J.M., Carotenuto, L., Kidd, K.K. and Cavalli-Sforza, L.L., 1991. Drift, admixture and selection in human evolution: A study with DNA polymorphisms. Proc. Nat. Acad. Sci., 88: 839-843.

–Bruschi, P., Vendramin, G.G., Bussotti, F. and Grossoni, P., 2000. Morphological and molecular differentiation between *Quercus petreae* (Matt.) Liebl. and *Quercus Pubescens* Willd. (*Fagaceae*) in northern and central Italy. Annals of Botany, 85: 325-333.

–Cottrell, J.E., Munro, R.C., Tabbener, H.E., Milner, A.D., Forrest, G.I. and Lowe, A.J., 2003. Comparison of fine-scale genetic structure using nuclear microsatellites within two British oakwoods differing in population history. Forest Ecology and Management, 176: 287-303.

–Down, B.D. and Ashley, M.V., 1998. High levels of gene flow in burr oak revealed by paternity analysis using microsatellite. Journal of Heredity, 89: 62-70.

–Epperson, B.K., 1992. Spatial structure of genetic variation within populations of forest trees. New Forests, 6: 257-278.

–Ghazanfari, H., Namiranian, M., Sobhani, H. and Mohajer, R. M. 2004. Traditional Forest Management and its Application to Encourage Public Participation for Sustainable Forest Management in the Northern Zagros Mountains of Kurdistan Province, Iran. Scandinavian Journal of Forest Research, 19 (4):65 – 71.

–Greet, B.D., Triest, L., Cuyper, B.D. and Slyckens, J.V., 1998. Assessment of intraspecific variation in half-sibs of *Quercus petraea* (Matt) Liebl. `plus´ trees. Heredity, 81: 284-290.

–Merilä, J. and Crokrak, P., 2001. Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. Journal of Evolutionary Biology, 14: 892-903.

–Mueller, U.G. and LaReesa Wolfenbarger, L., 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. Tree, 14: 389-394.

–Muir, G. and Schlötterer, C., 2005. Evidence for shared ancestral polymorphism rather than recurrent gene flow at microsatellite loci differentiating two hybridizing oaks (*Quercus spp*.). Molecular Ecology, 14: 549-561.

Archive of SID

www.SID.ir

–Nei, M., 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York.

–Ngulube, M.R., Hall, J.B. and Maghembe, J.A., 1997. Fruit, seed and seedling variation in *Uapaca kirkiana* from natural populations in Malawi. Forest Ecology and Management, 98: 209-219.

–Schnäbel, A. and Hamrick, J.L., 1990. Comprative analysis of population genetic structure in *Quercus macrocarpa* and *Q. gambelii* (*Fagaceae*). Systematic Botany, 15: 240-251.

–Schneider, S., Roessli, D. and Excoffier, L., 2000. Arlequin: A Software for population genetics data analysis Version 2.000. Genetics and Biometry Laboratory. Dep. Of Anthropology, University of Geneva, Switzerland.

–Senior, M.L. and Heun, M., 1993. Mapping maize microsatellites and polymerase chain reaction confirmation of the targeted repeats using a CT primer. Genome, 36: 884-889.

–Tatuz, D., 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source of polymorphic DAN markers. Nucleic Acids Research, 17: 6463-6471.

–Ziehe, M., Müller-Starck, G., 1991. Changes of genetic variation due to associated selection: 175-189. In: Mueller-Starck, G., Ziehe, M., (Eds). Genetics Variation in European Populations of Forest Tress. Sauerla¨nder, Frankfurt, 286 p.

Archive of SID

www.SID.ir

Genetic diversity in Persian oak (*Quercus branti* Lindl) from Kohkiluye and Boyerahmad using SSR

R. Zolfaghari [1], M. Akbarinia [2*] and M. Mardi [3] F. Ghanati[4]

1- PhD, Faculty of Natural Resource, University of Yasooj, Yasooj, I.R.Iran.
2* - Corresponding Author, Assoc. Prof., Faculty of Natural Resource, University of Tarbiat Modarres, Noor, I.R.Iran.
E-Mail: Akbarinia@modares.ac.ir
3 – Assis. Prof., Department of Genomics, Agricultural Biotechnology Research Institute, Tehran, I.R.Iran.
4 - Assoc. Prof., Department of Science, University of Tarbiat Modarres , Tehran I.R.Iran.

Received: 10.08.2008 Accepted: 13.11.2008

Abstract:

Evaluation of genetic diversity of Persian oak is necessary from viewpoint of germplasm conversation and optimized management in Zagros forests in Iran. Genomic DNA was extracted from leaves of 52 trees belonging to different altitudes of Kohgiluye and Boyerahmad province. Intra-specific genetic variation was analyzed through microsattelite marker using 5 pairs of SSR primers. Results showed that mean of observed heterozygosity were lower than that of the expected one in all primers for Persian oak. Trees of middle altitude populations had higher genetic diversity than those of low or high altitude populations. Genetic variation among different altitude populations (FST) by using different primer pairs was very low but it was significant. Trees of low altitude populations showed the highest genetic distance compared with other populations. Using zag 9 primer, the lowest genetic diversity was detected for the species. The highest genetic variation between populations from different altitudes (FST) achieved by zag 119.

Keywords: Persian oak, Genetic diversity, Populations and Microsatellite marker

Archive of SID

www.SID.ir