Archive of SID

فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۸، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۲٤-۱۱۵ (۱۳۸۹)

بررسی تنوع ژنتیکی نمونه‌های سروکوهی پارک ملی تندوره با استفاده از نشانگرهای مولکولی RAPD

منصوره کرمانی[1*]، سیدحسن مرعشی[2] و فریدون ملتی[3]

۱*- دکترا، بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد پست الکترونیک: mkermani20@yahoo.com
۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- مربی، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۸۸/۰۵/۰۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۰۳/۲۳

چکیده

جنس سروکوهی (*Juniperus sp.*) یا ارس (از خانواده Cupressaceae) یکی از پر انتشارترین گیاهان رده مخروطیان در جهان بوده که بومی نواحی معتدل اوراسیا و آمریکای شمالی می‌باشد. در این مطالعه از نشانگرهای مولکولی RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی ۲۱ نمونه سروکوهی پارک ملی تندوره (جمع‌آوری شده از ٦ رویشگاه که هر رویشگاه حاوی ۳ یا ٤ نمونه بود) استفاده شد. با استفاده از ۷ آغازگر تصادفی، ۵۸ باند قابل امتیازدهی ایجاد شد که ۳۳ عدد از آنها (۵۷٪) چند شکل بودند. فاصله ژنتیکی جفت نمونه‌ها بین ۰/۱۲۹ تا ۰/۷۸۸ متغیر بود. میانگین هتروزیگوسیتی (H_S) محاسبه شده برای نمونه‌های درون رویشگاه‌ها ۰/۲۱۳ و تنوع ژنتیکی کل (H_T) در بین تمامی نمونه‌ها ۰/۳۲٦ بود. شاخص Fst برابر با ۰/۳٤٦ و میزان جریان ژنی برابر با ۰/۹٤٤ بود. دندروگرام ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA، دو گروه اصلی را در بین شش رویشگاه سروکوهی مشخص کرد که با نقشه جغرافیایی پارک سازگاری خوبی داشته و نمودار دو بعدی حاصل از PCoA نیز آن را تأیید کرد. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر تنوع ژنتیکی درون هر رویشگاه خیلی بیشتر از تنوع ژنتیکی بین رویشگاه‌ها بود و آنالیز AMOVA نیز معنی‌دار بودن این تفاوت را تأیید کرد، و نیز به دلیل اینکه جریان ژنی بین رویشگاه‌ها به میزان نسبتاً خوبی بود، بنابراین، تبادلات ژنی بین این رویشگاه‌ها را می‌توان به سهولت انتقال دانه گرده از منطقه‌ای به منطقه دیگر با کمک باد، پرندگان، حشرات و ... نسبت داد.

واژه‌های کلیدی: سروکوهی، نشانگر مولکولی RAPD، تنوع ژنتیکی، دندروگرام.

مقدمه

جنس سروکوهی (*Juniperu* sp.) یا ارس از خانواده Cupressaceae یکی از پر انتشارترین گیاهان رده مخروطیان در جهان بوده که بومی نواحی معتدل اوراسیا و آمریکای شمالی می‌باشد(Earle, 2006). سروکوهی دارای تنوع گونه‌ای بالایی بوده و گونه‌های مختلف آن خواص و کاربردهای متعددی دارند؛ به ویژه چوب این درخت بعلت استحکام و دوام قابل توجه، در صنایع مختلف کاربرد دارد. مهمترین ویژگی این گیاه به لحاظ مصارف صنعتی و دارویی، تولید اسیدهای چرب و آمینواسیدهای ضروریست که در اکثر اندام‌های هوایی آن موجود می‌باشند (بهشتی، ۱۳۸٤).

www.SID.ir

Archive of SID

امروزه بحث انقراض گونه‌ها یک بحث جدی می‌باشد. گونه‌های کمیاب و در خطر انقراض معمولا سطوح پایینی از تنوع را نشان می‌دهند و کم بودن تنوع می‌تواند یکی از دلایل انقراض آنها باشد. تنوع ژنتیکی بالا باعث افزایش قابلیت زیست، افزایش موفقیت آمیزشی و در کل بقاء گونه می‌شود. بنابراین یکی از مهمترین ابزارها برای جلوگیری از انقراض گونه‌های در خطر انقراض افزایش تنوع ژنتیکی آنها می‌باشد (Fu *et al*., 2001). این تنوع در جمعیت‌های گیاهی ممکن است از طریق سازوکارهای متفاوتی نظیر جهش، نوترکیبی جنسی، مهاجرت و جریان ژن، رانده شدن ژنتیکی و گزینش ایجاد شود (هنری، ۱۳۸۰).

جنگل‌های سرو کوهی در ایران بیشتر از دو گونه *Juniperus polycarpus* و *Juniperus excelsa* تشکیل شده‌اند. این جنگل‌ها در گذشته بصورت انبوه و نیمه انبوه بوده ولی عدم مراقبت و بهره برداری بی‌رویه و ناهنجار، آن را به صورت کم پشت و پراکنده در آورده است. انتشار جغرافیایی این گیاه در کشورمان از البرز (کوه‌های بین چالوس و تهران)، شمال (زون فوقانی جنگل‌های ساحلی)، آذربایجان‌شرقی (رشته کوه بینالود، کوههای هزارمسجد تا ارتفاعات مرزی با ترکمنستان؛ بین مشهد وهرات)، نواحی مرکزی (کلال بختیاری)، جنوب و جنوب‌شرقی (کرمان بین کوه هزار و جوارون) می‌باشد (بهشتی، ۱۳۸٤).

در حال حاضر برای تعیین تنوع گروهی و نیز دسته‌بندی از نشانگرهای ژنتیکی استفاده می‌شود. در واقع از تفاوت موجود بین ردیف DNA کروموزوم‌های هر سازواره که از افراد به نتاج آنها منتقل می‌شود، می‌توان به‌عنوان نشانه یا نشانگر ژنتیکی استفاده کرد (قره‌یاضی، ۱۳۷۵).

در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های سروکوهی با استفاده از نشانگرهای RAPD انجام شده است. در سال ۱۹۹۳، ٤٤ تاکسا از سرو کوهی با استفاده از RAPD مقایسه شد و مشخص گردید که سه گروه در جنس *Juniperus* توسط این نشانگر تشخیص داده می‌شود (Adams & Demeke, 1993). در سال ۱۹۹۸ با استفاده از RAPD روابط ژنتیکی بین چند زیرگونه از *Juniperus commonis* بررسی شد (Vines, 1998). در سال ۲۰۰۳ با استفاده از ۱۲ جمعیت سروکوهی از قطب شمال، انگشت نگاری DNA انجام گردید و همه جمعیت‌های نیمکره غربی در یک دسته و جمعیت‌های نیمکره شرقی نیز در دسته دیگری گروه‌بندی شدند (Adams *et al*., 2003).

نشانگر RAPD یکی از انواع نشانگرهای مبتنی بر PCR است که بدلیل سادگی، نیاز به مقدار کم DNA، عدم بکارگیری مواد رادیواکتیو، سرعت کار، هزینه کم، عدم نیاز به تجهیزات آزمایشگاهی پیچیده، عدم نیاز به هضم DNA با آنزیم‌های محدودگر، تهیه و نشاندار کردن کاوشگر و یا اطلاعات اولیه در مورد توالی ژنوم مورد مطالعه، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. مجموعه این ویژگی‌های مثبت موجب شده که با وجود ابداع انواع نشانگرهای مولکولی دیگر در سطح DNA و علیرغم پایین بودن تکرارپذیری RAPD، این نشانگر همچنان اهمیت خود را به‌ویژه در مطالعه ژنوم‌های ناشناخته حفظ کند (چاولا، ۱۳۸۲). از آنجایی که این تکنیک برای تعیین تنوع ژنتیکی در گیاهان کارایی خوبی دارد، فرض بر این است که بتوان از آن در بررسی تنوع و گروه‌بندی جمعیت‌های مختلف سرو کوهی استفاده کرد.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روشها

در این مطالعه، نمونه‌های سروکوهی که براساس اصول رده‌بندی گیاهی و مطالعات انجام شده در منطقه، به‌عنوان گونه *Juniperus polycarpus* شناخته شده بودند (Adams, 2001)، از ٦ رویشگاه مختلف پارک ملی تندوره واقع در شمال استان خراسان رضوی بین عرض‌های جغرافیایی ´۱۸ °۳۷ تا ´۳۵ °۳۷ شمالی و طول‌های جغرافیایی ´۳۳ °۵۸ تا ´۵۷ °۵۸ شرقی که در طبقات ارتفاعی مختلفی از سطح دریا هستند جمع‌آوری شدند (شکل ۱). این رویشگاه‌ها عبارت بودند از: پاسگاه‌های محیط‌بانی درونگر، چهل میر،کوه قره لوکه، کوه شکرآب، دره خرخر و پاسگاه تیوان (جدول ۱).

شکل ۱- نقشه جغرافیایی پارک ملی تندوره که در آن محل جمع‌آوری نمونه‌ها مشخص شده است.

استخراج DNA ژنومی از برگ‌های گیاهی با استفاده از روش CTAB مخصوص گیاهان دارویی (Michiels *et al.*, 2003) انجام گردید. کمیت و کیفیت DNA بدست آمده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز و نیز اسپکتروفتومتری تعیین و تکنیک RAPD براساس روش آدامز انجام گردید (Adams *et al.*, 2006). آغازگرهای ۱۰ واحدی (جدول ۲) از شرکت Generay Biothch خریداری شدند. اجزای مخلوط واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۵ نانوگرم DNA ژنومی، ۰/۳٦µM آغازگر، بافر 1X PCR، dNTPs ۰/۲mM، MgCl2 ۲mM و 1U آنزیم *Taq* DNA Polymerase آماده گردید و تحت عمل چرخه حرارتی زیر

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مناطق جمع‌آوری نمونه‌های سروکوهی

نام رویشگاه	تعداد نمونه جمع‌آوری شده	علامت اختصاری
درونگر	۳	D1, D2, D3
چهل میر	۳	Ch1, Ch2, Ch3
کوه قره لوکه	٤	Gh1, Gh2, Gh3, Gh4
کوه شکرآب	٤	Sh1, Sh2, Sh3, Sh4
دره خرخر	۳	Kh1, Kh3, Kh4
پاسگاه تیوان	٤	B1, B2, B3, B4

قرار گرفت:

۹٤ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه به‌عنوان دمای ذوب اولیه، ۹۱ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، ٤۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، این چرخه حرارتی ٤۰ بار تکرار شد و بعد یک مرحله دیگر در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه به‌عنوان بسط نهایی انجام گردید.

جدول ۲- آغازگرهای استفاده شده برای واکنش RAPD در نمونه‌های DNA سروکوهی

نام آغازگر	توالی آغازگر
۱۵۳	5'- GAG TCA CGA G -3'
۲۴۹	5'- GCA TCT ACC G -3'
۳۳۸	5'- CTG TGG CGG T -3'
۳۴۰	5'- TAG GCG AAC G -3'
۳۴۷	5'- TTG CTT GGC G -3'
۳۷۵	5'- CCG GAC ACG A -3'
۴۳۱	5'- CTG CGG GTC A -3'

برای مشاهده الگوی باندی، محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۲٪ جداسازی گردید. برای تجزیه و تحلیل اطلاعات DNA، امتیازدهی باندها به صورت (۱) و (۰) به‌ترتیب برای حضور و عدم حضور باند انجام شد. باندهای مبهم و داده‌های از دست رفته نیز بصورت نقطه (.) مشخص گردیدند. داده‌ها پس از ورود به نرم‌افزار Excel جهت تجزیه و تحلیل به نرم‌افزار Popgene32 (Yeh *et al*., 1999) منتقل شدند. ماتریس فاصله ژنتیکی با استفاده از فرمول نی (Nei, 1987) بین تمام لاین‌ها محاسبه گردید و تجزیه خوشه‌ای با روش UPGMA انجام شد. شاخص Fst که تابعی از چگونگی پراکنش تنوع ژنتیکی در داخل و میان جمعیت‌ها است، و همچنین N_m که نشان دهنده میزان جریان ژنتیکی است نیز محاسبه گردید. با استفاده از داده‌های صفر و یک وارد شده در Excel، تجزیهٔ براساس محورهای مختصات (PCoA) (Principal Co-ordinate Analysis) و آنالیز واریانس مولکولی AMOVA (Analysis of Molecular Variance) توسط نرم‌افزار GenAlEx 6.1 (Peakall & Smouse, 2007) انجام گردید.

نتایج

تجزیهٔ ۲۱ نمونه سروکوهی پارک ملی تندوره با استفاده از ۷ آغازگر تصادفی به روش RAPD، مجموعاً ۵۸ باند قابل امتیازدهی ایجاد کرد که اندازه آنها در محدوده bp ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ بود (شکل ۲). در این بین ۳۳ باند، چندشکلی نشان دادند (۵۷٪). میانگین تعداد باندهای تکثیر شده به ازای هر آغازگر ۸/۲۸ و میانگین تعداد باندهای چندشکل به ازای هر آغازگر ٤/۷۱ بود.

توانایی آغازگرهای مختلف در آشکارسازی چندشکلی در بین نمونه‌های سروکوهی متغیر بود. در این میان، آغازگر ٤۳۱ دارای بیشترین تعداد باند چندشکل (۸ باند) و آغازگرهای ۳٤۰ و ۳۳۸ دارای کمترین تعداد باند چند

www.SID.ir

Archive of SID

شکل (۲ عدد) بودند.

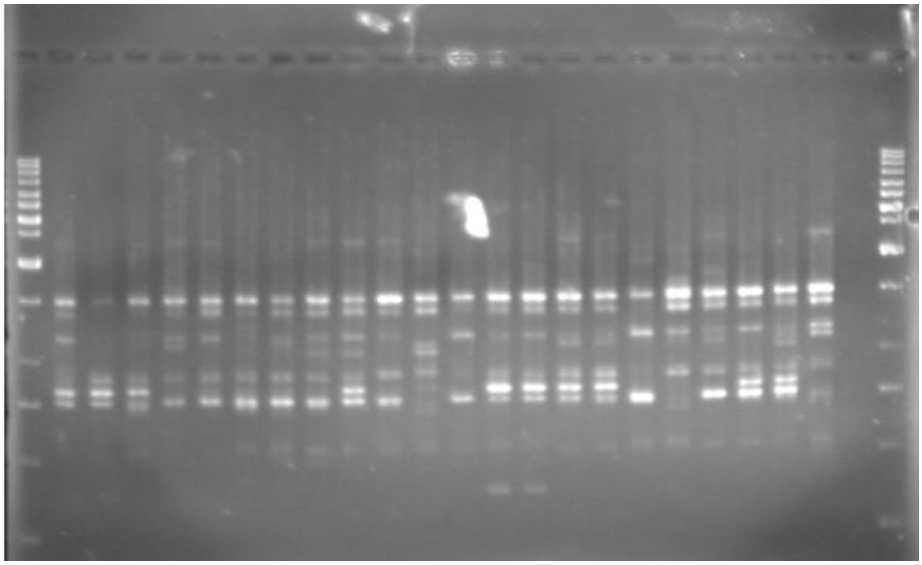
فاصله ژنتیکی جفت نمونه‌ها بین ۰/۱۲۹ تا ۰/۷۸۸ متغیر بود و میانگین فواصل ژنتیکی بین تمام جفت نمونه‌ها ۰/۳۷ محاسبه گردید. جفت نمونه‌های B1 و B2 در کمترین فاصله ژنتیکی نسبت به هم (۰/۱۲۹) و نمونه‌های D1 و B2 و همچنین B3 و Sh4 در دورترین فاصله نسبت به هم (۰/۷۸۸) قرار داشتند.

دندروگرام ترسیم شده با استفاده از روش UPGMA در فاصله ژنتیکی ۸۵٪، سه گروه اصلی را در بین ۲۱ نمونه سروکوهی مشخص کرد (در شکل ۳ نام محل جمع‌آوری نمونه‌ها و همچنین علامت اختصاری آنها ذکر شده است) که نمودار دو بعدی حاصل از PCoA نیز آن را تأیید کرد (نمودار ۱). گروه اول شامل نمونه‌های Kh4 و B3 و گروه دوم شامل نمونه‌های Kh1، Gh1، Ch3، Sh،B4، Gh4، Sh4، Ch2، D1، Gh3، Gh2، Sh3، Ch1، D2، D3، Sh2 و گروه سوم شامل نمونه‌های B1، B2 و Kh3 بود. همچنین دندروگرام ترسیم شده در بین رویشگاه‌های مناطق مختلف پارک، دو گروه اصلی را در بین شش رویشگاه مشخص کرد (شکل ٤) که دره خرخر و پاسگاه تیوان در یک گروه و پاسگاه چهل میر و کوه‌های قره لوکه و شکرآب و پاسگاه درونگر در گروه دیگر قرار گرفتند که با نقشه جغرافیایی پارک سازگاری خوبی دارد. چرا که اگر پارک را به دو نیمه شرقی و غربی تقسیم کنیم، دره خرخر و پاسگاه تیوان در نیمه غربی و پاسگاه چهل میر و کوه‌های قره لوکه و شکرآب در نیمه شرقی پارک قرار دارند، البته پاسگاه درونگر هم در نیمه غربی پارک قرار دارد که در بیشترین فاصله ژنتیکی نسبت به سه رویشگاه گروه دوم قرار گرفته است.

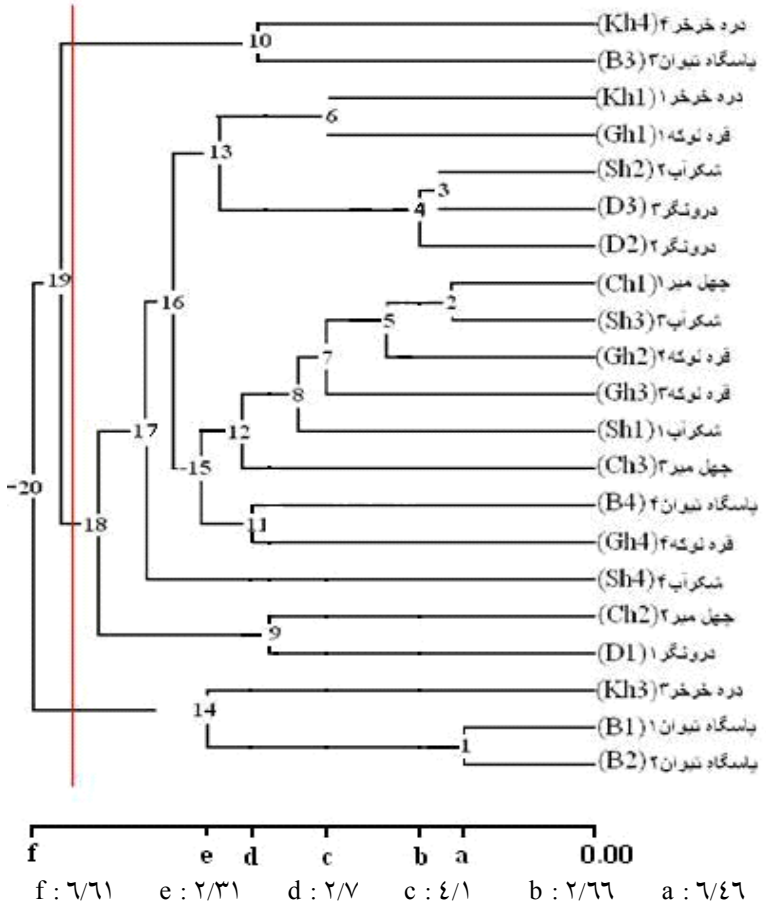
میانگین هتروزیگوسیتی (H_s) محاسبه شده برای نمونه‌های درون هر رویشگاه ۰/۲۱۳ بود. در حالی‌که تنوع ژنتیکی کل (H_T) در بین تمامی نمونه‌ها ۰/۳۲٦ بود. در این میان، منطقه درونگر و چهل‌میر به‌ترتیب دارای کمترین تنوع درونی (۰/۱۵۲ و ۰/۱۷۰) و دره خرخر دارای بیشترین تنوع درونی (۰/۲٤٤) بودند. تنوع ژنتیکی بین رویشگاه‌های مختلف پارک، ($D_{ST} = H_T - H_S$) برابر با ۰/۱۱۳ بود که نشان می‌دهد تنوع ژنتیکی مشاهده شده درون هر رویشگاه بیشتر از تنوع ژنتیکی مشاهده شده بین رویشگاه‌هاست. نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی AMOVA نیز تأیید کرد که در مجموع، سهم تنوع درون رویشگاه‌ها خیلی بیشتر از تنوع بین آنهاست (۹۱٪ تنوع درون رویشگاه‌ها در مقابل۹٪ تنوع بین رویشگاهی) (جدول ۳). میزان Fst که براساس تفاوت در فراوانی آلل‌ها، سهمی از واریانس کل را که در بین جمعیت‌ها توزیع شده است، معین می‌کند، برابر با ۰/۳٤٦ و میزان N_m (تعداد افراد وارد شونده به یک جمعیت در هر نسل) برابر با ۰/۹٤٤ بود.

www.SID.ir

Archive of SID



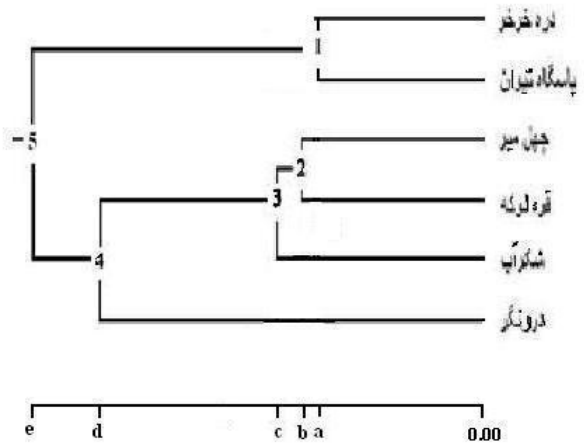
شکل ۲- نیمرخ RAPD تهیه شده با آغازگر شماره ۱۵۳ مربوط به ۲۱ نمونه سروکوهی



شکل ۳- دندروگرام بدست آمده از روش UPGMA برای ۲۱ نمونه سروکوهی با استفاده از نشانگرهای RAPD

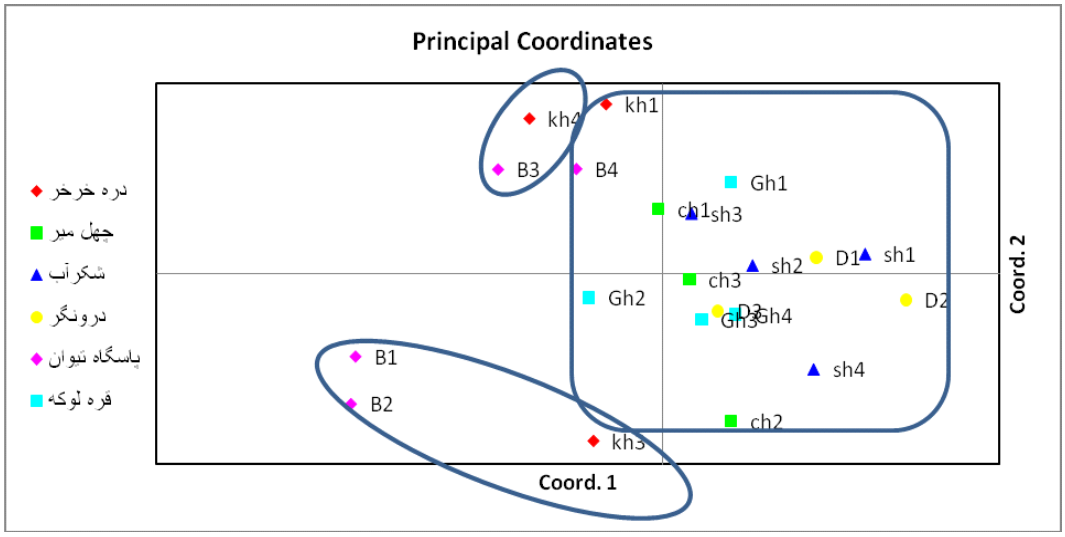
www.SID.ir

Archive of SID



e : ۲/۱۸ d : ۳/٦۳ c : ۰/۲٤ b : ۰/۱٤ a : ۳/٤۱

شکل ٤- دندروگرام بدست آمده از روش UPGMA برای ٦ رویشگاه سروکوهی با استفاده از نشانگرهای RAPD



نمودار۱- نمودار دو بعدی حاصل از PCoA بر روی ۲۱ نمونه سروکوهی با استفاده از داده‌های RAPD

جدول ۳- خلاصه جدول حاصل از آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA)

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	انحراف معیار	%
بین جمعیت‌ها	۵	۳۵/۰۱۲	۷/۰۰۲	۰/۵۲۲	٪۹
درون جمعیت‌ها	۱۵	۷۷/۷۵۰	۵/۱۸۳	۵/۱۸۳	٪۹۱
کل	۲۰	۱۱۲/۷٦۲		۵/۷۰۵	٪۱۰۰

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در این مطالعه انتظار داشتیم که میان پراکنش جغرافیایی نمونه‌های سروکوهی با فواصل ژنتیکی آنها ارتباطی منطقی برقرار شود، در حالیکه چنین ارتباطی مشاهده نشد و نمونه‌های جمع‌آوری شده از هر زون ارتفاعی با نمونه‌های سایر زون‌های ارتفاعی گروه بندی گردید.

اکثر مخروطیان سطح بالایی از تنوع ژنتیکی و سطح پایینی ازتمایز ژنتیکی را نشان می‌دهند (Wang *et al*., 2004). درصد چندشکلی به دست آمده در مطالعه حاضر (۵۷٪) بیشتر از درصد چندشکلی به دست آمده برای *J. phoenicea* (۴۵٪) با استفاده از نشانگر ISSR (Meloni *et al*., 2006) بود. که این مقدار، کمتر از درصد چند شکلی به دست آمده برای J. communis (۸۳/۵٪) با استفاده از نشانگر AFLP (Van *et al*., 2000) بود. اما در مقایسه با میانگین این کمیت در بین گیاهان خانواده Cupressaceae (۵۷/۴۵٪) اندکی بیشتر بود (Wang *et al*., 2004).

همچنین تنوع ژنتیکی کل (H_T) مشاهده شده در مطالعه حاضر (۰/۳۲۶) بیشتر از H_T به دست آمده برای *J. phoenicea* (۰/۱۴۸) (Hamrich *et al*.,1992) و همچنین بیشتر از میانگین تنوع ژنتیکی بازدانگان (۰/۱۶۹) و گونه‌های چند ساله (۰/۱۷۷) بود (Hamrich *et al*., 1992).

با توجه به Fst و N_m به دست آمده در مطالعه حاضر (به‌ترتیب۰/۳۴۶ و ۰/۹۴۴)، از آنجایی که مقدار N_m>۱ (برابر با Fst< ۰/۲۵) مربوط به گونه‌های با جریان ژنی بالاست، می‌توان گفت که جریان ژنی در بین رویشگاه‌های سروکوهی مورد مطالعه به میزان نسبتاً خوبی وجود دارد و این نشان‌دهنده این است که این گیاهان، به صورتی با هم به تبادل ژن می‌پردازند. البته میزان Fst به دست آمده در مطالعه حاضر، بیشتر از متوسط Fst محاسبه شده برای سایر جنس‌های موجود در خانواده Cupressaceae (۰/۱۲) بود (Wang *et al*., 2004) که نشان می‌دهد نمونه‌های سروکوهی مورد مطالعه از سطح تمایز ژنتیکی بیشتر و جریان ژنی کمتری نسبت به گیاهان هم خانواده خود برخوردارند.

تنوع ژنتیکی به موجودات زنده کمک می‌کند تا با تغییرات محیطی موجود مقابله کنند. در واقع، در یک جامعه اکولوژیکی، تنوع ژنتیکی عاملی برای رقابت در میان افراد و پایه‌ای برای سازگاری به عدم پایداری محیطی آینده است. هتروزیگوسیتی کم، تولید مثل و بقای موجودات زنده را کاهش می‌دهد. بالا بودن نسبی جریان ژنی در بین رویشگاه‌های سروکوهی جمع‌آوری شده بدین معناست که این رویشگاه‌ها دارای پراکندگی ژنی نسبتاً خوبی می‌باشند.

از آنجایی که گیاه ارس، دوپایه و دارای گل‌های تک‌جنس می‌باشد، میزان نسبتاً خوب تبادلات ژنی بین رویشگاه‌های مختلف ارس را می‌توان به سهولت انتقال دانه گرده از منطقه‌ای به منطقه دیگر با کمک باد، پرندگان و ... نسبت داد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مسؤلان محترم سازمان حفاظت از محیط زیست استان خراسان رضوی به دلیل در اختیار قرار دادن نمونه‌های گیاهی و حمایت‌های مالی از این طرح کمال تشکر را دارم.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

- بهشتی، د.، ۱۳۸٤. صبور و ساکت و سنگین (مروری بر گیاهشناسی و نقش زیست محیطی منحصر به فرد ارس یا سروکوهی) www.hamtanab.com
- چاولا. اچ.اس.، ۱۳۸۲ اصول بیوتکنولوژی گیاهی. (ترجمه: فارسی، م. و ذوالعلی، ج.). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ٤۹۵ صفحه.
- قره‌یاضی، ب.، ۱۳۷۵. کاربرد نشانگرهای DNAدر اصلاح نباتات. چهارمین کنگره زراعت و اصلاح نباتات ایران. دانشگاه صنعتی اصفهان.
- هنری، آر.جی.، ۱۳۸۰ کاربردهای عملی بیولوژی مولکولی گیاهی. (ترجمه: باقری، ع.ا.، ایزدی دربندی، ع. و ملبوبی، م.). انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- Adams, R.P. Demeke, T. 1993. Systematic Relationships in *Juniperus* Based on Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs). Taxon. 42(3). 553-571.
- Adams, R.P. 2001. Geographic variation in leaf essential oils and RADDs of *Juniperus polycarpos* K. Koch in central Asia. Biochemical Systematics and Ecology. 29: 609-619.
- Adams, R.P., Pandey, R.N., Leverenz, J.W., Dignard, N., Hoegh, K., Thorfinnsson, T., 2003. Pan-Arctic variation in *Juniperus communis*: historical biogeography based on DNA fingerprinting. Biochemical systematics and ecology. 31(2). 181-192.
- Adams, R.P., Schwarzbach, A.E. and Nguyen, S., 2006. Re- Examination of the taxonomy of Juniperus flaccid var. martinezii, and var. poblina (Cupressaceae). Phytologia. 88(3). 233- 241.
- Earle. C.J., 2006. *Juniperus commonis*. The Gymnosperm Database. www.conifers.org/cu/ju/communis.htm

Fu, S.B.Y.Y., Wang, L.J, and Chakraborty, R., 2001. Genetic Diversity and Population History of the Red Panda (Ailurus fulgens) as Inferred from Mitochondrial DNA Sequence Variations. Molecular Biology and Evolution. 18(6):1070–1076.

- Hamrich, J.L., Goat, M.J.W., and Sherman-Broyle, S.L., 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species, Newfor, 6: 95-124.
- Meloni, M., Perini, D., Filigheddu, R. and Binelli, G., 2006. Genetic variation in five Mediterranean populations of Juniperus phoenicea as revealed by Inter-Simple Sequene Repeat (ISSR) markers. Annals of Botany. 97: 299-304.
- Michiels, A. Ende, W.V.D., Tucker, M. Riet, L.V. and Laere, A.V., 2003. Extraction of high-quality genomic DNA from latex-containing plants. Analytical Biochemistry. 315: 85-89.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics. 87: 583-590.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2007. GenAlEx 6.1. V5: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for teaching and research. Canberra: Australian National Univesity.
- Van der Merwe, M., Winfield, M.O., Arnold, G.M., Parker, J.S., 2000. Spatial and temporal aspects of the genetic structure of Juniperus communis populations. Molecular Ecology. 9: 379-386.
- Vines, T., 1998. The relationship between *Juniperus communis* ssp *communis* and *J. communis* ssp *nana* as revealed by morphometrics and RAPD marker data. BSc dissertation, Edinburgh University.
- Wang, D.L., Li, Z.C., Hao, G., Chiang, T.Y. and Ge, X.J., 2004. Genetic diversity of *Calocedrus macrolepis* (Cupressaceae) in southwestern China. Biochemical Systematics and Ecology. 32: 797-807.
- Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T., 1999. POPGENE, the User- Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada. http://www.ulberta.ca/~fyeh/.

www.SID.ir

Archive of SID

Study of genetic variation of *Juniperus polycarpus* from Tandure National Park of Iran using RAPD markers.

M. Kermani[1*], H. Marashi[2] and F. Mellati[2]

1*- Corresponding author, Ph.D, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
Email: mkermani20@yahoo.com
2- Assoc. Prof., College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
3- M.Sc., College of natural sources and life environment.

Received: 27.07.2009 Accepted: 13.06.2010

Abstract

Genus of *Juniperus* is one of the widely distributed plants from coniferales in the world which is native to moderate regions of central and south Asia. In this study, RAPD markers were used to evaluate the genetic variation among 21 samples of *Juniperus* (collected fram 6 habitat of Tandure National Park of Iran). The 7 RAPD primers produced 58 scorable bands of which 33 (57%) were polymorphic. The pair-wise genetic distance was from 0.129 to 0.788. The average Heterozygosity within accessions (Hs) was 0.213 and the total heterozygosity was 0.326. The Fst Index was 0.346 and the gene flow (Nm) was 0.944. The dendrogram constructed using UPGMA method, distinguished 2 main groups among 6 accessions of *Juniperus* that had good compatibility with geographical map of park and was also confirmed by PCoA. Based on the high level of genetic diversity within the accessions in comparison with the genetic diversity among the accessions, the confirmation of AMONA analysis, and the relatively good level of gene flow among the accessions, we can conclude that there is a good amount of gene exchange among *Juniperus* accessions, due to ease of pollen transfer from zone to another zone using wind, birds, insects and … .

Key words: *Juniperus*, RAPD molecular marker, genetic variation, dendrogram.

www.SID.ir