

اثر انتخاب مصنوعی بر روی ساختار ژنتیکی جمعیت‌های راش (*Fagus orientalis* Lipsky)

پروین صالحی شانجانی^{1*}، جوزپه جوانی وندرامین² و محسن کلاگری³

1- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

2- استاد، انستیتو ژنتیک گیاهی فلورنس، ایتالیا

3- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ پذیرش: 89/03/23

تاریخ دریافت: 88/04/08

چکیده

در این پژوهش اثر انتخاب مصنوعی به‌عنوان یکی از مهمترین عملیات در مدیریت جنگل که در طی تنک‌کردن و انتخاب درختان بذرگیری اعمال می‌شود بر روی ساختار ژنتیکی راش (*Fagus orientalis* Lipsky) بررسی گردید. در ده جمعیت راش در طول گستره جنگل‌های خزری، ژنوتیپ درختان جمعیت با ده درخت مادری و بذرهايشان (هفت بذر به ازاء هر درخت) به‌عنوان نسل بعدی براساس لوکوس‌های میکروساتلایتی پلی مورف مقایسه گردید. در 2 جمعیت نیز بذرها و جوانه‌های درختان بدفرم و خوش‌فرم برای مطالعه اثر انتخاب درختان با در نظر گرفتن ویژگی‌های فنوتیپی در مدیریت جنگل، بررسی شدند. تفاوت‌های معنی‌داری در غنای آلی یا تعداد آل‌های مشاهده شده (Na)، تعداد آل‌های مؤثر (Ne)، تعداد آل‌های نادر، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) بین درختان و نمونه‌های بذری هر جمعیت مشاهده شد. به علت ارتباط بین وجود آل‌های نادر و فنوتیپ درخت، حذف درختان با در نظر گرفتن ویژگی‌های فنوتیپی‌شان باعث کاهش تعداد آل‌های نادر و تغییر فراوانی آلی می‌شود که منجر به کاهش توانمندی ژنتیکی آینده می‌گردد. به علت مزیت تکاملی بلندمدت اشکال ژنی نادر، فقدان آل‌های نادر می‌تواند منجر به کاهش توانمندی جمعیت‌ها برای سازگاری و نیز کاهش قدرت بقاء در برابر تغییرات محیطی شود. این تغییرات نشان می‌دهد که انتخاب یا تنک‌کردن شدید ممکن است اثر زیادی بر ساختار ژنتیکی جمعیت‌های راش در بلندمدت بگذارد. در حالی که بنظر می‌رسد جمعیت‌های راش تحت تأثیر فعالیت‌های تنک‌کردن جزئی قرار نمی‌گیرند، بنابراین سیستم‌های انتخابی (تک‌گزینی و گروه‌گزینی) سیستم‌های جنگل‌شناسی مناسبی برای جنگل‌های راش خزری هستند. این مسئله حاکی از کارایی سیاست‌های مدیریت پایدار جمعیت با تأکید بر سیستم جنگل‌شناسی نزدیک به طبیعت و کاربرد روش‌های جنگل‌شناسی آمیخته است.

واژه‌های کلیدی: *Fagus orientalis* Lipsky، انتخاب مصنوعی، میکروساتلایت، تمایز ژنتیکی.

مقدمه

انسان از زمانی که اکوسیستم‌های جنگلی را مورد بهره‌برداری قرار داد بصورت عمدی یا غیرعمدی ذخیره ژنی گونه‌های درختان جنگلی را تغییر داده است. در این میان تنها اکوسیستم‌هایی که تنوع ژنتیکی پویایی دارند باقی خواهند ماند. بنابراین در مدیریت جنگل باید جنبه‌های ژنتیکی نیز در نظر گرفته شود تا استمرار بقاء و توانمندی تکاملی جمعیت‌های درختان حفظ شود (Boyle, 2000; Booy et al., 2000). مدیریت جنگل‌ها به شیوه‌های مختلفی همچون فرایندهای وابسته به رانش ژنتیکی (Drift) (مثل تعداد محدود دختان بذر دهنده)، فرایندهای وابسته به سیستم تولیدمثلی (مثل جدایی تولیدمثلی)، فرایندهای وابسته به انتخاب (مثل انتخاب درختان نخبه) و فرایندهای وابسته به مهاجرت (مثل انتقال مواد تولیدمثلی جنگل)، منابع ژنتیکی را متأثر می‌نمایند (Buiteveld et al., 2007).

امروزه اثر مدیریت جنگلها بر روی ساختار ژنتیکی درختان جنگلی مورد توجه بسیاری به‌ویژه در بازدانگان (El-Kassaby et al., 2003; MacDonald et al., 2001)، برخی گونه‌های گرمسیری (Lee و همکاران، 2002) و جنس اکالیپتوس (Glaubitz et al., 2003a, b) قرار گرفته است. در این رابطه نتایج ضد و نقیضی برای گونه‌های مختلف گزارش شده است. تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های جنگل کاری شده *Picea glauca* (Rajora, 1999) و بهره‌برداری شده *Swietenia macrophylla* (Gilles et al., 1999) کاهش یافته است. تنوع ژنتیکی در *Tsuga heterophylla* در جمعیت‌های مدیریت شده تحت شیوه پناهی کمتر از جمعیت‌های طبیعی است (El-Kassaby et al., 2003). از سوی دیگر اختلاف

معنی‌داری در پارامترهای تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های مدیریت شده با شیوه پناهی و طبیعی *Abies amabilis* (El-Kassaby et al., 2003) و *Douglas-fir* (El-Kassaby & Benowicz, 2000) مشاهده نشد. در حالی که مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که مدیریت جنگل می‌تواند منجر به از دست رفتن آل‌های نادر و مختص به محل شود (به‌عنوان مثال، در اثر بهره‌برداری در کاج سفید شرقی، Rajora et al., 2000؛ اثر مدیریت با شیوه پناهی در *Douglas-fir* Adams et al., 1998). نتایج فوق این فرضیه را قوت می‌بخشد که تغییر ژنتیکی حاصل مدیریت جنگل وابسته به نوع گونه و نیز شرایط محیطی محلی است.

جنگل‌های آمیخته و خالص راش (*Fagus orientalis*) (Lipsky) به‌عنوان یک گونه دگرگشن جزء مهمترین، غنی‌ترین و زیباترین جنگل‌های ایران به‌شمار می‌روند. جنگل‌های راش 17/6٪ از سطح جنگل‌های هیرکانی و 23/6٪ تعداد و حدود 30٪ از حجم درختان جنگلی ناحیه هیرکانی را تشکیل می‌دهند (رسانه و همکاران، 1380). بنابراین از نظر اقتصادی جمعیت‌های راش با ارزشترین جمعیت‌ها را تشکیل داده و بیشترین میزان تولید چوب در ایران را به خود اختصاص می‌دهند. جنگل‌های شمال ایران (خزری)، با تنوع منحصر بفرد درختان، درختچه‌ها و گیاهان علفی یکی از مهمترین اکوسیستم‌های جنگلی کشور می‌باشند.

یکی از مهمترین اهداف شیوه جنگلداری که جنگل‌های ایران از 40 سال قبل با آن مدیریت شده‌اند، استفاده از توانمندی اقتصادی جنگل‌ها بود. براساس این هدف، مجریان پرورش جنگل یا نشانه‌گذارها با انتخاب درختان خوش‌فرم سعی در اصلاح جمعیت‌ها نمودند. زیرا

1200 و اسالم-600. در هر جمعیت 1) جوانه‌های درختان جمعیت، 2) جوانه‌های 10 درخت مادری و 3) بذرهای همان درختان مادری؛ از هر درخت 7 نیز بذر به‌عنوان نسل نتاج جمع‌آوری گردید. ژنوتیپ کلیه نمونه‌ها با استفاده از میکروساتلایت‌های هسته‌ای تعیین گردید. در دو جمعیت گرگان-600 و خیرودکنار-1200 نیز بذرهای درختان بدفرم (جنگالی) و خوش‌فرم (میانرو) برای مطالعه اثر انتخاب درختان با در نظر گرفتن ویژگی‌های فنوتیپی در مدیریت جنگل، بررسی شدند.

DNA کل از بذرهای و جوانه‌های خواب درختان (100 میلی‌گرم به‌عنوان ماده اولیه) با استفاده از کیت Nucleospin plant (Germany, Macherey Negel) جداسازی شد. عصاره‌ها (یک میکرولیتر به ازای هر چاهک) به وسیله دستگاه الکتروفورز روی ژل آگارز 1٪ (W/V) با نیروی برق 10 ولت در سانتیمتر به مدت یک ساعت و بافر (50x) TEA حاوی 0/5 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (W/V) اتیدیوم برماید کنترل شده و ژل‌ها پس از عکس‌برداری با یک اسکنر UVP تجزیه شدند. میکروساتلایت‌های FS1-11, FS1-03, FS1-15 و FS3-04 (جدول 1) ارائه شده توسط Pastorelli و همکاران (2003) از طریق PCR تکثیر شدند. برای تکثیر با PCR محیط فرایند (Tris-HCl با pH=9، 100 mM؛ KCl، 500 mM؛ MgCl₂، 15 mM؛ از هر پرایمر داکسی‌نوکلئوزیدتری فسفات 200 μM؛ از هر پرایمر 0/4 μM و Taq DNA polymerase (یک واحد) با حجم نهایی 25 μl تهیه گردید. پس از نگهداری محلول واکنش به مدت 5 دقیقه در 95 °C، محلول واکنش در معرض چرخه‌های دمایی 30 چرخه: 95 °C به مدت یک دقیقه، دمای اتصال (جدول شماره 1) به مدت یک دقیقه، 72 °C به مدت 1 دقیقه قرار گرفتند. سپس فرآورده‌های

پیدایش چنگال بر روی تنه باعث کاهش چشمگیر طول محور اصلی (تنه درخت) شده و به این ترتیب ارزش تجاری درخت بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (Ningre, 1987).

تنوع و ساختار ژنتیکی راش در جنگل‌های خزری بوسیله مارکرهای آنزیمی و میکروساتلایتی بررسی شده است (Salehi Shanjani *et al.*, 2002, 2004, 2005, 2008). راش مثل بسیاری از گونه‌های درختی دارای سطوح بالایی از تنوع در لوکوس‌های ایزوآنزیمی و DNA هسته‌ای بوده (Hamrick *et al.*, 1992) ولی دارای تمایز جمعیتی ناچیز است. براساس داده‌های DNA کلروپلاستی الگوی تمایز مکانی در بین جمعیت‌های راش بسیار مشخص است (Salehi Shanjani *et al.*, 2004). با این حال هیچ پژوهشی بر روی اثر مدیریت جنگل، بر ساختار ژنتیکی راش ایران گزارش نشده است.

یکی از مؤلفه‌های مهم در مدیریت جنگل انتخاب درختان است. انتخاب ممکن است با در نظر گرفتن ویژگی‌های فنوتیپی درخت برای اصلاح جمعیت‌ها و حذف درختان بدفرم باشد و یا براساس سایر ویژگی‌های درخت مانند تولید بالای بذر باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر انتخاب در فرایندهای مدیریت جنگل بر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های راش است.

مواد و روشها

در طول گستره پراکنش راش در ایران 10 جمعیت انتخاب گردید که عبارتند از: گرگان-1400، گرگان-600، نکا-1400، نکا-900، سنگده-1400، سنگده-900، خیرودکنار-1200، خیرودکنار-600، اسالم-

* اعداد کنار هر جمعیت نشان‌دهنده ارتفاع محل از سطح دریاست.

انتظار از معادله هاردی-وینبرگ (*He*)، ضریب خویش آمیزی یا اندیس تثبیت (*Fis*)، انجام شد. انحراف فراوانی‌های ژنوتیپی از نسبت‌های هاردی-وینبرگ با برنامه نرم‌افزاری GENEPOP (نسخه 3.4D; Raymond & Rousset, 1995) بدست آمد. فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌ها براساس معادله Nei (1978) برآورد شد. از روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی PCA (Gower, 1966) برای تفسیر ماتریکس فاصله ژنتیکی استفاده شد. ساختار ژنتیکی جمعیتی کل نمونه‌ها با آماره *F* توسط نرم‌افزار ARLEQUIN (Schnieder *et al.*, 1997, 2000) محاسبه شد. ضریب خویش آمیزی کلی (*Fit*)، و نسبت واریانس ژنتیکی از طریق گوناگونی در میان کل جمعیت‌ها (*Fst*)، گوناگونی در میان جمعیت‌های هر منطقه و گوناگونی میان مناطق محاسبه شد.

تکثیر در 72 °C به مدت 8 دقیقه نگهداری شدند. در این کار از دستگاه PCR ساخت شرکت Perkin Elmer 9700 استفاده شد. طول قطعات تکثیر شده توسط توالی‌یاب خودکار (Alf Express, Pharmacia) اندازه‌گیری گردید و نتیجه توسط برنامه نرم‌افزاری (Fragment Manager 1.2 Pharmacia) بررسی شد.

تجزیه و تحلیل آماری

پس از اینکه برای هر فرد، ژنوتیپ‌های دیپلوئید شماره‌گذاری و فراوانی‌های آلی محاسبه شد، مطالعه تمایز ژنتیکی درختان خوش‌فرم و بدفرم راش توسط نرم‌افزار GenALEX 6 (Peakal & Smouse, 2006) با معیارهایی همچون میانگین تعداد آلل بر لوکوس (*Na*)، تعداد آلل‌های نادر، تعداد آلل‌های مؤثر (*Ne*)، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (*Ho*)، هتروزیگوسیتی مورد

جدول 1- ویژگی‌های 4 مارکر میکروساتلایت هسته‌ای (Pastorelli و همکاران 2003) بکار رفته

برای مطالعه تمایز درختان بدفرم و خوش‌فرم راش

Gene Bank Accession no.	تعداد آلل‌ها	اندازه آلل‌های مشاهده شده	تکرار	غلظت MgCl ₂ (mM)	دمای اتصال (°C)	توالی پرایمر 5'-3'	لوکوس
AF528095	12	133-83	(GA) ₂₆	25	60	TCAAACCCAGTAAATTTCTCA GCCTCAATGAACTCAAAAAAC	FS1-15
AF528090	12	112-86	(GA) ₁₈	15	60	CACAGCTTGACACATTCCAAC TGGTAAAGCACTTTTCCCACT	FS1-03
AF528091	9	120-98	(GA) ₁₅	25	63	TGAATTC AATCATTTGACCATTC GGAAGGGTGCTTCAATTTGG	FS1-11
AF528092	4	204-192	(GCT) ₅ (GTT) ₃ (GCT) ₆	15	60	AGATGCACCACTTCAAATTC TCTCCTCAGCAACATACCTC	FS3-04

نتایج

بررسی اثر انتخاب بدون در نظر گرفتن ویژگی های فنوتیپی

در 10 جمعیت در گستره جنگل های راش خزری مقایسه ای براساس 4 میکروساتلایت هسته ای (F1-03، F1-11، F3-04 و FS1-15) بین درختان جمعیت، 10 درخت مادری منتخب و بذرها درختان مادری فوق انجام شد. تمام 4 لوکوس میکروساتلایت مورد بررسی پلی مورفیسم بالایی نشان دادند.

مقایسه میانگین تعداد آلل در لوکوس، تعداد آلل های مؤثر، برآوردهای تنوع ژنتیکی (He) و شاخص تثبیت (Fis) درختان جمعیت، 10 درخت مادری منتخب و بذرها درختان مادری فوق در میان جمعیت ها در جدول 2 نشان داده شده است. میانگین تعداد آلل در لوکوس ده درخت مادری منتخب کمتر از درختان جمعیت بود. این ضریب در بذرها بیشتر جمعیت ها بیشتر از درختان جمعیت بود. به همین ترتیب تعداد آلل های مؤثر در درختان مادر کمتر از درختان جمعیت بود، در حالی که برخلاف تعداد آلل در لوکوس، تعداد آلل های مؤثر درختان جمعیت در بیشتر جمعیت ها بیش از مقادیر آن در بذرها بود. مطالعه آلل های مشاهده شده در نمونه های درختی و بذری کلیه جمعیت ها نشان داد که تعداد آلل های نادر که عموماً فراوانی کمی نیز دارند در هر دو درختان مادری و بذرها کاهش یافته است (جدول 3). وجود برخی آلل های نادر که در بذرها وجود دارند ولی در درختان جمعیت مشاهده نمی شوند نشان دهنده جریان ژن از جمعیت های مجاور است.

میزان هر دو هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در نمونه های درختان جمعیت بیشتر از بذرها است

(جدول 2). بعلاوه در بیشتر جمعیت های مورد مطالعه میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده درختان جمعیت بیش از هتروزیگوسیتی مورد انتظار است که این موضوع نشان دهنده وجود کمبود هموزیگوت ها در جمعیت ها است. این ویژگی را اگر در بذرها بررسی نماییم متوجه تغییر این وضعیت در بذرها می شویم؛ بطوریکه در بسیاری از جمعیت ها تعداد هموزیگوت ها افزایش یافته است. میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار در درختان جمعیت، درختان مادر و بذرها به ترتیب 0/567، 0/477 و 0/544 بود و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده به ترتیب 0/579، 0/565 و 0/550 بود. همانگونه که مقایسه میانگین این دو هتروزیگوسیتی نشان می دهد به رغم تعداد بیشتر میانگین آلل در لوکوس در بذرها، تنوع ژنتیکی بذرها کمتر از درختان جمعیت است. اندیس تثبیت (Fis) انحراف از توزیع تصادفی ژنوتیپی را اندازه گیری می کند و ارتباط بین آلل های مشابه را درون افراد و جمعیت ها نشان می دهد. به عبارت دیگر مقیاسی برای مطالعه میزان خویش آمیزی (inbreeding) است. مقادیر اندیس ثبوت در 4 لوکوس در سطح جمعیت ها نشان دادند که از 10 جمعیت مورد مطالعه، میانگین Fis درختان جمعیت در هشت جمعیت منفی بود که نشان دهنده کمبود هموزیگوت ها در جمعیت های فوق است (جدول 2). این ضریب در درختان مادری منتخب منفی تر از درختان جمعیت بود. شاخص تثبیت بذرها 50٪ جمعیت ها مثبت بود که حاکی از نقص هتروزیگوسیتی در بذرها آن جمعیت ها می باشد.

فرمول آماری F اغلب برای مطالعه پلی مورفیسم ژنی در جمعیت ها استفاده می شود و برآوردهای آن مقیاس مناسبی برای شناخت اثرات انتخاب و سیستم تولیدمثلی

می‌شود اولین مؤلفه جمعیت‌های منطقه اسالم و خیرودکنار-1200 را از سایر جمعیت‌ها جدا کرده است. ولی رسته‌بندی سایر جمعیت‌ها در نمودارهای مختلف متفاوت است.

بررسی اثر انتخاب بدون در نظر گرفتن ویژگی فرم درخت

در این قسمت در دو جمعیت گرگان-600 و خیرودکنار-1200 بذرها و درختان جمعیت از لحاظ فرم درخت به دو گروه خوش فرم و بدفرم تقسیم شده و با هم مقایسه شدند. شکل 2-5 مقایسه تعداد، اندازه و فراوانی آلل‌های 4 لوکوس مورد بررسی را در بذرها و درختان گروه‌های بدفرم و خوش فرم دو جمعیت مورد ذکر را نشان می‌دهد. همانگونه که در شکل‌ها مشاهده می‌شود در کلیه لوکوس‌ها اندازه، تعداد و فراوانی آلل‌ها در گروه‌های بدفرم و خوش فرم درختان تغییر کرده است. تغییر در این ضرایب تأثیر بسزایی در میزان تنوع ژنتیکی و سایر پارامترهای ژنتیکی می‌گذارد.

می‌باشد. جدول شماره 4 مقادیر فرمول آماری F را در 4 لوکوس نمونه‌های درختان جمعیت، درختان مادری منتخب و بذرها مقایسه می‌نماید. همانگونه که مشاهده می‌شود هیچ برآوردی صفر نشد. برآورد F_{st} به‌عنوان مقیاس تمایز ژنتیکی در بیشتر لوکوس‌های مورد مطالعه نشان دادند که نمونه‌های بذرها دارای تمایز ژنتیکی کمتری از درختان مادری است.

برای تشریح الگوی تمایز، فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها براساس برآورد ناریب فاصله ژنتیکی Nei در نمونه‌های درختان جمعیت، درختان مادری منتخب و بذرها جمعیت‌های مختلف مطالعه شد. از فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها برای تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. نمودارهای تشکیل شده نشان داد که تمایز ژنتیکی با فاصله جغرافیایی منطبق نیستند (شکل 1). با توجه به اینکه در نمونه‌های درختان جمعیت، درختان مادری منتخب و بذرهای جمعیت‌های مختلف به ترتیب حدود 89، 85 و 87٪ گوناگونی در میان سه مؤلفه اصلی قرار دارد، بنابراین این سه مؤلفه به‌عنوان مؤلفه‌های اصلی در نظر گرفته شدند. همانگونه که در شکل مشاهده

جدول 2- برخی ویژگی های ژنتیکی درختان جمعیت، درختان مادری منتخب و بذره های جمعیت های مختلف، براساس لوکوس های میکروساتلایت هسته ای

اسالم	اسالم	خیرودکنار	خیرودکنار	سنگده	سنگده	نکا	نکا	گرگان	گرگان	جمعیت	
600	1200	600	1200	900	1400	900	1400	600	1400	ارتفاع	
الف-600	الف-1200	خ-600	خ-1200	س-900	س-1400	ن-900	ن-1400	گ-600	گ-1400	کد جمعیت	
A-600	A-1200	K-600	K-1200	S-900	S-1400	N-900	N-1400	G-600	G-1400		
7/5	8	8/5	7/75	10/25	7	7/25	8/25	8	6	درختان جمعیت	تعداد آلل در لوکوس
4/5	4/25	4/25	3/75	4/5	4/25	0/4	4/75	4/5	3/5	درختان مادری	
7/75	9/25	9/75	8/5	8	9/5	7/75	8/25	8/5	6/5	بذرها	
2/53	2/28	2/68	3/73	3/63	2/40	2/90	2/75	2/89	1/89	درختان جمعیت	تعداد آلل های مؤثر
2/39	1/88	2/53	2/45	2/43	1/68	2/50	2/78	2/26	1/58	درختان مادری	
2/68	2/01	2/71	2/98	2/78	2/22	2/68	2/68	2/88	2/14	بذرها	
0/543	0/528	0/581	0/624	0/618	0/547	0/583	0/582	0/604	0/460	درختان جمعیت	هتروزیگوسیتی مورد انتظار
0/523	0/420	0/506	0/534	0/509	0/38	0/528	0/526	0/531	0/311	درختان مادری	
0/55	0/48	0/59	0/59	0/56	0/50	0/57	0/55	0/59	0/45	بذرها	
0/471	0/582	0/531	0/655	0/553	0/573	0/576	0/663	0/657	0/532	درختان جمعیت	هتروزیگوسیتی مشاهده شده
0/500	0/475	0/625	0/575	0/600	0/467	0/650	0/700	0/688	0/375	درختان مادری	
0/545	0/507	0/647	0/570	0/563	0/529	0/545	0/568	0/564	0/461	بذرها	
0/09	-0/12	0/09	-0/06	0/12	-0/06	-0/03	-0/14	-0/1	-0/16	درختان جمعیت	شاخص تثبیت
0/04	-0/12	-0/22	-0/09	-0/16	-0/20	-0/22	-0/31	-0/28	-0/17	درختان مادری	
0/01	-0/04	-0/11	0/03	0/01	-0/05	0/01	-0/06	0/31	-0/43	بذرها	

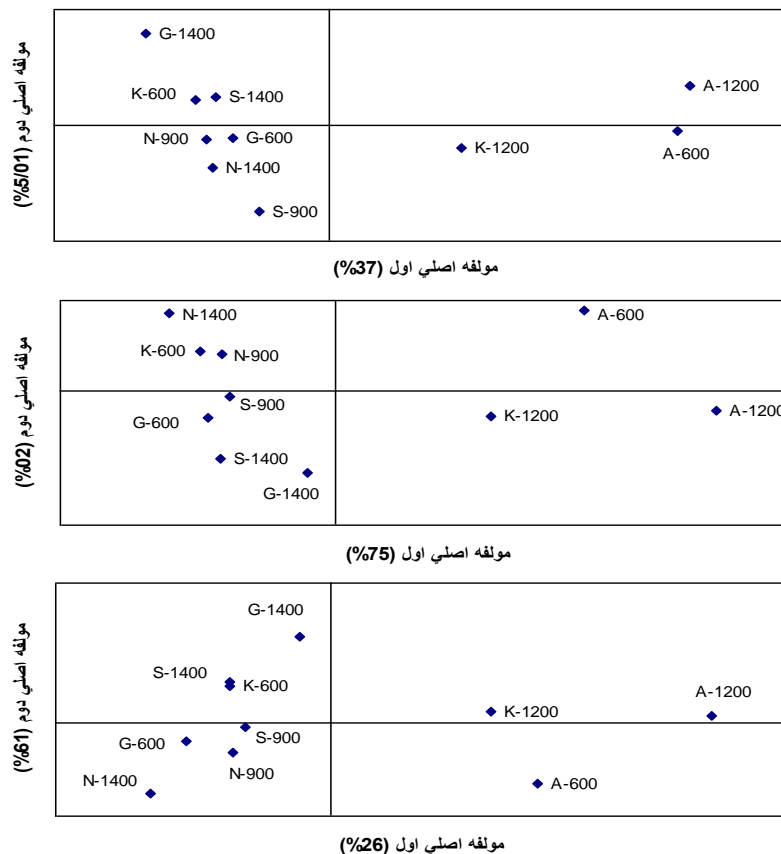
جدول 3- آلهای مشاهده شده (براساس اندازه جفت باز) 4 لوکوس مورد مطالعه درختان جمعیت، درختان مادری منتخب و بذره‌های آنها در کل جمعیت‌های مورد مطالعه

بذرها	درختان مادری	درختان جمعیت	کد پرایمر	بذرها	درختان مادری	درختان جمعیت	کد پرایمر	بذرها	درختان مادری	درختان جمعیت	کد پرایمر	بذرها	درختان مادری	درختان جمعیت	کد پرایمر
-	-	68	FS1-03	-	-	92	FS1-11	192	-	192	FS3-04	-	-	69	FS1-15
80	80	80		94	94	94		195	195	195		81	-	81	
84	84	84		96	96	96		198	198	198		83	83	83	
86	86	86		98	98	98		201	201	201		85	85	85	
88	88	88		100	100	100		204	204	204		87	87	87	
90	90	90		102	102	102		207	207	207		89	-	89	
92	92	92		104	-	104						91	91	91	
94	94	94		106	-	106						93	93	93	
96	96	96		108	108	108						95	95	95	
98	98	98		110	110	110						97	-	97	
100	100	100		112	112	112						99	-	99	
102	102	102		114	114	114						101	101	101	
104	-	104		116	116	116						103	103	103	
106	106	106		118	-	118						105	105	105	
110	110	110		120	-	120						107	107	107	
-	-	-		122	-	-						109	109	109	
114	-	114		124	-	124						111	111	111	
-	-	120		-	-	126						113	-	113	
												115	115	115	
												117	117	117	
												119	-	119	
												121	-	121	
												-	-	123	
												125	-	125	
												-	-	129	
												-	-	231	

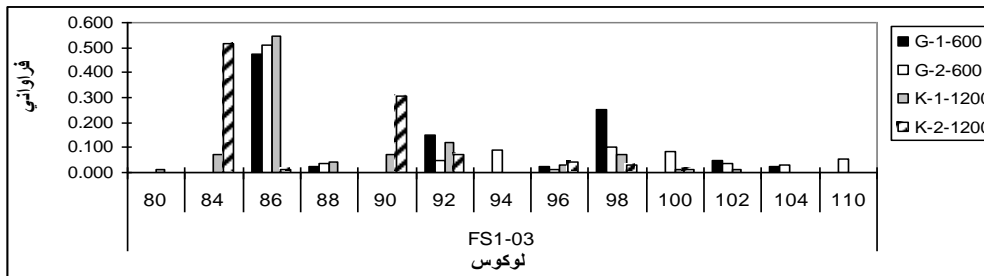
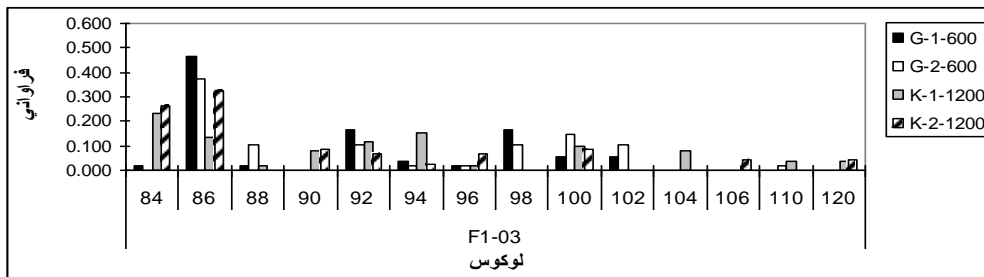
جدول 4- هتروزیگوسیتی کل، مشاهده شده و مورد انتظار، مقادیر آماری F و برآورد جریان ژن پرایمرهای مطالعه شده میکروساتلایت‌های هسته‌ای در درختان جمعیت، درختان مادری و نتاج جمعیت‌های مطالعه شده

پارامترها	درختان جمعیت	درختان مادری	بذرها
هتروزیگوسیتی مورد انتظار	0/567	0/477	0/544
هتروزیگوسیتی مشاهده شده	0/579	0/565	0/550
F مقادیر آماری			
F_{is}^*	-0/037	-0/178	-0/019
F_{it}^{**}	0/017	-0/075	0/038
F_{st}^{***}	0/055	0/087	0/058
جریان ژن	4/310	2/635	4/050

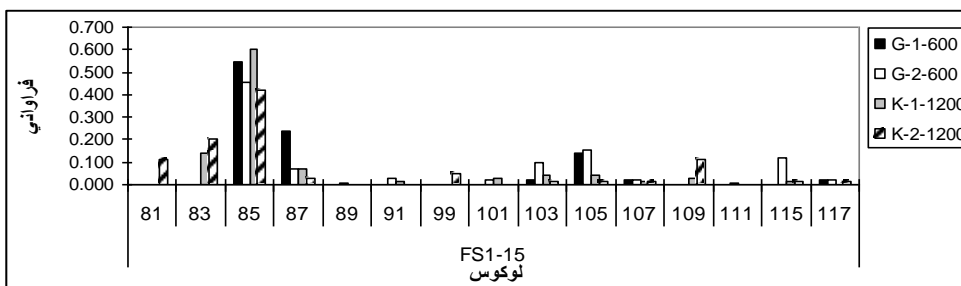
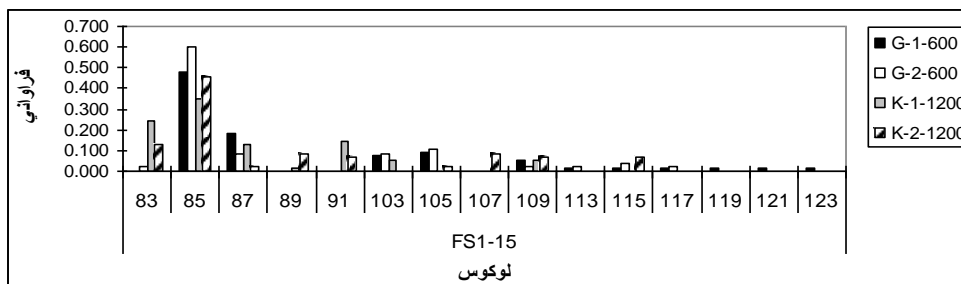
*: ضریب خویش‌آمیزی یا شاخص تثبیت درون جمعیتی؛ **: ضریب خویش‌آمیزی کلی؛ ***: تمایز ژنتیکی



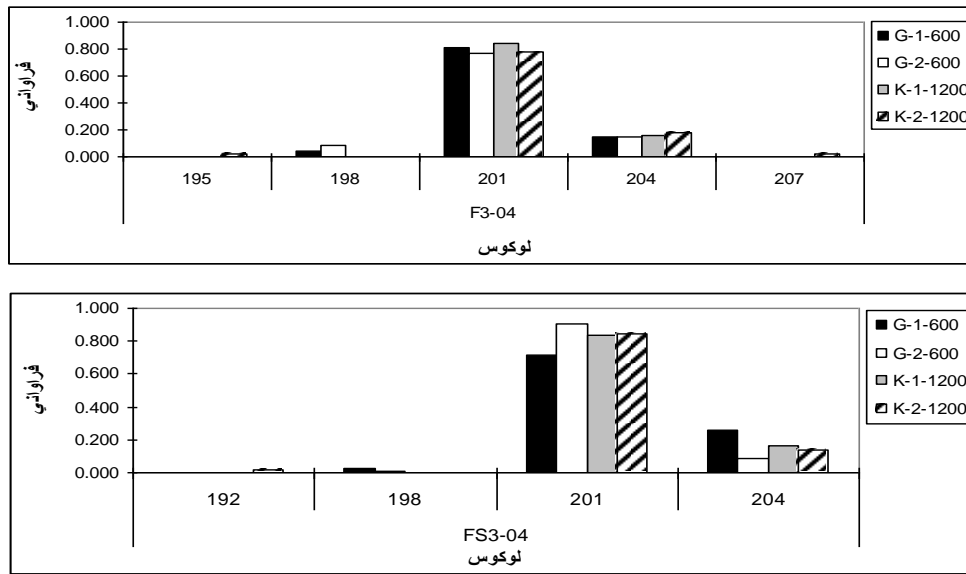
شکل 1- نمودار رسته‌بندی جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه براساس فاصله ژنتیکی لوکوس‌های میکروساتلایتی درختان جمعیت (شکل بالا)، درختان مادری منتخب (شکل میانی) و بذرها (شکل پایین) با استفاده از 2 مؤلفه اصلی



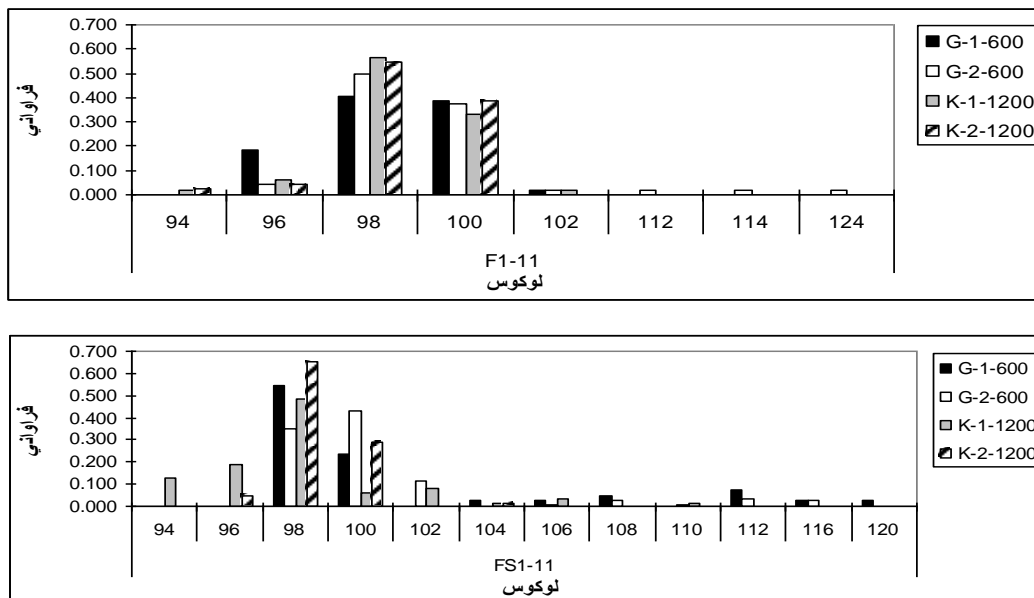
شکل 2- آللهای مشاهده شده (براساس اندازه جفت باز) و فراوانی آنها در لوکوس FS1-03 بذرهای (شکل پایین) و درختان جمعیت (شکل بالا) گروههای درختان خوش فرم و بدفرم گرگان-600 (G-1-600 و G-2-600) و خیرودکنار-1200 (K-1-1200 و K-2-1200).



شکل 3 - آللهای مشاهده شده (براساس اندازه جفت باز) و فراوانی آنها در لوکوس FS1-15 بذرهای (شکل پایین) و درختان جمعیت (شکل بالا) گروههای درختان خوش فرم و بدفرم گرگان-600 (G-1-600 و G-2-600) و خیرودکنار-1200 (K-1-1200 و K-2-1200).

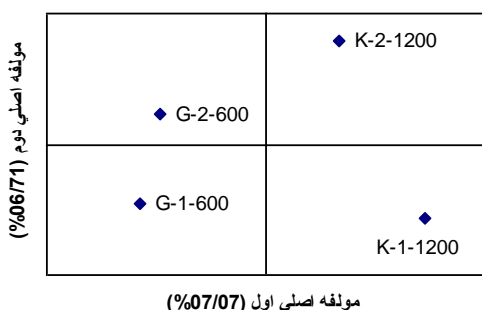


شکل 4 - آلل‌های مشاهده شده (براساس اندازه جفت باز) و فراوانی آنها در لوکوس FS3-04 بذرها (شکل پایین) و درختان جمعیت (شکل بالا) گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم گرگان-600 (G-1-600 و G-2-600) و خیرودکنار-1200 (K-1-1200 و K-2-1200).

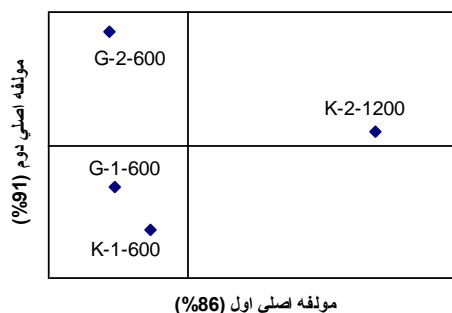


شکل 5- آلل‌های مشاهده شده (براساس اندازه جفت باز) و فراوانی آنها در لوکوس FS1-11 بذرها (شکل پایین) و درختان جمعیت (شکل بالا) گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم گرگان-600 (G-1-600 و G-2-600) و خیرودکنار-1200 (K-1-1200 و K-2-1200).

اصلی از گروه‌های خوش‌فرم جدا شده‌اند. تفاوت اصلی در این دو نمودار تفاوت در رسته‌بندی گروه‌های هر جمعیت است بطوریکه در نمودار مربوط به درختان جمعیت‌ها (شکل 6، سمت چپ) اولین مؤلفه اصلی گروه‌های خوش‌فرم و بدفرم دو جمعیت مختلف را از هم جدا کرده درحالی‌که در نمودار مربوط به بذر (شکل 6، سمت راست) چنین وضعیتی مشاهده نمی‌شود.



برای تشریح طرح تمایز بذرها و درختان بدفرم و خوش‌فرم راش دو جمعیت مورد نظر، تمایز ژنتیکی بین درختان مختلف براساس مقادیر فاصله ژنتیکی درختان مختلف محاسبه و نمودارهای مربوطه ترسیم گردید (شکل 6). همانگونه که در نمودارها مشاهده می‌شود اختلاف مشخصی بین گروه‌های بدفرم و خوش‌فرم درختان و بذرها وجود دارد. در هر دو نمودار، گروه‌های بدفرم درختان بذرها هر دو جمعیت توسط دومین مؤلفه



شکل 6- نمودار رسته‌بندی درختان (شکل چپ) و بذرها (شکل راست) گروه‌های خوش‌فرم و بدفرم جمعیت‌های گرگان-600 (G-2-600 و G-1-600) و خیرودکنار-1200 (K-2-1200 و K-1-1200) براساس فاصله ژنتیکی لوکوس‌های میکروساتلایتی مورد مطالعه با استفاده از 2 مؤلفه اصلی.

داده‌های این پژوهش نشان دادند که نه تنها پارامترهای تنوع ژنتیکی بذرها کمتر از درختان جمعیت بود، بلکه میزان شاخص تثبیت یا ضریب خویش‌آمیزی بذرها مثبت‌تر از درختان بوده که حاکی از نقص یا کمبود هتروزیگوت‌ها می‌باشد. این نتایج موافق با مطالعات اولیه Hosius (1993) بود که به وضوح نشان داده بود که ساختار ژنتیکی جمعیت *Picea abies* پس از تنک‌کردن انتخابی درختان تغییر می‌یابد. در چندین مطالعه براساس مارکر ژنی ایزوآنزیمی نیز مشاهده شده است که هتروزیگوسیتی بعد از تنک‌کردن تا حدودی افزایش

بحث

انتخاب مصنوعی در مدیریت جنگل در عملیات تنک‌کردن و یا انتخاب پایه‌های بذرگیری عینیت پیدا می‌کند. تنک‌کردن مهمترین عملیات جنگل‌شناسی است که توسعه جمعیت‌های جنگلی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. تنک‌کردن می‌تواند با هدف تغییر سن و جوان‌کردن جمعیت و یا با هدف حذف پایه‌های بدفرم و بمنظور اصلاح جمعیت‌ها باشد. تنک‌کردن به علت کاهش اندازه جمعیت و یا ترجیح برخی ژنوتیپ‌ها و حذف انتخابی درختان، می‌تواند ساختار ژنتیکی جمعیت را تغییر دهد.

آل‌های نادر می‌تواند منجر به کاهش توانمندی جمعیت‌ها برای سازگاری و نیز کاهش استمرار بقاء در برابر تغییرات محیطی شود. یکی از اصول مهم بسیاری از سیستم‌های جنگل‌شناسی در جنگل‌های بالغ، برداشت انتخابی درختان با فنوتیپ‌های برتر است (Finkeldey & Ziehe, 2004). انتخاب درختانی با ویژگی‌های فنوتیپی برتر اثر مخرب بیشتری از انتخاب تصادفی بر ساختار ژنتیکی دارد (Namkoong *et al.*, 2000).

داده‌های این پژوهش به وضوح نشان می‌دهد که انتخاب مصنوعی می‌تواند ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها را تغییر دهد. حذف انتخابی درختان و ژن‌هایشان از سیستم‌های جنگلی در طی فرایند تنک‌کردن، بوسیله تغییر ساختار ژنتیکی و سطح تنوع ژنتیکی روی حاصلخیزی، پایداری اکوسیستم، استمرار طویل مدت و تکامل جمعیت‌ها تأثیر می‌گذارد. تغییر ساختار ژنتیکی در نتیجه حذف انتخابی ژن‌های خاص، تغییر فراوانی ژن‌ها یا بهم‌ریختن سیستم‌های تولیدمثلی درون جمعیت‌ها، ساختار ژنتیکی جمعیت‌هاست (Hawley *et al.*, 2005). بنابراین انتخاب تعداد محدود درخت برای بذرگیری یا برای تجدید حیات در آینده می‌تواند در درازمدت منجر به فرسایش ژنتیکی جمعیت‌ها شود. ولی برداشت تک درخت یا برداشت جزئی پایه‌ها که در سیستم‌های مدیریت جنگل‌شناسی نزدیک به طبیعت اجرا می‌شود تأثیری بر روی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها ندارد (Cremer *et al.*, 2005).

سپاسگزاری

پژوهش حاضر توسط مساعدت‌های مالی انستیتو بین المللی منابع ژنتیک گیاهی (Bioversity International)

می‌یابد ولی تعداد آل‌ها و آل‌های نادر کاهش می‌یابد (Kätzel *et al.*, 2001). در مقابل در چندین مطالعه بر روی گونه‌های درختی متعددی، تنک‌کردن هیچ اثر یا اثر بارزی بر ساختارهای آلی و ژنوتیپی نگذاشته است (Konnert & Bauer, Hussendörfer & Konnert, 2000; Cremer *et al.*, 2001; Wolf, 2001; Dounavi *et al.*, 2002; 2005). چنین نتایجی ناشی از اثر تنک‌کردن بر افزایش جریان ژن به‌ویژه از جمعیت‌های اطراف است. به‌طوری که در بررسی‌های بسیاری با مطالعه اثر تنک‌کردن انتخابی در پروسه‌های مدیریت جنگل نشان داده‌اند اگرچه تنک‌کردن به وسیله کم کردن تعداد پایه‌های تولیدمثل کننده بر روی ساختار ژنتیکی می‌تواند تأثیر بگذارد ولی باعث افزایش جریان گرده می‌گردد و سطح گوناگونی ژنتیکی را متعادل می‌کند (Oddou-Muratorio *et al.*, 2004; Sork *et al.*, 2005; Palstra & Ruzzante, 2008; Jacquemyn *et al.*, 2008). در این رابطه نتایج این آزمایش نیز نشان داد تعداد آل‌های مشاهده در نمونه‌های بذرها بیش از درختان جمعیت بود. ولی نکته مهم اثر تنک‌کردن در کاهش تعداد آل‌های نادر و تنوع ژنتیکی است. این مسئله بوسیله Rajora و همکاران (2000) در جمعیت *Pinus strobus* براساس مارکرهای میکروساتلایتی بخوبی نشان داده شده است. به علت ارتباط بین حضور آل‌های نادر و فنوتیپ‌های خاص درخت، حذف درختان با توجه به فنوتیپ باعث تغییر فراوانی آلی می‌شود. به‌طوری که Hawley و همکاران (2005) با بررسی اثر حذف انتخابی درختان نشان داد که حذف درختانی با فنوتیپ پست باعث کاهش تعداد آل‌های نادر و برآوردهای توانمندی ژنتیکی شده است. به علت مزیت تکاملی بلندمدت فرم‌های ژنی نادر، فقدان

- Finkeldey, R. and Ziehe, M., 2004. Genetic implications of silvicultural regimes. *Forest Ecology and Management*, 197: 231–244.
- Gilles, A.C.M., Navarro, C., Lowe, A.J., Newton, A.C., Hernández, M., Wilson, J. and Cornelius, J.P., 1999. Genetic diversity in Mesoamerican populations of mahogany (*Swietenia macrophylla*), assessed using RAPDs. *Heredity*, 83: 722–732.
- Glaubitz, J.C., Murrell, J.C. and Moran, G.F., 2003a. Effects of native forest regeneration practices on genetic diversity in *Eucalyptus considiana*. *Theoretical Applied Genetics*, 107: 422–431.
- Glaubitz, J.C., Wu, H.X. and Moran, G.F., 2003b. Impacts of silviculture on genetic diversity in the native forest species *Eucalyptus sieberi*. *Conservation Genetics*, 4: 275–287.
- Gower, J.C., 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, 53: 325–338.
- Hawley, G.J., Schaberg, P.G., Dehayes, D.H. and Brissette, J.C., 2005. Silviculture alters the genetic structure of an eastern hemlock forest in Maine, USA. *Canadian Journal of Forest Research*, 35: 143–150
- Hamrick, J.L., Godt, M.J.W. and Sherman-Broylers, S.L., 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forestry*, 6: 95–124.
- Hosius, B., 1993. Wird die genetische Struktur eines Fichtenbestandes von Durchforstungseingriffen beeinflusst? *Forst und Holz*, 48: 306–308.
- Hussendörfer, E. and Konnert, M., 2000. Untersuchungen zur Bewirtschaftung von Weisstannen- und Buchenbeständen unter dem Aspekt der Erhaltung genetischer Variation. *Forest Snow and Landscape Research*, 75: 187–204.
- Jacquemyn, H., Brys, R., Adriaens, D., Honnay, O. and Roldán-Ruiz, I. 2008. Effects of population size and forest management on genetic diversity and structure of the tuberous orchid *Orchis mascula*. *Conservation Genetics*,
- Kätzel, R., Nordt, B. and Schmitt, J., 2001. Untersuchungen zum Einfluß der Durchforstungsintensität auf die genetische Struktur von Kiefernbeständen in den Berliner Forsten auf der Grundlage von Isoenzym- und DNA-Markern. In: Wolf, H., (Ed.). Nachhaltige Nutzung forstgenetischer Ressourcen. Tagungsbericht zur 24. Internationalen Tagung der Arbeitsgem. f. Forstgenetik u. Forstpflanzenzüchtung. Sächsische Landesanstalt für Forsten, Pirna, Germany, pp. 159–170.
- Konnert, M. and Ruetz, W., 2003. Influence of nursery practices on the genetic structure of beech
- به کد پروژه D06C Fellowships و انستیتو ژنتیک گیاهی فلورنس ایتالیا ممکن گردیده است که به این وسیله مراتب قدردانی خود را اعلام می‌دارم.

منابع مورد استفاده

- رسانه، ی، مشتاق، م. و صالحی، پ.، 1380. بررسی کمی و کیفی جنگل‌های شمال کشور. مجموعه مقالات همایش ملی مدیریت جنگل‌های شمال و توسعه پایدار، صفحات 55–79.
- Adams, W.T., Zuo, J., Shimizu, J.Y. and Tappeiner, J.C., 1998. Impact of alternative regeneration methods on genetic diversity in coastal Douglas-fir. *Forest Science*, 44: 390–396.
- Booy, G., Hendriks, R.J.J., Smulders, M.J.M., Van Groenendael, J.M. and Vosman, B., 2000. Genetic diversity and the survival of populations. *Plant Biology*, 2: 379–395.
- Boyle, T., 2000. Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity. In: Young, A.C., Boshier, D. and Boyle, T. (Eds.). *Forest Conservation Genetics: Principles and Practice*. CAB International, New York, USA.
- Buiteveld, J., Vendramin, G.G., Leonardi, S., Kamer, K. and Geburek, T., 2007. Genetic diversity and differentiation in European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands varying in management history. *Forest Ecology and Management*, 247: 98–106.
- Cremer, E., Rumpf, H., Wolf, H., Maurer, W. and Steiner, W., 2005. Führen Durchforstungen zu Veränderungen der genetischen Strukturen von Buchenbeständen. *Forst Holz*, 60: 184–188.
- Dounavi, K.D., Steiner, W. and Maurer, W.D., 2002. Effects of different silvicultural treatments on the genetic structure of European beech populations (*Fagus sylvatica* L.). In: von Gadow, K., Nagel, J. and Saborowski, J. (Eds.). *Continuous Cover Forestry: Assessment, Analysis, Scenarios*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, New York, pp. 81–90.
- El-Kassaby, Y.A. and Benowicz, A., 2000. Effects of commercial thinning on genetic, plant species and structural diversity in second-growth Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco) stands. *Forest Genetics*, 7: 193–203.
- El-Kassaby, Y.A., Dunsworth, B.G. and Krakowski, J., 2003. Genetic evaluation of alternative silvicultural systems in coastal montane forests: western hemlock and amabilis fir. *Theoretical Applied Genetics*, 107: 598–610.

- white spruce. Theoretical Applied Genetics, 99: 954-961.
- Rajora, O.P., Rahnam, M.H., Buchert, G.P., and Dancik, B.P., 2000. Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pinus strobus*) in Ontario. Canadian Molecular Ecology, 9: 330-348.
 - Raymond, M. and Rousset, F., 1995. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. Journal of Heredity, 86: 248-249.
 - Salehi Shanjani, P., Paule, L., Khavari-Nejad, R.A., Gömöry, D. and Sagheb-Talebi, K., 2002. Allozymic variability in beech (*Fagus orientalis* Lipsky) forests over Hyrcanian zone. Journal of Forest Genetics, 9: 297-297.
 - Salehi Shanjani, P., Vettori, C., Giannini, R. and Khavari-Nejad, R.A., 2004. Intraspecific variation and geographic patterns of *Fagus orientalis* Lipsky chloroplast DNA. Silvae Genetica, 53: 193-197.
 - Salehi Shanjani, P. and Vendramin, G.G., 2005. Analysis of genetic diversity of Oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky) populations as the basis for development of gene conservation strategy in Hyrcanian forests, Iran. The 22th IUFRO World Congress, Brisbane.
 - Salehi Shanjani, P., Vendramin, G.G. and Calagari, M., 2008. Assessment of genetic structure within and among Iranian populations of beech (*Fagus orientalis* Lipsky): Implications for in situ gene conservation. The 8th IUFRO International Beech Symposium, Japan.
 - Sork, V.L., Smouse, P.E., Apsit, V.J., Dyer, R.J. and Westfall, R.D. 2005. A two-generation analysis of pollen pool genetic structure in flowering dogwood, *Cornus florida* (Cornaceae), in the Missouri Ozarks. American Journal of Botany, 92: 262-271.
 - Wolf, H., 2001. Auswirkungen von waldbaulichen Eingriffen auf die genetische Struktur von Durchforstungsbeständen der Fichte, Rotbuche und Stieleiche in Sachsen. In: Wolf, H., (Ed.). Nachhaltige Nutzung forstgenetischer Ressourcen. Tagungsbericht zur 24. Internationalen Tagung der Arbeitsgem. f. Forstgenetik u. Forstpflanzenzüchtung. Sächsische Landesanstalt für Forsten, Pirna, Germany, pp. 171-181.
 - (*Fagus sylvatica* L.) seedling populations. Forest Ecology and Management, 184(1-3): 193-200.
 - Lee, C., Wickneswari, R., Mahani, M.C. and Zakri, A.H., 2002. Effect of selective logging on the genetic diversity of *Scaphium macropodum*. Biological Conservation, 104: 107-118.
 - MacDonald, S.E., Thomas, B.R., Cherniawsky, D.M. and Purdy, B.G., 2001. Managing genetic resources of Lodgepole pine in West-Central Alberta: patterns of isozym variation in natural populations and effects of forest management. Forest Ecology and Management, 152: 45-58.
 - Namkoong, G., Koshy, M.P. and Aitken, S., 2000. Selection. In: Young, A., Boshier, D. and Boyle, T., (Eds.). Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. CSIRO and CABI, Collingwood, pp. 101-111.
 - Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583-590.
 - Ningre, F., 1997. Une définition raisonnée de la fourche du hêtre. Revue Forestière Française, 59: 32-40.
 - Oddou-Muratorio, S., Demesure, Usch, B., Péliissier, R. and Gouyon P.H., 2004. Impacts of gene flow and logging history on the local genetic structure of a scattered tree species, *Sorbus torminalis* L. Crantz. Molecular Ecology, 13: 3689-3702.
 - Palstra F.P. and Ruzzante D.E., 2008. Genetic estimates of contemporary effective population size: what can they tell us about the importance of genetic stochasticity for wild population persistence? Molecular Ecology, 17(15): 3428-47.
 - Pastorelli R., Smulders M.J.M., Van't Westende W.P.C., Vosman B., Giannini R., Vettori C. and Vendramin G.G., 2003. Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky. Molecular Ecology Notes, 3: 76-78.
 - Pastorelli, R., Smulders, M.J.M., Westende, W.P.C., Vosman, B. and Giannini, R., 2003. Characterization of microsatellite markers in *Fagua sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky. Molecular Ecology Notes, 3: 76-78.
 - Peakal, R. and Smouse, P.E., 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6: 288-295
 - Rajora, O.P., 1999. Genetic biodiversity impacts of silvicultural practices and phenotypic selection in

Effects of artificial selection on genetic structure of beech (*Fagus orientalis* Lipsky) populations

P. Salehi Shanjani^{1*}, G.G. Vendramin² and M. Calagari³

1*- Corresponding author, Asist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran. E-mail: psalehi@rifr-ac.ir

2- Prof., Institute of Plant Genetic, CNR, Via Madonna del Piano, I-50019 Sesto Fiorentino, Firenze, Italy

3- Asist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. Iran

Received: 29.05.2009

Accepted: 14.06.2010

Abstract

The impact of artificial selection as the critical practice in forest management, thinning and selection of seed trees, on genetic structure was examined in oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky). In ten beech (*Fagus orientalis* Lipsky) populations along Hyrcanian forests, genotype of trees compared with 10 selected mother trees and their seeds (each 7 seeds) as next generation, based on four highly polymorphic microsatellite loci. In two populations forked and monopodial trees and their seeds were also investigated to study phenotypically based tree selection in forest management. Significant differences were found for allelic richness (N_a), effective number of alleles (N_e), number of rare alleles, either for observed (H_o) or expected heterozygosity (H_e) between trees and seed samples in each population. Because of an association between the occurrence of rare alleles and tree phenotypes, phenotypically based tree removals were associated with a shift in allelic frequency and number of rare alleles, which followed by decreasing future genetic potential. Because of the theoretical long-term evolutionary benefit of unique gene forms, the loss of rare alleles could diminish the potential of populations to adapt to and survive ongoing environmental change. The results indicated that intense selection or thinning might severely affect genetic structure of beech population in long term, confirming efficiency of sustainable stand management policies with emphasis on the close to nature silviculture system and the employment of un-even aged form methods. As beech populations seem not to be affected by single or partial thinning activities, the selection system (both, the single and the group selection system) is a suitable silvicultural system for the Caspian beech forests.

Key words: *Fagus orientalis* Lipsky, artificial selection, microsatellites, genetic differentiation.