

## مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بنه (*Pistacia atlantica* Desf.) در جنگل‌های زاگرس بر اساس نشانگرهای مولکولی ISSR، IRAP و SCoT

هائیه شاه‌قبادی<sup>۱</sup>، نقی شعبانیان<sup>۲\*</sup>، علی خدیوی<sup>۳</sup> و محمدشفیعی رحمانی<sup>۴</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

۲- نویسنده و مسئول مکاتبات، دانشیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

پست الکترونیک: n.shabanian@uok.ac.com

۳- استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک

۴- دانشجوی دکتری، بیوتکنولوژی گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۷/۱۰

### چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی ۱۵ جمعیت بنه (*Pistacia atlantica*) شامل ۱۸۱ ژنوتیپ در جنگل‌های زاگرس با استفاده از ۱۵، ۱۲ و ۱۳ آغازگر به ترتیب از نشانگرهای مولکولی توالی‌های تکراری ساده میانی (ISSR)، چندشکلی تکثیرشده بین رتروترانسپوزون‌ها (IRAP) و چندشکلی نواحی هدف کدون شروع (SCoT) انجام شد. در نشانگر ISSR، در مجموع ۱۸۶ نوار تکثیر شد که از این تعداد ۱۶۲ نوار (۸۷ درصد) چندشکل بودند. این برآوردها در نشانگرهای IRAP و SCoT به ترتیب ۱۴۳ و ۱۳۰ (۹۰/۹ درصد) و ۱۳۶ و ۱۲۰ (۸۸ درصد) بودند. بر اساس نتایج به دست آمده، هر سه نشانگر تنوع ژنتیکی بالایی را در سطح جمعیت نشان دادند (ISSR:  $h_i = 0/22$  درصد لوکوس‌های چندشکل =  $61/92$  درصد؛ IRAP:  $h_i = 0/25$  درصد لوکوس‌های چندشکل =  $74/19$  درصد؛ SCoT:  $h_i = 0/20$  درصد لوکوس‌های چندشکل =  $64/09$  درصد). مقدار عددی ضریب تمایز ژنتیکی بین جمعیتی ( $s_i$ ) از نشانگرهای مورد استفاده یعنی ISSR، IRAP و SCoT به ترتیب برابر با  $0/28$ ،  $0/23$  و  $0/22$  محاسبه شد که نمایانگر بیشتر بودن سهم تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌هاست؛ و تجزیه واریانس مولکولی نیز آن را تأیید کرد. ضعیف بودن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها در مقابل پایه‌های داخل جمعیت‌ها می‌تواند ناشی از جریان ژنی گسترده مبتنی بر گرده‌افشانی به کمک باد بین ژنوتیپ‌های بنه در گستره جغرافیایی این مطالعه باشد. تجزیه خوشه‌ای UPGMA مبتنی بر سه نشانگر مولکولی مورد استفاده، ۱۵ جمعیت *P. atlantica* انتخاب شده برای این مطالعه را در خوشه‌های مجزا تفکیک کرد. آزمون مانتل همبستگی بین فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها و فاصله جغرافیایی آنها را معنی‌دار نشان نداد.

واژه‌های کلیدی: بنه، جریان ژنی، ژنتیک جمعیت، IRAP، SCoT

### مقدمه

درختی است و به‌عنوان یکی از نگرانی‌های عمده در زیست‌شناسی حفاظت از ذخیره‌گاه‌های ژرم پلاسمی گونه‌های جنگل شناخته شده است (Debinski & Holt,

تکه‌شدگی زیستگاه یکی از مهمترین نمایه‌های آسیب‌پذیری ژنتیکی در جمعیت‌های طبیعی گونه‌های

مدیریت ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی گونه‌های مختلف جنگل‌های زاگرس از جمله بنه، نیازمند آگاهی از میزان و پراکنش تنوع ژنتیکی و شناسایی مراکز تنوع این گونه به منظور حفاظت از آنها به عنوان ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی است (Zolfaghari et al., 2009). مطالعه و بررسی تنوع ژنتیکی درون و میان جمعیت‌های یک گونه، درک فرایندهای پیشین دخیل در تنوع ژنتیکی آن را افزایش داده (Dumolin-Lapegae et al., 1997) و اطلاعات مهمی را در مورد پایه‌ریزی برنامه‌های اصلاح ساختار جنگل و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آن به دست می‌دهد (Bihamta et al., 2015).

ایران یکی از مراکز مهم تنوع ژنتیکی گونه‌های جنس *Pistacia* به شمار می‌آید. علاوه بر اکوتیپ‌های بسیار زیادی که برای تولید محصول پسته کشت می‌شوند، تعدادی از گونه‌های وحشی این جنس در بخش وسیعی از جنگل‌های ایران یافت می‌شود (Salehi Shanjani et al., 2009). از ۱۱ گونه جنس *Pistacia*، سه گونه وحشی آن از جمله *P. atlantica* در بخش وسیعی از جنگل‌های ایران وجود دارد (Khatamsaz, 1988). گونه *P. atlantica*، گونه‌ای دوپایه و خزان‌کننده و بادگرده‌افشان از خانواده *Anacardiaceae* است. وجود بنه با پوشش نزدیک به ۲/۴۰۰/۰۰۰ هکتاری در جنگل‌های ایران به دلیل نقش آفرینی در تثبیت خاک و جلوگیری از فرسایش آبی و بادی خاک، تولید رزین، میوه و روغن برای پایداری این جنگل‌ها و همچنین برای معیشت ساکنان محلی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است (Salehi Shanjani et al., 2009). افزون بر این، گونه‌های بنه به دلیل برخورداری از ژن‌های مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده، می‌توانند منابع باارزش ژنتیکی برای ایجاد و یا اصلاح ارقام مختلف پسته باشند (Iranjo et al., 2016).

در مطالعه ارزیابی تنوع ژنتیکی در گونه‌های جنس *Pistacia* مشخصه‌های ریختاری، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی به عنوان نشانگر استفاده شده است

(2000). جمعیت‌های جداشده از هم علاوه بر کوچک شدن اندازه، به دلیل افزایش فاصله آنها از همدیگر و همچنین از جمعیت‌های مرکزی و اصلی به لحاظ پویایی بیولوژیکی در وضعیت نامطلوبی به سر می‌برند (Shaffer, 1981). در صورت کوچک ماندن یک جمعیت طی چند نسل، این جمعیت دستخوش فرسایش ژنتیکی شدید ناشی از عوامل مختلف می‌شود. افزون بر این، در جمعیت‌های کوچک، سهم پایه‌های خویشاوند در ساختار ژنتیکی جمعیت به دلیل کاهش تنوع ژنتیکی ناشی از رانش ژنتیکی در گذر زمان افزایش می‌یابد. همچنین در این جمعیت‌ها، فراوانی خودگشنی (ناشی از کمبود دانه گرده) و اینبریدینگ دووالدی، به دلیل افزایش در فراوانی پایه‌های خویشاوند، ممکن است افزایش یابد (Bihamta et al., 2015). در جمعیت‌های کوچک تکه‌شده، جریان ژنی کاهش می‌یابد و به دنبال آن اثرات نامطلوب تکه‌شدگی و جداشدگی جمعیت‌های یک گونه از هم نمود واقعی پیدا می‌کند. با وجود این، برخی مطالعات نشان داده‌اند که تکه‌شدگی در برخی موارد پراکندگی مؤثر دانه گرده (و به دنبال آن جریان ژنی) بین جمعیت‌های اصلی را افزایش می‌دهد (Bihamta et al., 2015) و به همین دلیل نتیجه‌گیری درباره پیامدهای تکه‌شدگی جنگل در غیاب نبود داده‌ها و اطلاعات معتبر از وضعیت جریان ژنی در یک گونه تا حدودی دشوار و غیرممکن است (Kramer et al., 2008).

اهمیت و نقش جنگل‌های زاگرس در تنظیم و تعدیل آب و هوا، جریان‌ات جوی، هیدرولوژی آب‌های سطحی و زیرسطحی، حفاظت خاک، جلوگیری از فرسایش، توسعه اکوتوریسم و مهمتر از همه برآورده کردن نیاز معیشتی بخشی از ساکنان این منطقه از کشور بر کسی پوشیده نیست (Valipour et al., 2014). این جنگل‌ها در اثر عوامل زیادی همانند تخریب زیستگاه، بهره‌برداری‌های بی‌رویه توسط ساکنان جنگل و استفاده غیرقانونی از زمین جنگل برای فعالیت‌های کشاورزی در دهه‌های اخیر در حال تخریب هستند (Valipour et al., 2014).

مناطق مختلف هدف تکثیر در ژنوم، می‌توان به صورت قابل اعتمادتر و بهتر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف یک گونه را آشکار و به تدوین راهبردهای لازم برای حفاظت از این گونه کمک کرد.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

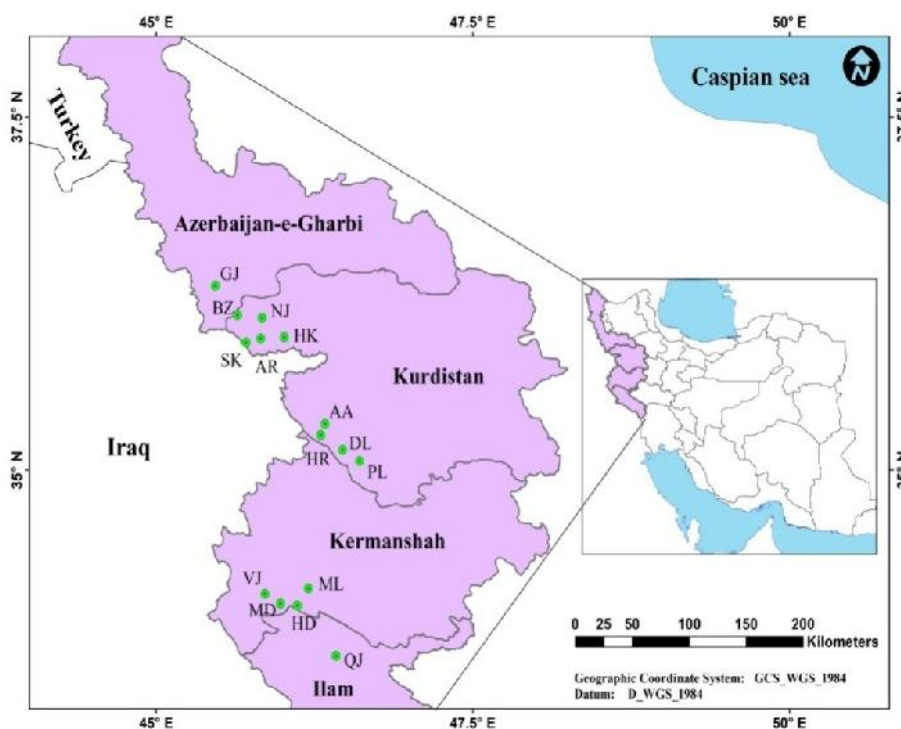
برای انجام این مطالعه از ۱۸۱ درخت انتخاب شده از ۱۵ جمعیت بنه جنگل‌های زاگرس در اردیبهشت ۱۳۹۴ نمونه برگی جمع‌آوری شد. از این جمعیت‌ها، دو جمعیت در محدوده جغرافیایی استان آذربایجان غربی، هشت جمعیت در محدوده جغرافیایی استان کردستان، چهار جمعیت در محدوده جغرافیایی استان کرمانشاه و یک جمعیت در محدوده جغرافیایی استان ایلام قرار دارند (شکل ۱ و جدول ۱). در هر جمعیت نمونه‌های برگی حداقل ۱۰ ژنوتیپ با فاصله حداقل ۱۰۰ متر از همدیگر (برای پرهیز از تکرار نمونه‌گیری از ژنوتیپ‌های مشابه) پس از ثبت موقعیت مکانی پایه‌های مورد بررسی، برداشت و تا زمان استخراج DNA در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  در آزمایشگاه نگهداری شدند.

### استخراج DNA و تجزیه و تحلیل نشانگرها

به منظور استخراج DNA ژنومی، به طور تقریبی ۱/۸ گرم بافت برگ با استفاده از ازت مایع ساییده و DNA نمونه‌ها بر اساس دستورالعمل (Doyle & Doyle, 1987) با کمی تغییرات استخراج شد. کمیت و کیفیت DNA ژنومی ژنوتیپ‌ها با استفاده از جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر (Eppendorf, BioPhotometer) و همچنین ژل آگاروز ۱ درصد کنترل و نمونه‌های DNA استخراج شده تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند. غلظت نهایی نمونه‌های DNA با استفاده از بافر Tris-EDTA با غلظت ۲۰-۲۵ نانوگرم/میکرولیتر برای انجام واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز رقیق شد.

(Tayefeh Aliakbarhany et al., 2013). با وجود این، بهره‌گیری از این صفات به تنهایی به دلیل تأثیرپذیری از شرایط محیطی و مرحله نموی گیاه چندان مورد قبول نیست (Kercher & Sytsma, 2000). پیشرفت‌های چشمگیر در ابداع و معرفی سیستم‌های انگشت‌نگاری ژنتیکی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) طی چند دهه اخیر، دامنه وسیع و متنوعی از ابزارهای مولکولی قوی فراروی محققان و دانشمندان این زمینه برای اصلاح و بررسی تنوع ژنتیکی قرار داده است. از تکنیک‌های چندشکلی DNA تکثیرشده تصادفی (RAPD؛ Hormaza et al. 1994, Kafkas et al., 2001; Kafkas & Perl-Treves, 2001)، و چندشکلی طول قطعات تکثیرشده (AFLP؛ Salehi Shanjani et al., 2009) برای اهداف مختلفی همانند یافتن و معرفی نشانگرهای وابسته به جنس، مطالعات تنوع ژنتیکی، نقشه‌یابی ژنتیکی، انگشت‌نگاری ژنتیکی، تجزیه روابط فیلوژنتیکی و ارزیابی و شناسایی ذخیره‌گاه‌های ژرم پلاسمی در گونه‌های مختلف جنس *Pistacia* از جمله بنه به طور گسترده استفاده شده است. در پژوهش Hormoza و همکاران (1994) تنوع ژنتیکی و الگوهای روابط فیلوژنتیکی ۱۵ کولتیوار *P. vara* با استفاده از نشانگرهای RAPD گزارش شده است. روابط فیلوژنتیکی گونه‌های مختلف *Pistacia* با استفاده از نشانگر مولکولی مبتنی بر آنزیم برشی یعنی AFLP ژنوم‌های هسته‌ای و کلروپلاستی توسط Salehi Shanjani و همکاران (2009) نیز مطالعه شده است.

گام نخست پایه‌ریزی برنامه‌های حفاظتی ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی بنه وجود اطلاعات لازم درباره ژنتیک حفاظتی و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی آن است که در حال حاضر در دسترس نیست. بنابراین، هدف از این مطالعه، ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مختلف بنه (*P. atlantica*) در بخش‌های شمالی و میانی جنگل‌های زاگرس با استفاده از سه نشانگر مولکولی IRAP، ISSR و SCoT بود. با بهره‌گیری از ترکیبی از انواع نشانگرهای مختلف دارای



شکل ۱- موقعیت ۱۵ جمعیت طبیعی *P. atlantica* در جنگل‌های زاگرس (GJ: گرزال؛ BZ: بانه‌زر؛ NJ: نژو؛ SK: سورکیو؛ HK: هواره‌خول؛ AR: آرمده؛ AA: احمدآباد؛ HR: هورامان؛ DL: دل؛ PL: پالنگان؛ VJ: ویژان؛ MD: میاندار؛ ML: ملینه؛ HD: حیدریه؛ QJ: قلاجی).

به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های آنها، آغازگرهای سه نشانگر مولکولی ISSR، IRAP و SCoT مورد استفاده قرار گرفتند. برای این منظور، ابتدا تکرارپذیری و الگوی نواریندی ۳۱ آغازگر ISSR، ۱۵ آغازگر IRAP و ۲۵ آغازگر SCoT مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم نهایی ۱۲ میکرولیتر شامل ۶ میکرولیتر بافر واکنش (۱/۸ میلی‌مولار  $Mg^{2+}$ ، ۱۵۰ میکرومولار dNTP و ۱ واحد تگ‌پلیمرز)، ۵ میکرومول آغازگر (۲ میکرولیتر)، ۴۰-۲۰ نانوگرم DNA ژنومی (۲ میکرولیتر) و ۴ میکرولیتر آب دیونیزه در دستگاه ترمال‌سایکلر (C-1000، )

(با برنامه: مرحله آغازین ۵ دقیقه‌ای در دمای  $94^{\circ}C$ ، سپس ۴۵ چرخه  $94^{\circ}C$ ،  $57^{\circ}C$  -۴۰ (جدول ۲) و  $72^{\circ}C$  به ترتیب به مدت ۴۵، ۹۰ و ۹۰ ثانیه و در نهایت مرحله بسط در  $72^{\circ}C$  به مدت ۱۰ دقیقه) انجام شد. محصول PCR هریک از واکنش‌ها با توجه به نوع نشانگر در ژل آگارز ۱/۲-۱ درصد تفکیک و نوارهای تکثیر شده با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید ۰/۱ درصد رنگ‌آمیزی شدند. آشکارسازی نوارهای تکثیر شده با استفاده از سیستم ژل‌داکیومنت (Gel Doc™ XR، ) انجام و بعد از نرم‌افزار دستگاه (Image Lab Software v. 4.0) برای نمره‌دهی آنها استفاده شد.

جدول ۱- جمعیت‌های نمونه‌برداری و تعداد ژنوتیپ‌های *P. atlantica* نمونه‌برداری شده از هر جمعیت (در شکل ۱ پراکنش جمعیت‌های نمونه‌برداری شده در جنگل‌های زاگرس نشان داده شده است)

جمعیت	نماینه	ارتفاع (متر)	طول جغرافیایی (E)	عرض جغرافیایی (N)	تعداد پایه
گرژال	GJ	۱۱۱۰	۴۵°۲۷'۵۹"	۳۶° ۱۸' ۲۷"	۱۲
بانه‌زر	BZ	۱۱۵۰	۴۵° ۳۸' ۳۱"	۳۶° ۰۵' ۵۸"	۱۲
نزو	NJ	۱۸۰۰	۴۵° ۵۰' ۱۰"	۳۶° ۰۴' ۴۱"	۱۲
سورکیو	SK	۱۳۵۰	۴۵° ۴۲' ۳۸"	۳۵° ۵۴' ۱۷"	۱۲
آرمده	AR	۱۷۰۰	۴۵° ۴۹' ۳۲"	۳۵° ۵۵' ۵۷"	۱۲
هه‌واره‌خول	HK	۱۶۲۰	۴۶° ۰۰' ۴۰"	۳۵° ۵۶' ۳۴"	۱۲
هورامان	HR	۱۵۸۰	۴۶° ۱۷' ۵۷"	۳۵° ۱۴' ۵۸"	۱۰
احمدآباد	AA	۱۱۰۰	۴۶° ۱۹' ۵۸"	۳۵° ۱۹' ۳۷"	۱۰
دل	DL	۱۴۸۰	۴۶° ۲۸' ۲۰"	۳۵° ۰۸' ۳۸"	۱۵
پالنگان	PL	۱۱۰۰	۴۶° ۳۶' ۱۸"	۳۵° ۰۳' ۵۱"	۱۴
ویژنان	VJ	۹۵۰	۴۵° ۵۱' ۳۳"	۳۴° ۰۷' ۲۱"	۱۲
میانداز	MD	۱۰۱۰	۴۵° ۵۸' ۵۵"	۳۴° ۰۳' ۱۷"	۱۲
حیدریه	HD	۱۱۵۰	۴۶° ۰۶' ۵۴"	۳۴° ۰۲' ۳۰"	۱۲
ملینه	ML	۱۵۵۰	۴۶° ۱۳' ۰۹"	۳۴° ۰۹' ۴۵"	۱۲
قلاجی	QJ	۲۱۰۰	۴۶° ۲۵' ۱۴"	۳۳° ۴۱' ۰۵"	۱۲
کل	۱۵	-	-	-	۱۸۱

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه ژنتیکی، نمره‌دهی نوارهای تکثیرشده از اتصال آغازگرهای ISSR، IRAP و SCoT به صورت ۱ (وجود) یا صفر (عدم وجود) انجام شد. در این مرحله، از نمره‌دهی به نوارهای نامشخص و غیرواضح پرهیز شد. پارامترهای ژنتیکی شامل تعداد کل نوارهای تکثیر شده (TB)، تعداد نوارهای چندشکل (PB) و درصد نوارهای چندشکل (PP) در سطح جمعیت، درصد مکان‌های ژنی چندشکل (PPL%)، تعداد آلل‌های مشاهده‌شده در هر لوکوس ( $A_0$ )، شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1978)  $=(h)h$

$1 - p_{2i}$ ؛ که در آن  $p_i$  فراوانی یک قطعه خاص از ISSR، IRAP و SCoT است) و شاخص اطلاعات شانون (I) در هر دو سطح جمعیت و گونه با استفاده از برنامه‌های (GenAIEx 6.1 Peakall & Smouse, 2006) و XLSTAT®، POPGENE با فرض وجود تعادل هاردی-وینبرگ در هر یک از جمعیت‌ها برآورد شدند. افزون بر این، از طریق محاسبه بزرگی نسبی تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها  $(ST = (HT - HS) / HT)$  و میزان جریان ژنی با استفاده از تابع  $(ST = (1 - ST) / 4)$   $N_m$  (Nei, 1978) ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها بیشتر مطالعه شد.

درصد نوارهای چندشکل (PB) آشکار شده در داخل جمعیت‌ها از ۴۸/۳۶ درصد در جمعیت هواره‌خول تا ۷۴/۱۵ درصد در جمعیت پالنگان با توجه به جمعیت، با میانگین ۶۱/۹۲ درصد متفاوت بود. همچنین بیشترین مقدار شاخص‌های تنوع ژنتیکی شانون (I)، ۰/۴۶ و تنوع ژنتیکی نی (h)، ۰/۲۹ برای جمعیت نژو ثبت شد. در مقابل کمترین مقدار این آماره‌ها به ترتیب با ۰/۲۱ و ۰/۱۶ در جمعیت هواره‌خول برآورد شد (جدول ۳). افزون بر این، تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) نیز انجام گردید. مقدار تنوع درون جمعیتی برآورد شده از این تجزیه و تحلیل در مقایسه با تنوع ژنتیکی بین جمعیتی ۷۳ درصد در مقابل ۲۷ درصد بود (جدول ۴). شاخص تمایز بین جمعیت‌ها ( $ST$ ) بر اساس نشانگر ISSR برابر با ۰/۲۸ برآورد شد. همچنین شاخص  $N_m$  (تعداد مهاجران در هر نسل) که نمایانگر فراوانی جریان ژنی بین جمعیت‌هاست برابر با ۱/۴۳ برآورد شد (جدول ۴).

فاصله ژنتیکی مبتنی بر انگشت‌نگاری ژنتیکی ISSR جمعیت‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است. بر این اساس، فاصله ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه از ۰/۰۳۸ (جمعیت‌های بانه‌زر و دل) متفاوت است. بر اساس آزمون مانتل همبستگی بین فاصله جغرافیایی با فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر ISSR معنی‌داری نبود ( $r_{ISSR} = -0.118$ ;  $P > 0.05$ ). به منظور ترسیم روابط ژنتیکی بین ۱۵ جمعیت مورد مطالعه، خوشه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس فاصله ژنتیکی نی و الگوریتم UPGMA انجام شد. با استفاده از داده‌های ISSR، جمعیت‌های مورد مطالعه در هشت گروه دسته‌بندی شدند (گروه یک شامل جمعیت گرژال به تنهایی؛ گروه دو شامل جمعیت‌های بانه‌زر و نژو؛ گروه سه شامل جمعیت‌های سورکیو، آرمده، هواره‌خول و هورامان؛ گروه چهار شامل جمعیت‌های احمدآباد و دل؛ خوشه پنج شامل جمعیت پالنگان به تنهایی؛ گروه شش شامل جمعیت‌های ملینه و قلاجی؛ گروه هفت شامل جمعیت‌های ویزنان و میاندار و خوشه هشت شامل جمعیت حیدریه به تنهایی) (شکل ۲).

به منظور تفکیک واریانس ژنتیکی کل به واریانس ژنتیکی درون جمعیتی و واریانس ژنتیکی بین جمعیتی با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) انجام شد (Excoffier et al., 1992). درخت فیلوژنتیکی جمعیت‌ها بر اساس هریک از نشانگرها و با استفاده از روش UPGMA و فاصله ژنتیکی نی ترسیم شد. همچنین، با استفاده از آزمون مانتل همبستگی بین فواصل ژنتیکی با فواصل جغرافیایی جمعیت‌ها مورد آزمون قرار گرفت (Mantel, 1967).

## نتایج

### تجزیه و تحلیل ISSR

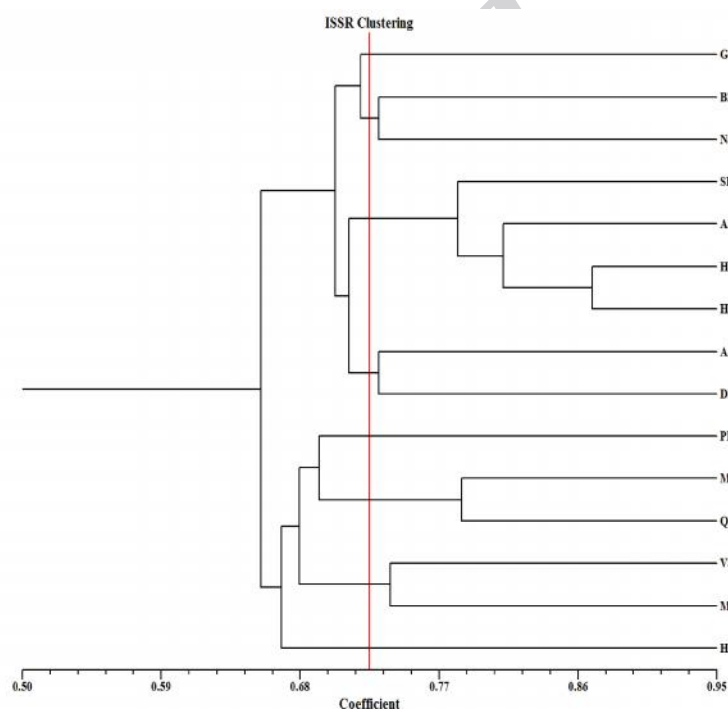
به منظور بررسی تنوع ژنتیکی بین ۱۸۱ پایه انتخاب شده از جمعیت *P. atlantica*، از مجموع ۳۱ آغازگر مورد ارزیابی اولیه، ۱۵ آغازگر از نشانگر ISSR استفاده شد. از این تعداد آغازگر، در مجموع ۱۸۶ نوار تکثیر شد که از این تعداد ۱۶۲ نوار (۸۷ درصد) چندشکل بودند (جدول ۲). با توجه به آغازگر، اندازه نوارهای تکثیر شده از آغازگرهای این نشانگر از ۱۰۰ تا ۲۸۰۰ جفت‌باز متفاوت بود. تعداد نوار تکثیر شده از این آغازگرها با میانگین ۱۲/۴ نوار از ۱۰ (UBC 834) تا ۱۵ (UBC 840) متفاوت بود. همچنین درصد چندشکلی آشکار شده از آغازگرها از ۷۷ درصد (UBC 873) تا ۱۰۰ درصد (UBC 812, UBC 825, UBC 840) متفاوت بود. میانگین این آماره در همه آغازگرها در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۸۷/۲ درصد بود (جدول ۲).

مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) آغازگرها بین ۰/۲۳ (برای آغازگر nISSR2) و ۰/۳۲ (برای آغازگرهای UBC 808 و UBC 853) با میانگین ۰/۲۸ متفاوت بود (جدول ۲). مقدار تنوع ژنتیکی نی (h) برآورد شده از آغازگرها نیز با توجه به آغازگر متفاوت بود؛ به طوری که بیشترین مقدار این آماره در آغازگرها UBC818 و UBC 866 با ۰/۳۸ و کمترین مقدار آن در آغازگر UBC841 با ۰/۲۱ ثبت شد (جدول ۲).

## تجزیه و تحلیل IRAP

از مجموع ۱۵ آغازگر مورد ارزیابی اولیه از نشانگر IRAP، ۱۲ آغازگر برخوردار از الگوی نواری قابل نمره‌دهی و تکرارپذیر برای بررسی تنوع ژنتیکی بین ۱۸۱ پایه انتخاب شده از ۱۵ جمعیت *P. atlantica* به کار برده شدند. این تعداد آغازگر، در مجموع ۱۴۳ نوار تکثیر کردند که از این تعداد ۱۳۰ نوار (۹۱ درصد) چندشکل بود (جدول ۲). اندازه نوارهای تکثیر شده از آغازگرهای این نشانگر نیز با توجه به آغازگر متفاوت و از ۱۰۰ تا ۲۶۰۰ جفت باز متغیر بود. همچنین میانگین تعداد نوار تکثیر شده از این آغازگرها ۱۱/۹ و از ۹ (URP17R) تا ۱۶ (Hana) متغیر بود (جدول ۲). این

آغازگرها درصد چندشکلی متفاوتی را از زوتیپ‌های مورد مطالعه آشکار کردند. به طوری که این عدد نیز با توجه به نوع آغازگر از ۸۲ درصد (Sukkula) تا ۱۰۰ درصد (آغازگرهای Hana، 5'LTR1، LTR6149 و LTR6150) متفاوت و میانگین آن در همه آغازگرها ۹۱ درصد بود (جدول ۲). مقدار برآورده شده PIC آغازگرهای IRAP با میانگین ۰/۲۶ از ۰/۱۶ (آغازگر Hana) و ۰/۳۴ (آغازگر URP17R) متغیر بود (جدول ۲). بیشترین مقدار آماره تنوع ژنتیکی نی (h) برآورده شده برای آغازگر Nikita با ۰/۳۵ و کمترین مقدار آن برای آغازگر Gagi با ۰/۲۴ ثبت شد (جدول ۲).



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۵ جمعیت *P. atlantica* بر اساس الگوریتم UPGMA مبتنی بر انگشت‌نگاری نشانگر ISSR



جدول ۲- توالی نوکلئوتیدی و اطلاعات ژنتیکی برآورد شده از آغازگرهای سه نشانگر مولکولی IRAP، ISSR و SCoT

PIC	h	PP (%)	PB	TB	FS (bp)	AT (°C)	توالی ۵' ۳'	آغازگر
<i>ISSR</i>								
۰/۳۲	۰/۲۸	۸۳	۱۰	۱۲	۵۰۰-۲۵۰۰	۵۱/۳	AG AGAGAGAGAGAGAGC	UBC 808
۰/۲۹	۰/۳۰	۸۰	۱۲	۱۵	۱۵۰-۲۸۰۰	۵۲/۲	GAGAGAGAGAGAGAGAC	UBC 811
۰/۲۸	۰/۳۲	۱۰۰	۱۱	۱۱	۱۰۰-۲۲۰۰	۵۰/۱	GAGAGAGAGAGAGAGAA	UBC 812
۰/۳۰	۰/۳۸	۸۵	۱۲	۱۴	۲۵۰-۱۹۰۰	۵۲/۵	CACACACACACACACAG	UBC 818
۰/۲۴	۰/۲۹	۸۲	۹	۱۱	۲۵۰-۲۴۰۰	۵۳/۱	GTGTGTGTGTGTGTGTT	UBC 821
۰/۲۵	۰/۲۸	۱۰۰	۱۲	۱۲	۵۰۰-۲۸۰۰	۵۰/۶	ACACACACACACACT	UBC 825
۰/۲۹	۰/۲۸	۱۰۰	۱۰	۱۰	۲۵۰-۲۲۰۰	۵۳/۲	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	UBC 834
۰/۳۰	۰/۲۲	۱۰۰	۱۵	۱۵	۵۰۰-۲۴۵۰	۴۸/۲	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	UBC 840
۰/۳۱	۰/۲۱	۸۳	۱۰	۱۲	۱۵۰-۲۵۰۰	۵۴/۴	GAGAGAGAGAGAGAGYC	UBC 841
۰/۳۲	۰/۳۲	۹۰	۱۰	۱۱	۳۰۰-۲۸۰۰	۴۹/۸	TCTCTCTCTCTCTCRT	UBC 853
۰/۲۹	۰/۳۸	۸۳	۱۰	۱۲	۲۵۰-۲۵۰۰	۵۶/۱	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	UBC 866
۰/۲۵	۰/۳۶	۷۹	۱۱	۱۴	۲۵۰-۲۳۰۰	۵۰/۵	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	UBC 868
۰/۲۴	۰/۳۷	۷۷	۱۰	۱۳	۲۵۰-۲۵۰۰	۵۳/۱	GACAGACAGACAGACA	UBC 873
۰/۲۳	۰/۳۵	۸۳	۱۰	۱۲	۱۰۰-۲۵۰۰	۵۲/۵	CAACAACAACAACA	nIssr2
۰/۲۹	۰/۳۳	۸۳	۱۰	۱۲	۲۵۰-۲۸۰۰	۵۳/۴	AGGGAGAGGAGGAGGAGG	nIssr3
۴/۰۶	۴/۶۷	۱۲۳۸	۱۶۲	۱۸۶	-	-	-	کل
۰/۲۸	۰/۳۱	۸۲/۵	۱۰/۸	۱۲/۴	-	-	-	میانگین
<i>IRAP</i>								
۰/۱۶	۰/۳۲	۱۰۰	۱۶	۱۶	۲۵۰-۲۵۰۰	۴۵/۷	CACGATTCACCTTAATATCTGACA	Hana
۰/۲۲	۰/۲۴	۸۷	۱۳	۱۵	۲۵۰-۲۶۰۰	۴۳/۲	TAACCGCTAGGGTCGTAACA	Gagi
۰/۲۳	۰/۲۵	۹۱	۱۰	۱۱	۲۵۰-۱۷۰۰	۴۲/۰	GGGAACCAACCGTCACA	Gaga
۰/۲۵	۰/۲۸	۸۳	۱۰	۱۲	۵۰۰-۲۶۰۰	۴۰/۱	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCAACA	3 LTR
۰/۲۵	۰/۳۲	۱۰۰	۱۱	۱۱	۲۵۰-۲۲۰۰	۴۲/۵	ACAACCTTTATACGGGATCTCCGTT	5 LTR1
۰/۲۶	۰/۳۱	۱۰۰	۱۲	۱۲	۲۰۰-۲۰۰۰	۴۵/۱	CTCGCTCGCCACACATCAACCGCGT TTAT	LTR6149
۰/۲۷	۰/۳۰	۱۰۰	۱۰	۱۰	۲۵۰-۲۵۰۰	۵۸/۰	ATGTACACACCTATGTATCTGTACCCGG CTTGGTC	LTR6150
۰/۲۸	۰/۳۳	۸۳	۱۰	۱۲	۲۰۰-۲۲۰۰	۴۰/۴	CTTAATACGGGATCTCCCTTACTA	5 LTR2



PIC	h	PP (%)	PB	TB	FS (bp)	AT (°C)	توالی ۳' ۵'	آغازگر
۰/۲۹	۰/۳۳	۸۲	۹	۱۱	۲۵۰-۲۱۰۰	۴۶/۷	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	Sukkula
۰/۲۲	۰/۳۵	۸۶	۱۲	۱۴	۳۰۰-۲۶۰۰	۴۳/۲	CGCATTGTTCAGCCTAAACC	Nikita
۰/۳۱	۰/۳۴	۹۰	۹	۱۰	۲۵۰-۲۵۰۰	۴۶/۲	ATCCAAGGTCCGAGACAACC	URPIF
۰/۳۴	۰/۳۱	۸۹	۸	۹	۲۰۰-۲۵۰۰	۴۵/۲	AATGTGGGCAAGCTGGTGGT	URP17R
۳/۱۸	۳/۶۸	۱۰۹۱	۱۳۰	۱۴۳	-	-	-	کل
۰/۲۶	۰/۳۰	۹۰/۹	۱۰/۸	۱۱/۹۱	-	-	-	میانگین
								SCoT
۰/۱۵	۰/۳۳	۹۲	۱۲	۱۳	۲۵۰-۲۸۰۰	۵۰/۷	CAACAATGGCTACCACCC	SCoT-2
۰/۱۸	۰/۳۴	۹۰	۹	۱۰	۲۵۰-۲۲۰۰	۵۰/۰	CAACAATGGCTACCACGA	SCoT-5
۰/۲۲	۰/۳۱	۸۰	۸	۱۰	۲۵۰-۲۵۰۰	۵۰/۱	CAACAATGGCTACCACGC	SCoT-6
۰/۲۱	۰/۲۸	۹۱	۱۰	۱۱	۲۵۰-۲۴۰۰	۵۰/۵	CAACAATGGCTACCACGG	SCoT-7
۰/۲۶	۰/۲۶	۹۰	۹	۱۰	۲۰۰-۲۳۰۰	۵۰/۱	CAACAATGGCTACCACGT	SCoT-8
۰/۲۴	۰/۲۳	۸۹	۸	۹	۲۰۰-۲۸۰۰	۵۰/۰	CAACAATGGCTACCAGCC	SCoT-10
۰/۲۲	۰/۲۷	۸۸	۷	۸	۲۰۰-۲۶۰۰	۵۰/۴	AAGCAATGGCTACCACCA	SCoT-11
۰/۳۱	۰/۲۹	۱۰۰	۱۰	۱۰	۲۰۰-۲۲۰۰	۵۱/۷	ACGACATGGCGACCAACG	SCoT-12
۰/۱۹	۰/۳۴	۱۰۰	۱۰	۱۰	۲۰۰-۲۴۰۰	۵۱/۲	ACGACATGGCGACCACGC	SCoT-14
۰/۱۸	۰/۲۸	۹۰	۹	۱۰	۲۵۰-۲۵۰۰	۵۰/۲	ACGACATGGCGACCGCGA	SCoT-15
۰/۲۱	۰/۳۵	۸۳	۱۰	۱۲	۲۵۰-۲۴۰۰	۵۲/۲	ACCATGGCTACCACCGCG	SCoT-20
۰/۲۲	۰/۳۲	۶۷	۸	۱۲	۱۵۰-۲۵۰۰	۵۰/۴	AACCATGGCTACCACCAC	SCoT-22
۰/۲۴	۰/۲۸	۹۱	۱۰	۱۱	۲۰۰-۲۳۰۰	۵۱/۵	ACCATGGCTACCACCGGG	SCoT-25
۲/۸۳	۳/۸۷	۱۱۵۱	۱۲۰	۱۳۶	-	-	-	کل
۰/۲۱	۰/۲۹	۸۸/۵	۹/۲	۱۰/۴	-	-	-	میانگین

AT: دمای بهینه اتصال؛ TB: تعداد نوار تکثیر شده؛ FS: دامنه اندازه قطعات تکثیر شده؛ PB: تعداد نوار چندشکل؛ PP: درصد چندشکلی؛ h: تنوع ژنتیکی نی؛ PIC: محتوای اطلاعات چندشکلی

شانون (I)، ۰/۳۲ و تنوع ژنتیکی نی (h)، ۰/۴۹ برای جمعیت دل برآورد شد. در مقابل کمترین مقدار این آماره‌ها به ترتیب با ۰/۱۹ و ۰/۱۱ برای جمعیت هواره خول محاسبه شد (جدول ۲). همچنین، تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) مبتنی بر

درصد نوارهای چندشکل (PPL) آشکار شده در داخل جمعیت‌ها با میانگین ۷۸ درصد، از ۴۶/۶۱ در جمعیت ملینه تا ۸۷/۴۹ درصد در جمعیت احمدآباد متفاوت بود. افزون بر این، بیشترین مقدار شاخص‌های تنوع ژنتیکی

جمعیت‌ها بود (جدول ۴). شاخص‌های  $N_m$  و  $ST$  محاسبه شده مبتنی بر آغازگرهای نشانگر IRAP به ترتیب برابر با ۰/۲۳ و ۱/۱۲ بود (جدول ۴).

این نشانگر نشان داد که ۶۶ درصد از تنوع ژنتیکی کل برآورد شده ناشی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها و ۳۴ درصد باقیمانده این تنوع به دلیل تنوع ژنتیکی بین

جدول ۳- خلاصه تجزیه تنوع ژنتیکی نشانگرهای IRAP، ISSR و SCoT در ۱۵ جمعیت *P. atlantica*

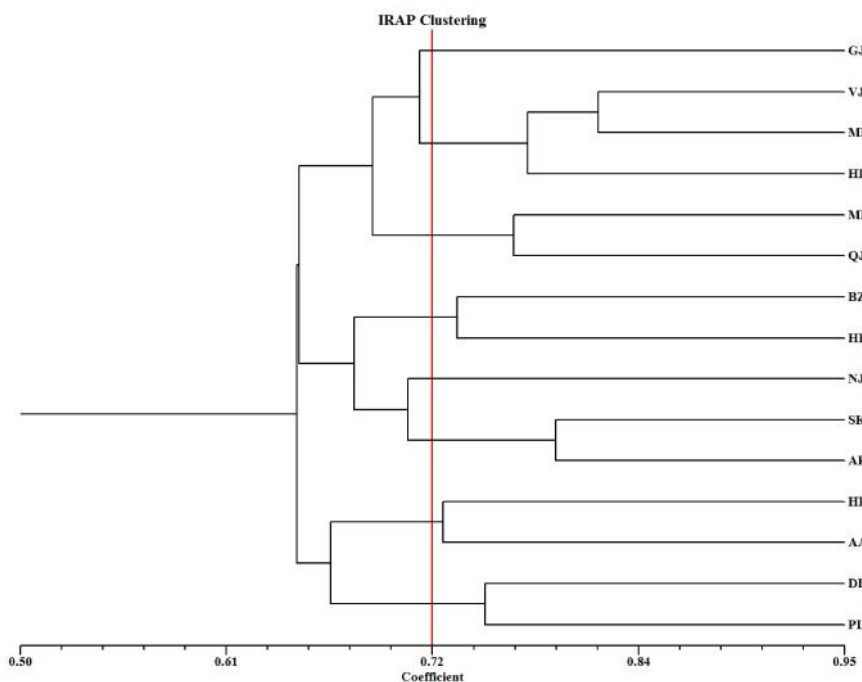
جمعیت	PPL			h			A <sub>0</sub>			I		
	SCoT	IRAP	ISSR	SCoT	IRAP	ISSR	SCoT	IRAP	ISSR	SCoT	IRAP	ISSR
GJ	۶۵/۱۷	۸۵/۱۷	۷۲/۶۵	۰/۲۱	۰/۴۶	۰/۲۸	۱/۱۱	۱/۱۹	۱/۳۴	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۲۵
BZ	۸۵/۲۹	۷۵/۲۹	۶۳/۲۴	۰/۲۳	۰/۳۲	۰/۱۹	۱/۳۹	۱/۳۶	۱/۱۴	۰/۳۰	۰/۲۱	۰/۳۳
NJ	۶۲/۵۴	۷۲/۵۴	۷۲/۱۵	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۲۹	۱/۰۲	۱/۴۲	۱/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۴	۰/۴۶
SK	۸۴/۷۴	۸۱/۷۲	۶۵/۵۲	۰/۲۱	۰/۲۶	۰/۱۴	۱/۵۹	۱/۴۶	۱/۴۸	۰/۳۳	۰/۲۳	۰/۲۵
AR	۵۶/۹۹	۶۶/۹۹	۵۵/۴۴	۰/۲۴	۰/۲۷	۰/۱۶	۱/۳۲	۱/۵۳	۱/۵۹	۰/۳۴	۰/۲۸	۰/۲۶
HK	۴۹/۲۶	۷۵/۲۶	۴۸/۳۶	۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۲۳	۱/۲۱	۱/۵۱	۱/۴۹	۰/۲۹	۰/۲۰	۰/۲۱
HR	۵۵/۶۱	۶۸/۵۲	۵۱/۳۶	۰/۲۰	۰/۱۱	۰/۱۶	۱/۳۸	۱/۲۸	۱/۳۳	۰/۲۸	۰/۱۹	۰/۳۲
AA	۷۴/۳۷	۸۷/۴۹	۷۳/۸۲	۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۱۳	۱/۲۸	۱/۲۳	۱/۲۴	۰/۲۹	۰/۲۱	۰/۲۴
DL	۷۲/۲۹	۷۳/۲۹	۶۵/۲۷	۰/۱۹	۰/۴۹	۰/۲۱	۱/۴۹	۱/۳۶	۱/۳۳	۰/۲۸	۰/۳۲	۰/۳۸
PL	۶۳/۵۴	۷۰/۵۴	۷۴/۱۵	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۱۹	۱/۱۱	۱/۲۴	۱/۲۹	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۳
VJ	۶۵/۲۸	۷۲/۶۵	۶۷/۱۶	۰/۱۹	۰/۲۶	۰/۳۷	۱/۱۹	۱/۱۹	۱/۱۸	۰/۳۲	۰/۲۳	۰/۲۵
MD	۵۸/۹۹	۶۴/۹۹	۵۷/۱۷	۰/۲۱	۰/۲۲	۰/۱۶	۱/۴۴	۱/۳۲	۱/۴۹	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۴۵
HD	۶۴/۸۴	۷۶/۳۲	۵۰/۱۵	۰/۱۷	۰/۲۳	۰/۲۲	۱/۵۴	۱/۴۲	۱/۵۲	۰/۱۹	۰/۲۰	۰/۲۲
ML	۴۳/۶۱	۶۸/۲۱	۵۳/۶۴	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۱۹	۱/۶۴	۱/۱۶	۱/۱۳	۰/۲۱	۰/۲۱	۰/۳۸
QJ	۵۸/۹۷	۷۳/۹۷	۵۸/۸۱	۰/۲۳	۰/۲۵	۰/۱۳	۱/۱۵	۱/۱۹	۱/۴۹	۰/۲۱	۰/۲۳	۰/۲۶
میانگین	۶۴/۰۹	۷۴/۱۹	۶۱/۹۲	۰/۲۰	۰/۲۵	۰/۲۲	۱/۳۲	۱/۳۲	۱/۳۵	۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۲۹

PPL: درصد مکان‌های زنی چندشکل؛ A<sub>0</sub>: تعداد آل مشاهده شده؛ h: تنوع ژنتیکی نی؛ I: شاخص اطلاعات شانون

ژنتیکی مبتنی بر هر دو نشانگر IRAP وجود نداشت ( $r_{IRAP} = -0.118$ ;  $P > 0.05$ ). در خوشه‌بندی جمعیت‌ها براساس فاصله ژنتیکی نی و الگوریتم UPGMA با استفاده از داده‌های IRAP، جمعیت‌های مورد مطالعه در هشت گروه دسته‌بندی شدند؛ به طوری که در خوشه یک جمعیت گرژال به تنهایی، در خوشه دو

در جدول ۵ فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها بر اساس داده‌های ژنتیکی IRAP نشان داده شده است. بر اساس این داده‌ها فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها از ۰/۰۵۴ (برای جمعیت‌های ملینه و حیدریه) تا ۰/۱۲۲ (برای جمعیت‌های قلاجی و گرژال) متغیر بود. بر اساس آزمون مانتل همبستگی معنی‌داری بین فاصله جغرافیایی و فاصله

جمعیت‌های ویژنان، میاندار و حیدریه، در خوشه سه جمعیت‌های ملینه و قلاجی، در خوشه چهار دو جمعیت بانزر و هواره‌خول با هم و بقیه جمعیت‌ها هم در خوشه‌های مجزایی تفکیک شدند (شکل ۳).



شکل ۳- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۵ جمعیت *P. atlantica* بر اساس الگوریتم UPGMA مبتنی بر انگشت‌نگاری نشانگر IRAP

### تجزیه و تحلیل SCoT

در نشانگر SCoT ابتدا ۲۵ آغازگر مورد ارزیابی اولیه قرار گرفت که از این تعداد ۱۳ آغازگر نوارهای واضح و قابل نمره‌دهی تولید کردند و در بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های هدف استفاده شد. این تعداد آغازگر، در مجموع ۱۳۶ نوار تکثیر کردند و از این تعداد نوار تکثیر شده ۱۲۰ نوار (۸۸ درصد) چندشکل بودند (جدول ۲). با توجه به

آغازگر، دامنه اندازه نوارهای تکثیر شده از آغازگرهای این نشانگر بین ۲۰۰ تا ۲۸۰۰ جفت‌باز متغیر بود. از آغازگرهای این نشانگر ۸ (SCoT-11) تا ۱۲ (SCoT-2) نوار با میانگین ۱۰/۴ تکثیر شد. همچنین آغازگرها با میانگین ۸۸/۵ درصد، درصدهای متفاوتی از چندشکلی را از ۶۷ درصد (SCoT-22) تا ۱۰۰ درصد (SCoT-11, SCoT-12) آشکار کردند (جدول ۲).

جدول ۴- تجزیه واریانس مولکولی ۱۸۱ ژنوتیپ در ۱۵ جمعیت *P. atlantica* بر اساس آغازگرهای IRAP, JSSR و SCoT

$N_m$	ST	درصد اجزاء واریانس	اجزاء واریانس	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
ISSR							
۱/۴۳	۰/۲۸	۲۷	۶/۴۶	۶۳/۹۲**	۹۸۹/۳۲	۱۴	بین جمعیتی
۰/۲۱	-	۷۳	۱۷/۴۳	۲۲/۷۱	۳۸۱۹/۶۲	۱۶۶	درون جمعیتی
IRAP							
۱/۱۲	۰/۲۳	۳۴	۷/۴۸	۷۳/۱۹**	۶۱۴/۳۸	۱۴	بین جمعیتی
۰/۲۴	-	۶۶	۱۴/۴	۱۶/۱۵	۲۸۱۵/۶۳	۱۶۶	درون جمعیتی
SCoT							
۱/۱۵	۰/۲۲	۴۳	۷/۸۹	۶۲/۲۴**	۷۸۴/۹۶	۱۴	بین جمعیتی
۰/۲۳	-	۵۷	۱۰/۴۲	۱۴/۴۰	۲۵۴۷/۶۱	۱۶۶	درون جمعیتی

\*\* : معنی دار در سطح ۱٪

شاخص‌های تنوع ژنتیکی شانون (I)، ۰/۳۴ و تنوع ژنتیکی نی (h)، ۰/۲۴ برای جمعیت آرمرده و در مقابل کمترین مقدار این آماره‌ها به ترتیب با ۰/۱۷ و ۰/۱۹، برای جمعیت حیدریه ثبت شد (جدول ۳). علاوه بر این، تجزیه و تحلیل واریانس مولکولی (AMOVA) ۵۷ درصد از تنوع ژنتیکی کل آشکار شده را به تنوع درون جمعیت‌ها و ۴۳ درصد بقیه را به تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها نسبت داد (جدول ۴). همچنین بر اساس این نشانگر شاخص‌های  $N_m$  و ST به ترتیب ۰/۲۲ و ۱/۱۵ بود (جدول ۴).

با توجه به نوع آغازگر SCoT، آماره‌های PIC و  $h$  بر آورده شده از کارکرد آغازگرها متفاوت بود؛ به طوری که به ترتیب با میانگین ۰/۲۱ و ۰/۲۹، دامنه مقدار این شاخص‌ها به ترتیب از ۰/۱۵ (برای آغازگر SCoT-2) تا ۰/۳۱ (برای آغازگر SCoT-12) و ۰/۲۳ (آغازگر SCoT-10) تا ۰/۳۵ (SCoT-20) متفاوت بود (جدول ۲). درصد نوارهای چندشکل (PB) آشکار شده در سطح جمعیت، با میانگین ۴۶/۰۹ درصد، از ۴۹/۲۶ در جمعیت هواره خول تا ۸۵/۲۹ درصد در جمعیت بانه زر با توجه به جمعیت متفاوت بود. به طوری که بیشترین مقدار

جدول ۵- فواصل ژنتیکی\* برآورد شده ناریب نی میان جفت جمعیت‌های *P. atlantica* بر اساس نشانگرهای IRAP، JSSR و SCoT

QJ	ML	HD	MD	VJ	PL	DL	AA	HR	HK	AR	SK	NJ	BZ	GJ	جمعیت
./۰۷۰	./۰۷۲	./۰۷۳	./۰۷۹	./۰۷۸	./۰۶۴	./۱۱۲	./۱۱۳	./۱۰۱	./۱۰۲	./۰۸۳	./۰۷۸	./۰۶۴	./۰۶۸	****	GJ
./۱۰۲	./۰۷۹	./۰۹۸	./۰۹۹	./۱۰۲	./۱۰۲	./۱۳۱	./۱۰۹	./۱۰۷	./۱۰۲	./۰۹۳	./۰۸۷	./۰۶۴	****	./۰۶۹	BZ
./۰۹۸	./۰۶۶	./۰۵۸	./۰۶۸	./۰۹۸	./۰۷۸	./۰۸۹	./۰۶۳	./۰۸۷	./۰۶۹	./۰۶۸	./۰۳۸	****	./۰۶۵	./۰۵۸	NJ
./۰۹۹	./۰۶۳	./۰۶۸	./۰۸۹	./۰۷۸	./۰۶۸	./۰۸۲	./۰۶۸	./۰۹۸	./۰۸۹	./۰۷۸	****	./۰۹۲	./۰۷۱	./۰۶۷	SK
./۰۹۲	./۰۷۶	./۰۷۰	./۰۸۳	./۰۸۲	./۰۹۹	./۱۱۳	./۱۱۲	./۱۱۴	./۱۰۸	****	./۱۰۳	./۱۱۱	./۱۰۶	./۱۰۲	AR
./۱۰۱	./۰۸۴	./۰۹۲	./۰۷۸	./۰۹۸	./۱۰۳	./۱۰۹	./۱۱۰	./۱۰۲	****	./۱۱۲	./۰۸۵	./۰۶۵	./۰۹۸	./۱۱۲	HK
./۱۲۵	./۱۲۳	./۱۱۲	./۰۷۸	./۰۹۸	./۰۹۷	./۱۲۲	./۰۹۸	****	./۰۹۸	./۱۱۲	./۰۸۵	./۰۹۸	./۱۱۴	./۱۱۲	HR
./۱۲۱	./۱۱۷	./۱۲۸	./۱۱۵	./۱۲۴	./۱۲۳	./۱۲۱	****	./۰۹۶	./۱۰۱	./۱۱۰	./۰۷۹	./۰۸۷	./۰۸۵	./۰۹۸	AA
./۱۰۱	./۱۲۱	./۰۹۸	./۰۸۴	./۰۶۸	./۰۷۸	****	./۰۹۰	./۰۹۲	./۰۹۸	./۱۱۳	./۱۱۲	./۱۱۰	./۰۸۸	./۰۸۷	DL
./۰۹۹	./۰۷۳	./۰۸۲	./۰۸۳	./۰۷۴	****	./۰۹۳	./۰۹۱	./۰۹۲	./۰۹۱	./۰۹۰	./۰۹۳	./۰۹۷	./۰۹۸	./۰۸۷	PL
./۱۱۱	./۱۰۲	./۱۰۳	./۱۰۱	****	./۰۸۱	./۰۸۳	./۰۸۰	./۰۸۲	./۰۸۴	./۰۷۷	./۰۹۹	./۰۹۸	./۰۸۴	./۰۸۵	VJ
./۰۸۵	./۰۹۸	./۰۸۷	****	./۰۸۳	./۰۸۵	./۰۸۴	./۰۸۳	./۰۸۲	./۰۸۷	./۰۹۸	./۱۲۳	./۱۲۱	./۱۱۱	./۰۸۲	MD
./۰۷۶	./۰۸۲	****	./۰۷۶	./۰۹۷	./۰۶۵	./۰۸۱	./۰۸۲	./۰۸۳	./۰۹۸	./۱۲۲	./۱۲۵	./۱۱۰	./۱۱۲	./۱۱۱	HD
./۰۹۸	****	./۰۹۷	./۰۹۷	./۰۹۳	./۰۹۹	./۰۹۱	./۰۹۷	./۰۸۲	./۰۶۱	./۰۵۸	./۰۶۹	./۰۶۷	./۰۸۴	./۰۵۴	ML
****	./۰۹۴	./۰۸۰	./۰۸۰	./۰۸۳	./۰۸۲	./۰۸۷	./۰۸۱	./۰۷۰	./۰۷۸	./۰۷۹	./۰۸۲	./۰۸۱	./۰۸۰	./۰۵۵	QJ
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
./۱۱۱	./۰۷۳	./۰۷۳	./۰۷۳	./۰۷۳	./۰۷۳	./۱۱۱	./۰۷۳	./۰۹۷	./۱۰۳	./۰۸۹	./۰۷۱	./۰۶۵	./۰۶۸	****	GJ

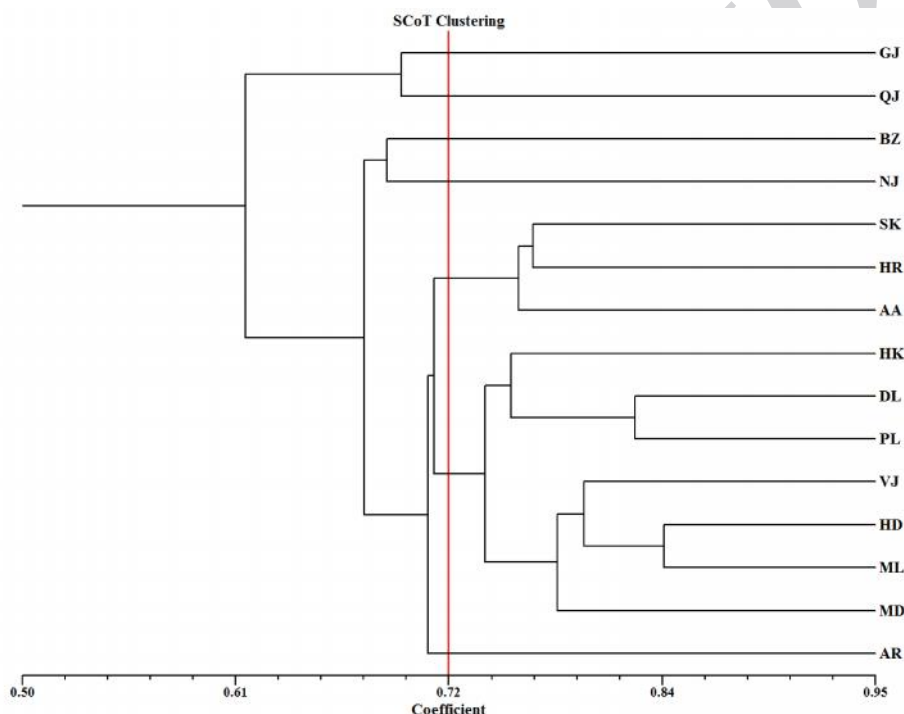
QJ	ML	HD	MD	VJ	PL	DL	AA	HR	HK	AR	SK	NJ	BZ	GJ	جمعیت
./112	./079	./098	./095	./091	./087	./131	./099	./117	./105	./094	./078	./068	****	-	BZ
./083	./082	./085	./086	./084	./087	./097	./085	./110	./111	./078	./025	****	-	-	NJ
./093	./076	./086	./096	./091	./094	./083	./086	./085	./096	./078	****	-	-	-	SK
./093	./079	./075	./078	./098	./087	./096	./085	./112	./043	****	-	-	-	-	AR
./101	./083	./083	./098	./100	./102	./103	./073	./082	****	-	-	-	-	-	HK
./124	./086	./128	./125	./123	./124	./121	./075	****	-	-	-	-	-	-	HR
./110	./098	./061	./063	./062	./064	./065	****	-	-	-	-	-	-	-	AA
./098	./087	./063	./061	./082	./064	****	-	-	-	-	-	-	-	-	DL
./093	./097	./094	./092	./099	****	-	-	-	-	-	-	-	-	-	PL
./112	./081	./072	./078	****	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	VJ
./108	./110	./113	****	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	MD
./074	./072	****	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	HD
./074	****	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ML
****	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	QJ

\* فواصل ژنتیکی بر اساس آغازگرهای ISSR در بالای محور قطری، بر اساس آغازگرهای IRAP در پایین محور قطری و بر اساس نشانگرهای SCoT در بخش پایین جدول نشان داده شده‌اند.

جمعیت مورد مطالعه براساس فاصله ژنتیکی نی و الگوریتم UPGMA مبتنی بر داده‌های SCoT، جمعیت‌های مورد مطالعه را در شش گروه شامل جمعیت‌های گرژال، قلاجی، بانه‌زر و نژو هریک به‌تنهایی در خوشه‌های جداگانه، جمعیت‌های سورکیو، هورامان و احمدآباد در خوشه چهار، جمعیت‌های هواره‌خول، دل، پالنگان، ویزنان، حیدریه، ملینه و میاندار در خوشه پنج و جمعیت آرمرده به‌تنهایی در خوشه شش تفکیک کرد (شکل ۴).

در جدول ۵ فاصله ژنتیکی برآوردشده از انگشت‌نگاری ژنتیکی SCoT بین جمعیت‌ها ارائه شده است. بر اساس این داده‌ها کمترین فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها برای جمعیت‌های نژو و سورکیو (۰/۰۳۵) و بیشترین آن برای جمعیت‌های هورامان و حیدریه (۰/۱۲۸) ثبت شد (جدول ۵). همچنین نتایج آزمون مانتل همبستگی بین فاصله جغرافیایی و فاصله ژنتیکی مبتنی بر هر نشانگر SCoT را معنی‌دار نشان داد ( $P > ۰/۰۵$ ;  $-۰/۱۱۸ = r_{SCoT}$ ).

خوشه‌بندی جمعیت‌ها به‌منظور ترسیم روابط ژنتیکی ۱۵



شکل ۴- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای ۱۵ جمعیت *P. atlantica* بر اساس الگوریتم UPGMA مبتنی بر انگشت‌نگاری نشانگر SCoT

## بحث

تکنیک‌ها به هدف مطالعه، فرم زادآوری گونه مورد مطالعه و ساختار ژنتیکی آن، سهولت به‌کارگیری این نشانگرها و قابلیت آنها در آشکارسازی تنوع ژنتیکی بستگی دارد (Vogel *et al.*, 1996). در این مطالعه از سه نشانگر مولکولی ISSR، IRAP و SCoT برای بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین ۱۵ جمعیت *P. atlantica* از جنگل‌های

امروزه نشانگرهای مولکولی متعددی برای برآورد تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی گونه‌های گیاهی در دسترس هستند، به‌طوری‌که برای یافتن بهترین آنها برای دستیابی به هدف مدنظر می‌توان آنها را به‌آسانی مقایسه کرد (Biswase *et al.*, 2010). انتخاب مناسب‌ترین این



استفاده از آغازگر AFLP انجام شد، گزارش شده است که سهم بیشتر تنوع ژنتیکی ناشی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌هاست (۶۷ درصد درون جمعیت‌ها در مقابل ۱۴ درصد تنوع بین جمعیت‌ها). یافته‌های مشابهی در دیگر گونه‌های چوبی از جمله *Calamus thwaitesii* (۲۹/۲) درصد تنوع ژنتیکی بین جمعیتی در مقابل ۷۰/۸ درصد تنوع ژنتیکی درون جمعیتی) مشاهده شد (Sreekumar & Renuka, 2006). به طور مشابه، در گونه *Crataegus pontica* بر اساس نشانگر SCOT ۲۸ درصد تنوع ژنتیکی بین جمعیتی در مقابل ۷۲ درصد تنوع ژنتیکی درون جمعیتی مشاهده شد (Rahmani et al., 2015) و در گونه *Geonoma macrostachys* صفر درصد تنوع ژنتیکی بین جمعیتی در مقابل ۱۰۰ درصد تنوع ژنتیکی درون جمعیتی گزارش شد (Roncal et al., 2007). ضعیف بودن واگرایی ژنتیکی میان جمعیت‌ها می‌تواند به دلیل حاکم بودن جریان ژنی مطلوب، به عنوان یکی از مهمترین عامل‌های تکاملی در گونه‌های گیاهی بادگرده افشان که جمعیت‌ها را به لحاظ ژنتیکی به هم نزدیک می‌کند، باشد (Bohonak, 1999). همچنین در این مطالعه مشخص شد که میزان تمایز ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه بنه بر اساس سه نشانگر ISSR (۰/۲۸)، IRAP (۰/۲۳) و SCOT (۰/۲۲) ملایم است. جریان ژنی ( $Nm_{ISSR} = ۱/۴۳$ ؛  $Nm_{IRAP} = ۱/۱۲$ ) و ( $Nm_{SCOT} = ۱/۱۵$ ) با استفاده از آماره  $ST$  بیانگر تبادل مطلوب ژن‌ها میان جمعیت‌ها با هم است (جدول ۴). نزدیکی فاصله جغرافیایی میان جمعیت‌های این مطالعه در کنار بادخیز بودن منطقه در فصل گرده افشانی، می‌تواند یکی از عامل‌های مهم در شکل‌گیری این مقدار بالای جریان ژنی باشد (Ding et al., 2008). بر اساس این برآوردها، مهاجرت ژنی از تداوم واگرایی جمعیت‌های بنه از هم جلوگیری می‌کند (Wright, 1951). اگرچه رانش ژنتیکی ناشی از موانع جغرافیایی و ضعیف بودن جریان ژنی به دلیل محدودیت جابجایی بذر و دانه گرده عامل‌های اصلی تقویت‌کننده تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها هستند، اما به دلیل بادگرده افشان بودن این گونه و بادخیز بودن گستره

زاگرس استفاده شد.

سطح چندشکلی آشکار شده میان ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های مورد مطالعه توسط نشانگرهای ISSR (۶۱/۹۲ درصد)، IRAP (۷۴/۱۹ درصد) و SCOT (۶۴/۰۹ درصد) بالا بود. در میان آغازگرهای اولیه ارزیابی شده، ۱۵ آغازگر JSSR، ۱۲ آغازگر IRAP و ۱۳ آغازگر SCOT در مجموع ۴۶۵ نوار تولید کردند که از این تعداد، ۴۱۲ نوار (۸۸/۶ درصد) چندشکل بودند که بیانگر تنوع ژنتیکی نسبتاً بالای موجود در ژرم پلاسما مورد مطالعه است. به طور مشابه در ژرم پلاسما مجموعه‌ای از ژنوتیپ‌های *Pistacia* (Iranjo et al., 2009; Salehi Shanjani et al., 2016) و دیگر گونه‌های چوبی همانند *Crataegus pontica* (Rahmani et al., 2015) و *Quercus libani* (Alikhani et al., 2014) با استفاده از نشانگرهای مولکولی بارز تنوع ژنتیکی بالایی گزارش شده است.

میانگین مقدار PIC برآورد شده برای نشانگرهای JSSR، IRAP و SCOT به ترتیب برابر با ۰/۲۸، ۰/۲۶ و ۰/۲۱ بود (جدول ۲). میانگین مقدار عددی آماره‌های شاخص اطلاعات شانون (I) در سطح جمعیت در آغازگرهای ISSR ( $I = ۰/۲۹$ ) بیشتر از این مقدار در آغازگرهای IRAP ( $I = ۰/۲۲$ ) و SCOT ( $I = ۰/۲۶$ ) و شاخص تنوع ژنی نی (h) در آغازگرهای IRAP ( $h = ۰/۲۵$ ) بیشتر از این مقدار در آغازگرهای ISSR ( $h = ۰/۲۲$ ) و SCOT ( $h = ۰/۲۰$ ) بود (جدول ۳). همچنین مشخص شد که سهم بیشتر تنوع ژنتیکی آشکار شده، ناشی از تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های داخل جمعیت‌ها (تنوع درون جمعیتی) بود (به ترتیب ۷۳، ۶۶ و ۵۷ درصد برای JSSR، IRAP و SCOT). در همخوانی با این یافته‌ها، Iranjo و همکاران (۲۰۱۶) در مطالعه تنوع ژنتیکی مجموعه‌ای از ژرم پلاسما گونه‌های جنس *Pistacia* در غرب ایران مشاهده کردند که ۵۷ درصد از تنوع ژنتیکی کل آشکار شده در این ژرم پلاسما، ناشی از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌هاست. همچنین در مطالعه دیگری که توسط Salehi Shanjani و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین اکوتیپ‌های مختلف جنس *Pistacia* با

جغرافیایی مورد مطالعه، جدایی جغرافیایی ۱۵ جمعیت بنه (*P. atlantica*) نتوانسته است مانع جریان ژنی گسترده ناشی از جابجایی دانه گرده میان آنها بشود. نتایج نشان داد که رابطه بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر انگشت‌نگاری ISSR، IRAP و SCoT جمعیت‌ها با فاصله جغرافیایی آنها معنی‌دار نیست. به طوری که اغلب جمعیت‌های برگرفته از مناطق مختلف در کنار هم خوشه‌بندی شده‌اند. به طور مشابه Thriveni و همکاران (۲۰۱۳) و Iranjo و همکاران (۲۰۱۶) نیز مشاهده کردند که همبستگی بین تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه و منشأ جغرافیایی آنها معنی‌دار نبود. در مقابل، بر اساس گزارش Salehi Shanjani و همکاران (۲۰۱۰) و Derero و همکاران (۲۰۱۱) به ترتیب در *Cordia africana* و *Fagus orientalis* همبستگی بین فاصله ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه و فاصله جغرافیایی آنها با هم ضعیف، اما معنی‌دار بود.

بهره‌گیری از انواع مختلف نشانگرهای دارای سازوکار توارث مختلف، تأثیرپذیر از عوامل تکاملی گوناگون و دارای مناطق هدف مختلف برای تکثیر در ژنوم، می‌تواند تصویری جامع‌تر، قابل‌اعتمادتر و بهتر از تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف در این قبیل مطالعات نمایان کند (Fortini *et al.*, 2009). برآورد دقیق از تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی به‌ویژه گونه‌های دارای جمعیت‌ها کوچک و کمیاب در حال تکامل در محیط‌های پرتنش یکی از ضرورت‌های برنامه‌ریزی مؤثر برای حفاظت از ژرم‌پلاسم این گونه‌هاست (Bihamta *et al.*, 2015). این مطالعه که در آن از سه نشانگر مولکولی مختلف استفاده شد، تنوع ژنتیکی بالایی را بین ژنوتیپ‌های داخل جمعیت‌ها و تنوع ژنتیکی متوسطی را بین ژنوتیپ‌های مختلف در درون جمعیت‌ها نشان داد. بنابراین، شناسایی و حفاظت از این چنین جمعیت‌های نسبتاً واگرایی (به لحاظ ژنتیکی) *P. atlantica* در جنگل‌های زاگرس در رویکردهای حفاظتی این گونه از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است. تداوم بقای جمعیت‌ها و حفظ پیوستگی در شکل‌گیری ظرفیت تکاملی ژنوتیپ‌های این گونه از اهداف اصلی برنامه‌های حفاظتی آن به‌شمار می‌آیند

### سپاسگزاری

اعتبار مورد نیاز این پژوهش از محل اعتبارات تصویب‌شده در دانشگاه کردستان برای پایان‌نامه نویسنده اول (هانیه شاه‌قبادی) تأمین شد؛ از این رو از حمایت مسئولان محترم دانشگاه تشکر می‌کنم.

### منابع مورد استفاده

- Alikhani, L., Rahmani, M.S., Shabanian, N., Badakhshan, H. and Khadivi-Khub, A., 2014. Genetic variability and structure of *Quercus brantii* assessed by ISSR, IRAP and SCoT markers. *Gene*, 552:176–183.
- Bihamta, M.R., Shabanian, N., Rahmani, M.S. and Vafaee, Y., 2015. *Forest Genetics (Translation)*, University of Tehran Press, Tehran, 861 pp (In Persian).
- Biswas, M.S., Hassan, J. and Hossain, M.M., 2010. Assessment of genetic diversity in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on RAPD marker. *African Journal of Biotechnology*, 9: 5073–5077.
- Bohonak, A.J., 1999. Dispersal, gene flow, and population structure. *The Quarterly Review of Biology*, 74:21–45.
- Debinski, D.M. and Holt, R.D., 2000. A survey and overview of habitat fragmentation experiments. *Conservation Biology*, 14:342–355.
- Derero, A., Gailing, O. and Finkeldey, R., 2011. Maintenance of genetic diversity in *Cordia africana* Lam., a declining forest tree species in Ethiopia. *Tree Genetics & Genomes*, 7:1–9.
- Ding, G., Zhang, D., Ding, X., Zhou, W. and Li, X., 2008. Genetic variation and conservation of the endangered Chinese endemic herb *Dendrobium officinale* based on SRAP analysis. *Plant Systematics and Evolution*, 276: 149–156.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of leaf tissue. *Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America*, 19:11–15.
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric

- An evaluation of the taxonomic distinctness of two *Geonoma macrostachys* (Arecaceae) varieties based on intersimple sequence repeat (ISSR) variation. Bot. J. Linn. Soc., 153: 381–392.
- Salehi Shanjani, P., Mardi, M., Pazouki, L., Hagidimitriou, M., Avanzato, D., Pirseyedi, M., Ghaffari, M. R. and Khayam Nekoui, M., 2009. Analysis of the molecular variation between and within cultivated and wild *Pistacia* species using AFLPs. Tree Genetics and Genomes, 5: 447–458.
  - Salehi Shanjani, P., Vendramin, G.G. and Calagari, M., 2010. Genetic diversity and differentiation of *Fagus orientalis* Lipsky in Hyrcanian forests revealed by nuclear and chloroplast microsatellite markers. Conservation Genetics, 11: 2321–2331.
  - Shaffer, M., 1981. Minimum population sizes for species conservation. BioScience, 31: 131–134.
  - Sreekumar, V.B. and Renuka, C., 2006. Assessment of genetic diversity in *Calamus thwaitesii* Becc. (Arecaceae) using RAPD markers. Biochemical Systematics and Ecology, 34: 397–405.
  - Tayefeh Aliakbarhany, S., Talaie, A.R. and Fatahi Moghadam, M.R., 2013. Investigation of genetic diversity among *Pistacia vera* in the Khorasan by using molecular markers. Modern Genetics, 8: 169–176.
  - Thriveni, H.N., Sumangala, R.C., Shivaprakash, K.N., Ravikanth, G., Vasudeva, R. and Ramesh, H.N., 2013. Genetic structure and diversity of *Coscinium fenestratum*: a critically endangered liana of Western Ghats, India. Plant Systematics and Evolution, 300: 403–413.
  - Valipour, A., Plieninger, T., Shakeri, Z., Ghazanfari, H., Namiranian, M. and Lexer, M.J., 2014. Traditional silvopastoral management and its effects on forest stand structure in northern Zagros, Iran. Forest Ecology and Management, 327: 221–230.
  - Vogel, J.M., Rafalski, A., Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M. and Tingey, S.V., 1996. Application of genetic diagnostics to plant genome analysis and plant breeding. HortScience, 31: 1106–1107.
  - Wong, K.C. and Sun, M., 1999. Reproductive biology and conservation genetics of *Goodyera procera* (Orchidaceae). American Journal of Botany, 86: 1406–1413.
  - Wright, S., 1951. The genetical structure of populations. Annals of Eugenics, 15: 323–354.
  - Zolfaghari, R., Akbarinia, M., Mardi, M. and Ghanati, F., 2009. Genetic diversity in Persian oak (*Quercus branti* Lindl) from Kohkiluyeh and Boyer-Ahmad using SSR. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16: 172–181.
  - distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 131: 479–491.
  - Fortini, P., Viscosi, V., Maiuro, L., Fineschi, S. and Vendramin, G.G., 2009. Comparative leaf surface morphology and molecular data of five oaks of subgenus *Quercus Oerst* (Fagaceae), Plant Biosystems, 143: 543–554.
  - Hormaza, J.I., Dollo, L. and Polito, V.S., 1994. Determination of relatedness and geographic movements of *Pistacia vera* (Pistachio; Anacardiaceae) germplasm by RAPD analysis. Economic Botany, 48:349–358.
  - Iranjo, P., NabatiAhmadi, D., Sorkheh, K., Rajabi Memeari, H. and Ercisli S., 2016. Genetic diversity and phylogenetic relationships between and within wild *Pistacia* species populations and implications for its conservation. Journal of Forestry Research, 27:685–697.
  - Kafkas, S. and Perl-Treves, R., 2001. Morphological and molecular phylogeny of *Pistacia* species in Turkey. Theoretical and Applied Genetics, 102:908–915.
  - Kafkas, S., Cetiner, S. and Perl-Treves, R., 2001. Development of sex-associated RAPD markers in wild *Pistacia* species. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 76:242–246.
  - Kercher, S.M. and Sytsma, K.J., 2000. Genetic and morphological variation in populations of the rare prairie annual *Agalinis skinneriana* (Wood) Britton (Scrophulariaceae). Natural Areas Journal, 20:166–175.
  - Khatamsaz, M., 1988. Studies on the Rosaceae family in Iran, new taxa and new records. Iranian Journal of Bontology, 4:111–125.
  - Kramer, A.T., Ison, J.L., Ashley, M.V. and Howe, H.F., 2008. The paradox of forest fragmentation genetics. Conservation Biology, 22: 878–885.
  - Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach, Cancer Research, 27: 209–220.
  - Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583–590.
  - Peakall, R. and Smouse, P.E., 2006. GenAlEx6: genetic analysis in excel population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6: 288–295.
  - Rahmani, M.S., Shabaniyan, N., Khadivi-Khub, A., Woeste, K.E., Badakhshan, H. and Alikhani, L., 2015. Population structure and genotypic variation of *Crataegus pontica* inferred by molecular markers. Gene, 572: 123–129.
  - Roncal, J., Francisco-Ortega, J. and Lewis, C.E., 2007.

## Analysis of genetic diversity of *Pistacia atlantica* Desf. populations from Zagros forests using ISSR, IRAP and SCoT molecular markers

H. Shah-Ghobadi<sup>1</sup>, N. Shabanian<sup>2\*</sup>, A. Khadivi<sup>3</sup>, M.S. Rahmani<sup>4</sup>

1- M.Sc. Graduate, Forest Ecology and Silviculture, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I.R.Iran

2\* - Corresponding author: Assoc. Prof., Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I.R.Iran

E-mail: n.shabanian@uok.ac.com

3- Assis. Prof., Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Arak, I.R.Iran

4- Ph.D Student in Plant Biotechnology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Department of Biotechnology, University of Tehran, I.R.Iran

Received: 01.03.2017

Accepted: 02.10.2017

### Abstract

This study was conducted to investigate intra- and inter-population genetic diversity of 15 populations of *Pistacia atlantica* from Zagros forests, represented by 181 genotypes, using 15, 12 and 13 primers based on three molecular marker including inter simple sequence repeats (ISSR), inter retrotransposal amplified polymorphism (IRAP) and start codon targeted (SCoT) markers, respectively. ISSR, IRAP and SCoT primers produced a total of 186, 143 and 136 bands, of which 162 (87.0%), 130 (90.9%) and 120 (88.0%) showed polymorphism, respectively. Results showed that all marker systems revealed relatively high genetic variation at population level ( $h_{ISSR} = 0.22$ ,  $PPL_{ISSR} = 61.92\%$ ;  $h_{IRAP} = 0.25$ ,  $PPL_{IRAP} = 74.19\%$ ;  $h_{SCoT} = 0.20$ ,  $PPL_{SCoT} = 64.09\%$ ). According to ISSR, IRAP and SCoT based genetic differentiation coefficient ( $G_{ST}$ ; 0.28, 0.23, and 0.22, respectively), a higher level of genetic variation was recorded within populations than that of among populations, that could be due to wind-based extensive gene flow among the populations. UPGMA cluster analysis based on three used molecular systems, divided the studied populations into distinct clusters. According to Mantel test, no significant correlation was recorded between genetic and geographic distances of the populations.

**Keywords:** Gene flow, IRAP, population genetics, SCoT, wild pistachio.