تنوع ژنتیکی و میزان آسیب پذیری جمعیت‌های لرگ (*Pterocarya fraxinifolia* Lam.) در منطقه رویشی زاگرس با استفاده از نشانگر ISSR

فاطمه مستاجران، حامد یوسف زاده* و مسلم اکبری نیا

ایران، نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی، گروه جنگلداری

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۲۷

چکیده

لرگ درختی است با قدمت کهن در شمال ایران، که اخیراً جمعیت‌های کوچکی از آن در غرب ایران، در استان‌های لرستان و ایلام نیز گزارش شده است. این تحقیق بمنظور بررسی میزان تنوع جمعیتی و تمایز جمعیت‌های غرب از جمعیت‌های هیرکانی و میزان آسیب پذیری آنها براساس شاخص‌های آماری ژنتیکی انجام پذیرفت. بدین منظور از حدود ۱۰-۸ پایه درختی در هر دو رویشگاه غرب بهمراه چهار رویشگاه در شمال ایران نمونه برگ تهیه، DNA استخراج و تنوع ژنتیکی بر اساس نشانگر ISSR مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی، بیانگر درصد بالایی از تنوع مربوط به درون جمعیت‌ها (۸۸٪) و درصد پایینی از تنوع مربوط بین جمعیت‌ها (۱۲٪) است. میانگین شاخص شانون برای جمعیت‌های مورد مطالعه ۰/۱۵۷ و میانگین هتروزیگوسیتی درون جمعیتی از ۰/۰۶۴ تا ۰/۱۱۹ متغییر است. دندروگرام حاصل از الگوریتم نزدیکترین همسایه، جمعیت‌ها را به دو گروه اصلی طبقه بندی کرد که جمعیت های غربی (لرستان و ایلام) در زیر گروه اول و دوم گروه اصلی اول بهمراه جمعیت سوادکوه از شمال ایران قرار گرفتند. بررسی تمایز ژنتیکی نیز نشان داد که جمعیت لرستان با یک فاصله نسبتا زیاد از سایر جمعیت‌ها متمایز است.

واژه‌های کلیدی: تمایز ژنتیکی، تنوع جمعیتی، نشانگرهای ژنتیکی، خوشه بندی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۲۲۶۲۵۳۱۰۱، پست الکترونیکی: h.yousefzadeh@modares.ac.ir

مقدمه

لرگ درختی به ارتفاع و قطر تا ۳۵ و۱۳۰ متر و پوستی عمیقا شیاردار می‌باشد (۷). این گونه سریع الرشد همانند بلوط از قدرت جست‌دهی بالایی برخوردار است و در حال حاضر در ترکیه به صورت پراکنده یا در گروه‌های کوچک (۳۰،۱۷،۱۰،۱۱و۳۷)، در جنوب قفقاز، جنگل‌های هیرکانی در ایران، آذربایجان و آناتولی در اطراف رودخانه-ها و مسیل‌ها رویش دارد (۴۰). البته لرگ به‌صورت گسترده در باغ‌های اروپا کشت می‌شود (۴۷). گونه‌های همراه آن بویژه در جنگل هیرکانی توسکای ییلاقی، توسکای قشلاقی، پلت، ممرز، سفیدپلت، ون و گردو می-باشد (۱).

جالب توجه است که اخیراً جمعیت‌های کوچکی از لرگ در غرب ایران، در استان‌های لرستان (با مساحتی معادل ۱/۵ هکتار) و ایلام نیز گزارش شده است (۹،۳و۳۷). اما تاکنون دلایل علمی مبنی بر طبیعی یا دست‌کاشت بودن دو توده لرگ استان‌های لرستان و ایلام بیان نشده است. Akhani و Salimian (۹) خالص بودن پایه‌های لرگ استان لرستان را نتیجه دست‌کاشت بودن این توده ندانسته و این موضوع را با احتمال زیاد به انتشار از طریق ریشه‌جوش مرتبط می‌دانند. همچنین با توجه به اینکه لرگ ارزش تولید چوب قابل ملاحظه‌ای ندارد، انتقال این گونه از جمعیت-هایی خارج از منطقه (به عنوان مثال جمعیت‌های خزری)

Archive of SID

www.SID.ir

به روستایی دور افتاده در لرستان را منطقی نمی‌دانند. در واقع هیچ جایی از ایران این گونه کشت نشده است. هر چند این دو محقق معتقدند پایه‌های فعلی لرگ در زاگرس مرکزی می‌تواند به عنوان یک جمعیت باقی مانده در نظر گرفته شود، که قادر به زنده‌مانی در شرایط اقلیمی مناسب توسط تکثیر رویشی از طریق ریشه جوش می‌باشد، اما قضاوت نهایی را منوط به مطالعات بیشتر در منطقه می‌دانند. این در حالی است که مردم محلی بر این باورند، پایه‌های لرگ منطقه شول‌آباد لرستان توسط فردی انگلیسی زبان در ادوار گذشته به آن منطقه وارد شده است.

نظر به اینکه رویشگاه‌های موجود این گونه در سطح جنگل‌های زاگرس به شکل فعلی نادر و کمیاب است، شایسته است این رویشگاه‌ها به عنوان ذخایر ژنتیکی کشور تحت حمایت و حفاظت قرار گیرند (۳). حفاظت اصولی و حتی برنامه‌های احیاء و توسعه، زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که از پشتوانه شناخت کافی از جمعیت‌های موجود و مخاطرات آنها، نیازهای اکولوژیک و تنوع ژنتیکی گونه‌ها برخوردار باشد. از آنجا که بقاء طولانی مدت چنین جمعیت‌هایی وابسته به حفظ و نگهداری تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی بمنظور سازگاری با تغییرات محیطی است (۱۶،۲۰و۱۴)، بنابراین استفاده از ابزارهایی که بتواند با دقت مناسبی میزان و سطح تنوع ژنتیکی را برآورد نماید اولین گام در راستای حفاظت اصولی از این جمعیت‌هاست.

جهت بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف یک گونه نشانگرهای متعددی مورد استفاده قرار می گیرد (۲۸،۴و۲۵) که یکی از این نشانگرها، نشانگر بین ریزماهواره‌ای (ISSR) است. این نشانگر تاکنون برای بررسی تنوع ژنتیکی بسیاری از گونه‌های گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۹،۲۹،۵و۳۲). برای مثال قندهاری و همکاران (۶) بمنظور بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی سه جمعیت طبیعی شمشاد در شمال کشور از ۱۰ نشانگر ISSR استفاده نمودند. نتایج نشان دهنده تنوع ژنتیکی مطلوبی (۳۴/۱٪) در بین جمعیت‌ها می‌باشد. همچنین سهم تنوع ژنتیکی درون جمعیتی در تنوع ژنتیکی کل بیشتر از تنوع ژنتیکی بین جمعیتی برآورد گردید. در مطالعه‌ای دیگر، Christopoulos و همکاران (۱۵) با استفاده از ۷ نشانگر ISSR به بررسی تنوع ژنتیکی گردو (*Juglans regia*) منتخب از جمعیت‌های بومی یونان در مقایسه با ارقام کشت شده بین المللی پرداختند. ضریب تشابه از ۰/۱۳ تا ۰/۹۳ (با میانگین ۰/۴۸) نشان دهنده درجه بالایی از تنوع می‌باشد. همچنین نتایج آنالیز واریانس مولکولی بیانگر تنوع ژنتیکی بالایی در میان جمعیت گردوی یونانی (۸۹٪) نسبت به تنوع در میان مناطق می‌باشد.

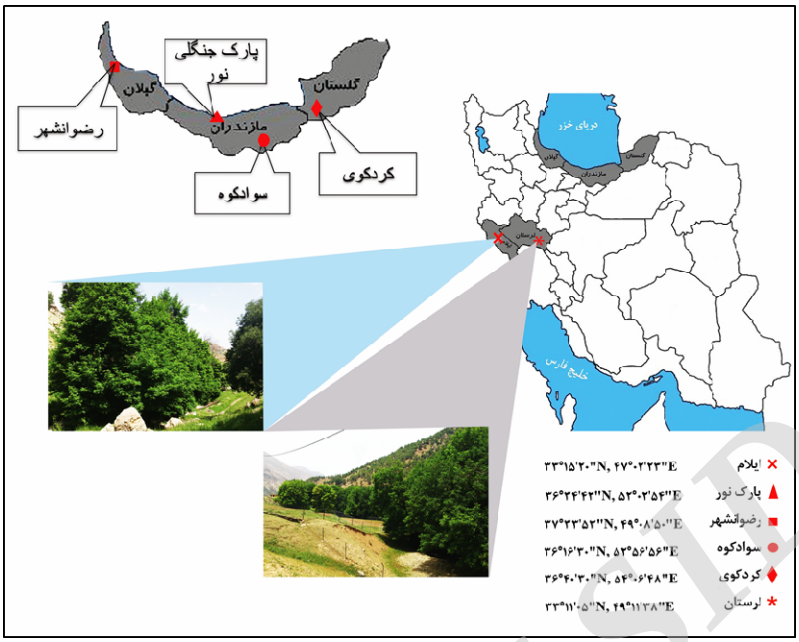
در این راستا تاکنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر مطالعه تنوع ژنتیکی لرگ با این نشانگر و نیز سایر نشانگرهای مولکولی گزارش نشده است. بنابراین تحقیق حاضر در نظر دارد تا با بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های لرگ غرب ایران و مقایسه آن با جمعیت‌های طبیعی آن در شمال ایران (جنگل هیرکانی) ۱- میزان تنوع درون جمعیتی و تمایز جمعیت‌های غرب را از جمعیت‌های هیرکانی مشخص نماید؛ و ۲- میزان آسیب پذیری جمعیت های غرب را براساس شاخص‌های آماری ژنتیکی مورد بررسی قرار دهد.

مواد و روشها

نمونه برداری: برای انجام این تحقیق دو رویشگاه این گونه واقع در منطقه رویشی زاگرس (لرستان، روستای شول‌آباد و ایلام، شهرستان بدره) انتخاب و در هر یک از مناطق ذکر شده، ۸ تا ۱۰ پایه بالغ نمونه‌برداری شد. همچنین جهت مقایسه میزان تمایز جمعیت‌های غربی از لرگ‌های شمال ایران، چهار رویشگاه (رضوانشهر، پارک جنگلی نور، سوادکوه و کردکوی) در جنگل هیرکانی نیز مورد نمونه‌برداری قرار گرفت (شکل ۱).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۱- موقعیت جغرافیایی مناطق مورد مطالعه در این تحقیق

استخراج DNA و تکثیر نواحی ISSR : بمنظور استخراج کل DNA ژنومی از بافت برگ نمونه‌ها از روش اصلاح شده Murray و Thompson (۳۶) استفاده شد. جهت تکثیر نواحی مورد نظر با استفاده از ۴ پرایمر بین ریزماهواره‌ای (جدول ۱) مواد لازم بمنظور انجام واکنش PCR در شرایط کاملا استریل و زیر هود با یکدیگر مخلوط شدند. این مواد برای حجم ۱۸ میکرولیتر شامل ۶ میکرولیتر مسترمیکس، ۱ میکرولیتر پرایمر، ۴ میکرولیتر DNA استخراجی و ۷ میکرولیتر آب دوبار تقطیر می‌باشد. واکنش PCR شامل ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد بمنظور واسرشت اولیه، ۳۰ چرخه با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، ۵۴ درجه سانتی‌گراد ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۲ دقیقه و در نهایت به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد است. بمنظور مشاهده الگوی نواری، محصول بر روی ژل اکریل آمید بارگذاری شد. پس از الکتروفورز رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره انجام پذیرفت (۱۳).

تجزیه و تحلیل: بمنظور تجزیه و تحلیل نتایج، نوارهای چند شکل به دست آمده براساس وجود و عدم وجود نوارها به ترتیب با یک و صفر نشان داده شدند. پارامترهای مختلف ژنتیکی از قبیل درصد جایگاه چند شکلی، تنوع ژنتیکی کل، تنوع داخل هر جمعیت، سهم تنوع داخل و برون جمعیتی و شاخص تشابه Nei (۳۸) با نرم افزار GenAlEx محاسبه شد. همچنین جهت نمایش تصویری فاصله ژنتیکی بین جمعیت ها از روش Principal Coordinates Analysis (PCoA) استفاده شد. بمنظور برآورد جریان ژنی (mN) از نرم افزار POPGENE ۳۲ و خوشه بندی پایه‌های درختی به روش نزدیکترین همسایه (Neighbour joining) با نرم افزار MEGA 6 انجام شد.

نتایج

تنوع ژنتیکی: در این مطالعه با استفاده از ۴ پرایمر ۴۵۶ آلل مشخص در محدوده ۷۰۰-۱۰۰ مشاهده شد. این تعداد آلل مربوط به ۴۰ نمونه متعلق به ۶ جمعیت می‌باشد. درصد جایگاه پلی‌مورفیک (*Pp*)، تعداد الل موثر (*Ne*)، تنوع ژنتیکی براساس شاخص Nei (*h*) و شاخص شانون (*I*) در جدول۲ نشان داده شده است. میانگین شاخص شانون

Archive of SID

www.SID.ir

برای جمعیت‌های مورد مطالعه ۰/۱۵۷ می‌باشد که محدوده ۰/۱۹۸ (جمعیت کردکوی) تا ۰/۰۰۸ (سوادکوه) را شامل می‌شود. میانگین هتروزیگوسیتی درون جمعیتی از ۰/۰۶۴ تا ۰/۱۱۹ متغییر می‌باشد. جمعیت کردکوی بیشترین هتروزیگوسیتی را در میان جمعیت‌ها داراست. همچنین جمعیت سوادکوه با میانگین هتروزیگوسیتی ۰/۰۶۴ کمترین هتروزیگوسیتی را دارد.

جدول ۱- توالی پرایمرهای ISSR مورد استفاده در این تحقیق

منبع	جهت توالی اولیگونوکلئوتیدی پرایمرها (′۳→′۵)	نام پرایمرها
King و Ferris (۳۱)	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	$(GA)_8YC$
King و Ferris (۳۱)	ACACACACACACACACYA	$(AC)_8YA$
King و Ferris (۳۱)	GAGAGAGAGAGAGAGAT	$(AG)_8AT$
Schrader و Graves (۴۱)	ACACACACACACACACG	(AC)8 G

جدول۲- تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های لرگ

کد جمعیت	مقادیر	تعداد الل‌های متفاوت (Na)	تعدادالل‌های موثر (Ne)	شاخص شانون (I)	هتروزیگوسیتی مورد انتظار(He)	درصدجایگاه پلی مورفیک (%P)
جمعیت ایلام	میانگین	۰/۷۰۲	۱/۱۰۱	۰/۱۲۵	۰/۰۷۳	٪۳۵/۰۹
	SM	۰/۰۴۵	۰/۰۰۸	۰/۰۰۹	۰/۰۰۵	
جمعیت لرستان	میانگین	۰/۸۵۵	۱/۱۵۰	۰/۱۶۸	۰/۱۰۲	٪۴۲/۷۶
	SM	۰/۰۴۶	۰/۰۱۱	۰/۰۱۰	۰/۰۰۷	
جمعیت رضوانشهر	میانگین	۰/۷۵۲	۱/۱۴۰	۰/۱۵۵	۰/۰۹۵	٪۳۷/۵۰
	SM	۰/۰۴۵	۰/۰۱۱	۰/۰۱۰	۰/۰۰۷	
جمعیت کردکوی	میانگین	۱/۰۱۸	۱/۱۶۹	۰/۱۹۸	۰/۱۱۹	٪۵۰/۸۸
	SM	۰/۰۴۷	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۶	
جمعیت پارک جنگلی نور	میانگین	۱/۰۱۸	۱/۱۵۱	۰/۱۸۳	۰/۱۰۸	٪۵۰/۸۸
	SM	۰/۰۴۷	۰/۰۱۰	۰/۰۰۹	۰/۰۰۶	
جمعیت سوادکوه	میانگین	۰/۶۷۵	۱/۰۸۷	۰/۱۱۲	۰/۰۶۴	٪۳۳/۷۷
	SM	۰/۰۴۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۵	
کل	میانگین	۰/۸۳۷	۱/۱۳۳	۰/۱۵۷	۰/۰۹۴	٪۴۱/۸۱
	SM	۰/۰۱۹	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۲	٪۳/۱۳

- SM: انحراف معیار از میانگین

تمایز ژنتیکی: نتایج حاصل از آنالیز واریانس مولکولی بیانگر درصد بالایی از تنوع درون جمعیت‌هاست. به نحوی که ۸۸٪، تنوع درون جمعیتی و ۱۲٪ تنوع بین جمعیتی مشاهده می‌شود (جدول۳). همچنین نتایج، تنوع پایینی بین سه منطقه هیرکانی، استان لرستان و استان ایلام نشان می‌دهد. مقدار جریان ژنی اندازه‌گیری شده برابر با ۳/۲۷ می‌باشد. بمنظور نشان دادن روابط ژنتیکی در میان جمعیت‌ها از دندروگرام حاصل از الگوریتم نزدیکترین همسایه براساس شباهت ژنتیکی Nei استفاده شد که جمعیت‌ها را به دو گروه اصلی طبقه بندی کرد. گروه اول خود به چهار زیر گروه و گروه دوم نیز خود به سه زیر گروه تقسیم شد (شکل۲). جمعیت های غربی (لرستان و ایلام) در زیر گروه اول و دوم گروه اول بهمراه جمعیت سوادکوه از شمال ایران قرار گرفتند.

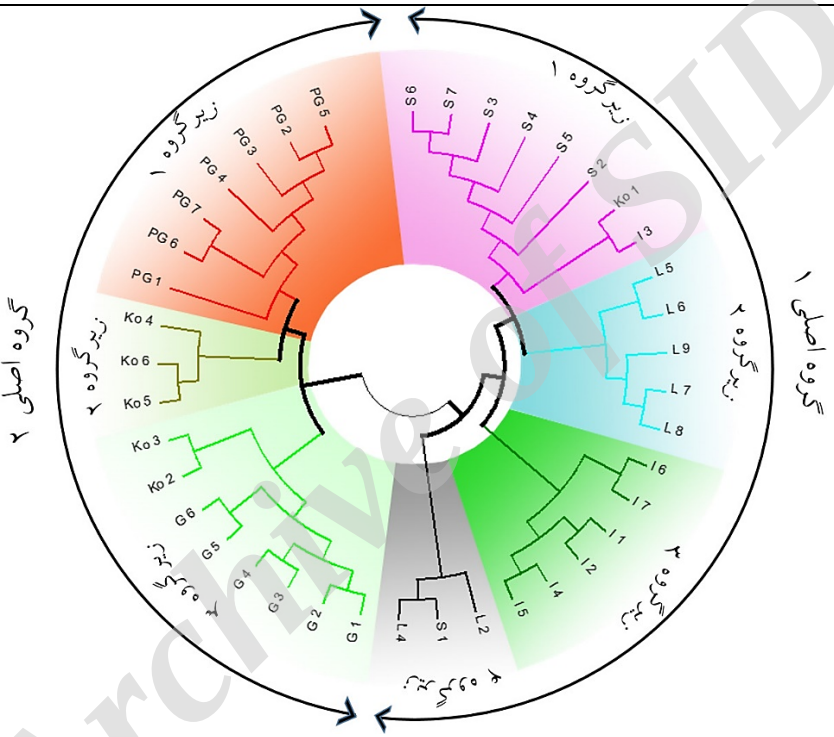
Archive of SID

www.SID.ir

بر اساس شاخص شباهت ژنتیکی Nei جمعیت‌های غرب ایران کمترین فاصله ژنتیکی را با جمعیت سوادکوه از شمال ایران نشان دادند. بیشترین فاصله ژنتیکی نیز بین جمعیت‌های لرستان و گیلان مشاهده شد (جدول۴).

جدول۳- نتایج آنالیز واریانس مولکولی، درصد تنوع درون و برون جمعیتی

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس	درصد فراوانی	آماره	مقدار	P(rand >= data)
بین مناطق	۲	۱۴۸/۱۸۳	۷۴/۰۹۱	۰/۲۳۵	۱٪	PhiRT	۰/۰۰۶	۰/۳۷۰
بین جمعیت‌ها	۳	۲۰۸/۵۷۳	۶۹/۵۲۴	۴/۹۶۱	۱۲٪	PhiPR	۰/۱۱۷	۰/۰۱۰
درون جمعیت‌ها	۳۴	۱۲۶۹/۶۱۹	۳۷/۳۴۲	۳۷/۳۴۲	۸۸٪	PhiPT	۰/۱۲۲	۰/۰۱۰
کل	۳۹	۱۶۲۶/۳۷۵		۴۲/۵۳۷	۱۰۰٪			



شکل۲- خوشه بندی پایه‌های درختی مورد مطالعه به تفکیک هر جمعیت براساس روش نزدیکترین همسایه (Ni: N، بیانگر جمعیت؛ i، شماره درخت)

جدول۴- فاصله ژنتیکی جمعیت‌های مطالعه شده بر اساس شاخص Nei

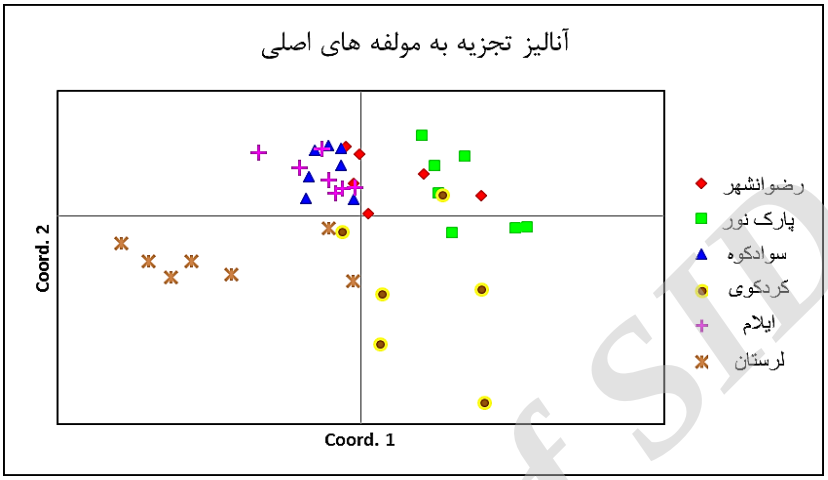
	رضوانشهر	ایلام	کردکوی	لرستان	پارک جنگلی	سوادکوه
جمعیت رضوانشهر	*****	۰/۹۸۰	۰/۹۷۹	۰/۹۷۴	۰/۹۷۷	۰/۹۸۳
جمعیت ایلام	۰/۰۲۰	*****	۰/۹۸۳	۰/۹۸۳	۰/۹۸۳	۰/۹۹۰
جمعیت کردکوی	۰/۰۲۱	۰/۰۱۷	*****	۰/۹۷۹	۰/۹۸۱	۰/۹۸۴
جمعیت لرستان	۰/۰۲۶	۰/۰۱۷	۰/۰۲۱	*****	۰/۹۷۶	۰/۹۸۳
جمعیت پارک جنگلی نور	۰/۰۲۴	۰/۰۱۷	۰/۰۱۹	۰/۰۲۵	*****	۰/۹۸۴
جمعیت سوادکوه	۰/۰۱۷	۰/۰۱۱	۰/۰۱۶	۰/۰۱۸	۰/۰۱۶	*****

- اعداد بالای قطر ماتریس مربوط به شباهت ژنتیکی و اعداد زیر قطر مربوط به فاصله ژنتیکی می‌باشد

Archive of SID

www.SID.ir

جهت آشکار سازی بهتر میزان تنوع و تمایز جمعیت‌های مورد مطالعه از یکدیگر از تجزیه به مولفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. همانطور که در شکل۳ نشان داده شد جمعیت لرستان با یک فاصله نسبتا زیاد از سایر جمعیت ها متمایز است. همچنین فاصله پایه‌های درختی جمعیت کردکوی از یکدیگر حاکی از تنوع بالای درون جمعیتی این رویشگاه است.



شکل۳- پراکنش پایه های درختی جمعیت های مورد مطالعه بر اساس آنالیز تجزیه به مولفه‌های اصلی

بحث

حفاظت و مدیریت ذخایر ژنتیکی یکی از اهداف اصلی کلان هر کشوری محسوب می شود. در واقع حفظ ژرم پلاسم گیاهی امری ضروری برای تضمین تامین مواد غذایی هر جامعه بشری است بنابراین ارزیابی سطح، توزیع تنوع و تمایز ژنتیکی برای مدیریت و توسعه‌ی مؤثر راهبرد حفاظت گونه‌های در معرض خطر حیاتی است (۴۵).

تخریب گسترده و تکه تکه شدن رویشگاه‌ها در چند دهه گذشته در کشور سبب شده است که بخش اعظمی از منابع طبیعی کشور که در بردارنده بخش مهمی از ذخایر ژنتیکی گیاهی بوده است، دچار تخریب و نابودی گردد. نگاهی کوتاه به کتاب اطلاعات قرمز ایران (۲۶) خطر نزدیک شدن به خط قرمز انقراض برخی گونه‌های گیاهی را هشدار می‌دهد. لذا حفاظت اصولی از چنین غنای گیاهی، باید در رأس برنامه دستگاه‌های ذیربط قرار گیرد. اما حفاظت اصولی و حتی برنامه‌های احیا و توسعه، زمانی با موفقیت همراه خواهد بود که از پشتوانه شناخت کافی از جمعیت‌های موجود و مخاطرات آنها، نیازهای اکولوژیک و تنوع ژنتیکی گونه‌ها برخوردار باشد.

لرگ یکی از گونه‌های درختی با قدمت تاریخی در جنگلهای شمال ایران است که اخیرا دو لکه کوچک از آن در ناحیه رویشی زاگرس گزارش شده است (۳و۹). اگرچه برخی معتقدند که این دو جمعیت در زاگرس دست‌کاشت هستند ولیکن در تحقیقی توسط Akhani و Salimian (۹) بیان شد که جمعیت لرستان دارای منشاء طبیعی است. به نظر می‌رسد تغییرات اقلیمی در طول زمان سبب شده باشد تنها این دو جمعیت در طول مسیر مهاجرت از قفقاز به اروپا (ترکیه) باقی مانده باشند و جمعیت‌های بینابینی در طول زمان حذف شده باشند. حذف جمعیت‌های بینابینی و کاهش جریان ژنی و اندازه کوچک جمعیت موثر، سبب کاهش تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت‌های یک گونه می-گردد (۳۴و۲۴). تبادل ژنتیکی دو جمعیت غربی به دلیل فاصله زیاد از جمعیت‌های شمالی و نیز از یکدیگر، سالیان

Archive of SID

www.SID.ir

زیادی است که قطع شده است و این سبب می‌شود این دو جمعیت به سمت خالص شدن پیش روند و این مسئله آسیب پذیری بسیار بالای این دو جمعیت را نسبت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی گوشزد می نماید. البته در دو دهه گذشته در ارتباط با اثر تکه تکه شدن زیستگاه به تکه‌های کوچکتر بر تنوع ژنتیکی گزارشات متناقضی وجود دارد (۴۹). بسیاری از مطالعات بیانگر تاثیر به‌سزای تکه تکه شدن رویشگاه بر تنوع ژنتیکی و همچنین کاهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های کوچکتر می‌باشند (۱۸،۳۴،۲۴و۸). با این وجود، هم راستا با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بسیاری از گزارشات اخیر حاکی از عدم ارتباط معنی‌دار بین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (*He*) و اندازه جمعیت است (۴۴،۲۱،۳۹،۲۳و۳۳).

نتایج آنالیز واریانس مولکولی تنوع بالای درون جمعیتی (۸۸٪) نسبت به تنوع بین جمعیتی (۱۲٪) را نشان می‌دهد که مطابق با تحقیقات انجام شده بر روی گونه هم خانواده لرگ (گردو) می‌باشد (۴۶،۱۵،۳۵و۲۷). در این راستا Ji و همکاران (۲۷) تنوع بالای درون جمعیتی را به سیستم تولید مثل گردو مرتبط دانسته‌اند. همچنین بیان داشتند گونه گردو دارای گل‌های تک جنس بوده و درختان تک پایه دارد. گردو باد گرده افشان بوده و در گونه‌های باد گرده افشان نسبت به حشره گرده افشان‌ها، پراکنش گرده حتی به وسیله بادهای کوچک آسان‌تر صورت می‌گیرد. دگر باروری در برخی از پایه‌های گردو (در برخی از پایه‌ها خود باروری دیده می‌شود) سبب افزایش جریان ژنی و افزایش نوترکیبی می‌گردد.

البته در تحقیق حاضر، تنوع بالای درون جمعیتی در جمعیت کردکوی و تنوع پایین برای منطقه سوادکوه را می‌توان به نوع نمونه‌برداری (فاصله زیاد پایه‌های درختی در طول یک گرادایان ارتفاعی برای جمعیت کردکوی و نزدیک بودن پایه‌ها در جمعیت سوادکوه) مرتبط دانست. بر خلاف آنچه انتظار می‌رفت تنوع بالایی در میان جمعیت‌های کوچک ایلام و لرستان مشاهده شد. در مطالعات اخیر چندین دلیل برای حفظ تنوع ژنتیکی در خرد زیستگاه‌ها مورد بحث قرار گرفته است که از این بین می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: (۱) ناکافی بودن زمان سپری شده از شروع تکه تکه شدن زیستگاه بمنظور کاهش قابل توجه تنوع ژنتیکی به وسیله فرآیندهایی (مانند رانش ژنتیکی و درون آمیزی) که منجر به فرسایش ژنتیکی در جمعیت‌های منزوی و کوچک می‌شود. (۲) آشکار شدن اثر انزوای جمعیت و تکه تکه شدن زیستگاه ممکن است سال‌ها به طول بینجامد. زیرا دوره نسبتا طولانی زندگی درختان سبب می‌شود که پاسخ آن‌ها به تغییر شرایط زیستگاه، آرام‌تر باشد (۱۸).

بر اساس مقادیر شباهت ژنتیکی گزارش شده برای جمعیت‌های هم‌گونه (۰/۹ – ۰/۸) و هم‌جنس (۰/۸۵ – ۰/۳۵) (۴۲) می‌توان بیان نمود که جمعیت‌های مورد بررسی از نظر شباهت ژنتیکی در محدوده جمعیت‌های هم‌گونه قرار می‌گیرند. شرایط رویشگاهی در دو منطقه هیرکانی و زاگرس از یکدیگر بسیار متمایز است. برای مثال لرگ در لرستان در ارتفاع ۱۷۳۰ متر از سطح دریا با بارندگی و درجه حرارت کاملا متفاوت از رویشگاههای لرگ در شمال ایران زیست می‌کند و قابل انتظار است که این تمایز محیطی سبب ایجاد تمایز ژنتیکی نیز گردد. البته نتایج آنالیز PCoA تمایز بالای جمعیت لرستان را از سایر جمعیت‌ها تایید می‌نماید. به طور کلی، میزان تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های لرگ ایران نشان از تمایز ژنتیکی متوسط (Gst =۰/۱۳) در میان این جمعیت‌ها است. به بیان محققین اگر میزان Gst بین محدوده ی ۰/۰۵–۰ باشد نشان‌دهنده‌ی تمایز ژنتیکی کم و اگر بین ۰/۱۵–۰/۰۵ باشد نمایانگر تمایز ژنتیکی متوسط و در نهایت اگر بین ۰/۲۵–۰/۱۵ باشد نشان‌دهنده‌ی تمایز ژنتیکی بسیار بالاست (۴۸،۲۲و۱۲).

Archive of SID

www.SID.ir

از دیگر نتایج بارز این تحقیق وجود تنوع درون جمعیتی بالا در جمعیت غرب به‌ویژه جمعیت بسیار کوچک ایلام (حدود ۲۳ درخت) است. انتظار می‌رود که جمعیت‌های کوچک به دلیل درون آمیزی و جریان ژنی محدود، تنوع ژنتیکی پایین‌تری نیز داشته باشند. اما در مواقعی به دلیل افزایش فراوانی آلل‌های نادر در جمعیت‌های کوچک، مقدار هتروزیگوسیتی نیز افزایش یافته و در نهایت رابطه بین *He* و اندازه جمعیت ضعیف گردد (۴۳). به همین دلیل است که در چنین مواقعی اکتفا کردن تنها به آماره *He* (هتروزیگوسیتی) کافی نبوده و باید سایر مولفه‌های جمعیت از جمله تراکم پایه‌ها، اندازه جمعیت موثر، چگونگی تکثیر در رویشگاه و غیره را نیز مورد توجه قرار داد. بالا بودن تنوع در جمعیت‌های کوچک و منزوی در رابطه با توس‌های ایران نیز گزارش شده است. حسین‌زاده کلاگر و همکاران (۲) بالا بودن تنوع ژنتیکی توس‌های ایران را با وجود تخریب رویشگاه‌های این گونه و شرایط سخت رویشگاهی آن تعجب آور دانستند.

نتیجه گیری نهایی

براساس گزارش IUCN بیش از یک پنجم گونه‌های گیاهی جهان در خطر انقراض هستند. منابع طبیعی کشور ما نیز که در بر دارنده بخش مهمی از ذخایر ژنتیکی گیاهی بوده است از این قضیه مستثنی نبوده و در دو دهه گذشته بخش اعظمی از این منابع دچار تخریب و نابودی گردیده است. قدمت سه میلیون ساله جنس *Pterocarya* حاکی از نقش مهم این جنس در جنگل‌های پهن برگ ناحیه معتدله شمالی می‌باشد. درخت لرگ در گذشته به ویژه تا حدود ۷۰۰ سال پیش از فراوانی قابل توجهی برخوردار بوده است و در طول زمان عوامل طبیعی (خصوصا بی نظمی اقلیمی سده‌های میانی) و انسانی سبب کاهش فراوانی آن شده است.

در این تحقیق برخلاف آنچه انتظار می‌رفت دو جمعیت ایلام و لرستان با وجود اندازه کوچک، تنوع درون جمعیتی بالایی را نشان دادند که این امر می‌تواند دلایل متعددی داشته باشد. از جمله این دلایل می‌توان به سیستم تولید مثل این درخت اشاره کرد. همچنین زمان کوتاه سپری شده از تکه تکه شدن زیستگاه و طولانی بودن دوره زندگی درختان جنگلی که سبب پاسخ آرام آن‌ها به تغییرات محیطی می‌شود ممکن است دلایل این تنوع بالای درون جمعیتی این دو توده باشد. در هر حال وجود چنین تنوع بالایی در این دو جمعیت کوچک بسیار حائز اهمیت است. به خصوص که وجود رویشگاه‌های موجود این گونه در سطح جنگل‌های زاگرس به شکل فعلی نادر و کمیاب بوده و شایسته است این رویشگاه‌ها به عنوان ذخایر ژنتیکی کشور تحت حمایت و حفاظت قرار گیرند.

منابع

۱. ابراهیمی، ع.، ثاقب طالبی، خ.، گرجی بحری، ی.، ۱۳۸۳. بررسی نیاز رویشگاهی لرگ در جنگل تحقیقاتی «واز» مازندران. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران. ۱۲: ۵۰۸-۴۸۱.

۲. حسین زاده کلاگر، ا.، فلاح، ف.، یوسف زاده، ح.، ۱۳۹۴. تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت های توس (*Betula pendula*) ایران، با استفاده از چند شکلی DNAی سه ناحیه (CD، DT و K1K2) ژنوم کلروپلاستی. مجله زیست شناسی ایران. در دست چاپ.

۳. سهرابی، س.ی.، ثاقب طالبی، خ.، خادمی، ک.، ۱۳۸۷. بررسی خصوصیات رویشگاهی و جنگل‌شناسی توده لرگ در استان لرستان، فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران. ۱۶: ۳۵۳-۳۴۳.

۴. صالحی شانجانی، پ.، جوانی و ندرامین، ج.، ۱۳۸۶. مطالعه تمایز ژنتیکی در بین نسلهای جمعیتهای راش (*Fagus orientalis* lipsky) جنگلهای خزری. مجله زیست شناسی ایران. ۲۰: ۶۰-۵۰.

۵. فاضلی، ف.، چقامیرزا، ک.، ۱۳۹۰. بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های نخود زراعی بومی ایران با استفاده از نشانگر ملکولی ISSR. ژنتک نوین. ۶: ۱۰۴-۹۷.

Archive of SID

www.SID.ir

۶. قندهاری، و.، احمدی‌خواه، ا. ا.، پیام نور، و.، ۱۳۹۲. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های شمشاد در شمال ایران با نشانگرهای ISSR. دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۲۱: ۱۲-۱.

۷. مظفریان، و.الف.، ۱۳۸۹. درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات فرهنگ معاصر.

8. Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y., & Lobo, J., 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. Molecular Ecology. 14: 1811–1820.

9. Akhani, H., & Salimian, M., 2003. An extant disjunct stand of *Pterocarya fraxinifolia* (*Juglandaceae*) in the central zagros mountains, W Iran. Willdenowia. 33: 113-120.

10. Ansin, R., Kutbay, H.G., & Ok, T., 1998. A relict species of *Pterocarya fraxinifolia* (Lam.) Spach in Turkey. Orm. Muh. Derg. 35: 12-14.

11. Avsar, M.D., & Ok, T., 2004. A new distribution of caucasuan wingnut (*Pterocarya fraxinifolia* (Poiret Spach)) in the Kahramanmaras region, Turkey. Journal of Environmental Biology. 25: 45-50.

12. Balloux, F., & Lugon-Moulin, N., 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. Molecular Ecology. 11: 155-165.

13. Bassam, B. J., Caetano-Anolles, G., & Greesshoff, P.M., 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry. 19: 680-683.

14. Chen, F.J., Wang, A., Chen, K.M., Wan, D.S., & Liu, J.Q., 2009. Genetic diversity and population structure of the endangered and medically important *Rheum tanguticum* (*Polygonaceae*) revealed by SSR markers. Biochemical Systematics and Ecology. 37: 613–621.

15. Christopoulosa, M.V., Dimos, R., Eleni, T., & Penelope, J.B., 2010. Germplasm diversity and genetic relationships among walnut (*Juglans regia* L.) cultivars and greek local selections revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. Scientia Horticulturae. 125: 584-592.

16. Cote, C.T., 2003. Genetic variation in rare and common plants. Annual Review of Ecology and Systematics. 34: 213–237.

17. Davis, P.H., 1982. Flora of Turkey and the east Aegean Island. Vol. 7. Edinburgh University Press. Edinburgh. 947 p.

18. Ellstrand, N.C., & Elam, D.R., 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. Annual Review of Ecology and Systematics. 24: 217–242.

19. Fernández, M.E., Figueiras, A.M., & Benito, C., 2002. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. Theoretical and Applied Genetics. 104:845–851.

20. Gitzendanner, M.A., & Soltis, P.S., 2000. Patterns of genetic variations in rare and widespread plant congeners. American Journal of Botany. 87: 783–792.

21. Gustaffson, S., 2000. Patterns of genetic variation in *Gymnadenia conopsea*, the fragrant orchid. Molecular Ecology. 9: 1863–1872.

22. Hartl, D. L., & Clark, A. G., 1997. Principles of population genetics (Vol. 116). Sunderland: Sinauer associates.

23. Honnay, O., Adriaens, D., Coart, E., Jacquemyn, H., & Roldan-Ruiz, I., 2007. Genetic diversity within and between remnant populations of the endangered calcareous grassland plant *Globularia bisnagarica* L. Conservation Genetics. 8: 293–303.

24. Honnay, O., & Jacquemyn, H., 2007. Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. Conservation Biology. 21: 823–831.

25. Hosseinzadeh colagar, A., Yusefi, M., Zarei, M., & Yousefzadeh, H., 2013. Assessment of genetic diversity of *Tilia rubra* Dc. by RAPD analysis in the Hyrcanian forests, north of Iran. Polish Journal of Ecology. 61: 341–348.

26. Jalili, A., & Jamzad, Z. 2000. Red data book of Iran. Iranian Research Institute of Forest and Rangland. 748p.

27. Ji, A., Wang, Y., Wu, G., Wu, W., Yang, H., & Wang, Q., 2014. Genetic diversity and population structure of north China mountain walnut revealed by ISSR. American Journal of Plant Sciences. 5: 3194-3202.

28. Jia, X. D., Wang, T., Zhai, M., Li, Y.R., & Guo, Zh. R., 2011. Genetic diversity and identification

Archive of SID

www.SID.ir

of Chinese-Grown Pecan using ISSR and SSR markers. Molecules. 16: 10078-10092.

29. Joshi, S.P., Gupta, V.S., Aggarwal, R.K., Ranjekar, P.K., & Brar, D.S., 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. Theoretical and Applied Genetics. 100:1311–1320.

30. Kayacik, H., 1981. The systematic of trees. Vol. 2: *Angiiospermae*. I.U. Orman Fak. Yayin. Kurtulmus Matbaasi. Istanbul. 337p.

31. King, R. A., & Ferris, C., 2000. Chloroplast DNA and nuclear DNA variation in the sympatric alder species *Alnus cordata* (Lois.) Duby and *A. glutinosa* (L.) Gaertn. Biological Journal of the Linnean Society. 70: 147– 160.

32. Kitamura, K., Matsui, T., Kobayashi, M., Saitou, H., Namikawa, K., & Tsuda, Y., 2015. Decline in gene diversity and strong genetic drift in the northward-expanding marginal populations of *Fagus crenata*. Tree Genetics & Genomes. 11: 36.

33. Kuss, P., Pluess, A. R., Ægisdóttir, H. H., & Stöcklin, J., 2008. Spatial isolation and genetic differentiation in naturally fragmented plant populations of the Swiss Alps. Journal of Plant Ecology. 1: 149–159.

34. Leimu, R., Mutikainen, P., Koricheva, J., & Fischer, M., 2006. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? Journal of Ecology. 94: 942–952.

35. Li, C., Luo, S. P., Zeng, B., Li, J., & Li, G., 2011. Analysis of genetic diversity of germplasm resources of walnut (*Juglans regia* L.) revealed by ISSR in Xinjiang of China. Scientia Agricultura Sinica. 44: 1871-1879.

36. Murray, M.G., & Thompson, W. F., 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research. 8: 4321-4325.

37. Nabavi, S.M., Ebrahimzadeh, M.A., & Nabavi, S.F., 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of methanolic extract of *Pterocarya fraxinifolia* (Lam.) spach leaves and bark Persian. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 24: 374-384.

38. Nei, M., 1987. Genetic distance and molecular phylogeny. N. Ryman and F. Utter (Eds.), Population Genetics & Fishery Management. University of Washington.193-215p.

39. Pluess, A.R., & Stöcklin, J., 2004. Genetic diversity and fitness in Scabiosa columbaria in the Swiss Jura in relation to population size. Conserv. Genet. 5, 145–156.

40. Rix, M., 2007. *Pterocarya macroptera* var. *insignis*, *Juglandaceae*. Curtis's Botanical Magazine. 24: 180-185.

41. Schrader, J.A., & Graves, W.R., 2004. Systematics of *Alnus maritime* (seaside alder) resolved by ISSR polymorphisms and morphological characters. Journal of the American Society for Horticultural Science. 129: 231-236.

42. Thorpe, J. P., 1982. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation and systematic. Annual Review of Ecology and Systematics, 13: 139-168.

43. Van Treuren, R., Bijlsma, R., Van Delden, W., & Ouborg, N. J., 1991. The significance of genetic erosion in the process of extinction. I. Genetic differentiation in *Salvia pratensis* and *Scabiosa columbaria* in relation to population size. Heredity. 66: 181-189.

44. Waldmann, P., & Andersson, S., 1998. Comparison of quantitative genetic variation and allozyme diversity within and between populations of *Scabiosa canescens* and *S. columbaria*. Heredity. 81: 79–86.

45. Wang, Y., Qin, Y., Du, Z., & Yan G., 2012. Genetic diversity and differentiation of the endangered tree *Elaeagnus Mollis* Diels (*Elaeagnus* L.) as revealed by simple sequence repeat (SSR) markers. Biochemical Systematics and Ecology. 40: 25-33.

46. Wang, H., 2010. Genetic diversity of germplasm resources on walnut in Tibet region. Thesis, Chinese Academy of Forestry Sciences, Peking. 77-78. (in Chinese).

47. Wijnands, D.O., 1989. *Pterocarya* in: the European Flora 3, Walters, S.M., Alexander, J.C.M., Brady, A., Brickell, D.O., Cullen, J., Green, P.F., Matthews, V.A., Robson, N.K.B., yeo, P.F., & Knees (Eds.) S.J., Cambridge. 20 p.49.

48. Wright, S., 1978. Evolution and the genetics of populations. Variability within and among natural populations. Vol. 4. University of Chicago press, Chicago. IL, USA.

49. Young, A.G., Boyle, T., & Brown, T., 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation in plants. Trends in Ecology and Evolution. 11: 413–418.

Archive of SID

www.SID.ir

Genetic diversity and vulnerability of *Pterocarya fraxinifolia* Lam. in Zagros forest using ISSR

Mostajeran F., Yousefzadeh H. and Akbarinia M.

Dept. of Forestry, Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University (TMU), Noor Mazandaran, I.R. of Iran.

Abstract

Pterocarya fraxinifolia is an ancient tree in north of Iran that have been recently reported two small stand of this species in west of Iran, Lorestan and Ilam province. In this study, population diversity and genetic differentiation of west populations and their vulnerability were assessed using ISSR markers. Eight to ten trees were selected from two west population as well as four populations of north of Iran, DNA extracted and genetic diversity was evaluated. AMOVA result indicated that the value of intra and inter population diversity is 88% and 12%, respectively. Shannon index is 0.157 and mean of heterozygosity is variable 0.064 to 0.119. Based on neighbor joining algorithm, the under study populations were split to two main groups that the west populations (Ilam and Lorestan) aa well as Savadkouh were comprised the main group 1. Also, PCoA analysis showed clearly differentiation of Lorestan population from other under study populations.

Key words: Genetic differentiation, population diversity, Genetic markers, Clustering

Archive of SID

www.SID.ir