

ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مازودار (*Quercus infectoria*) جنگل‌های زاگرس شمالی با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT و خصوصیات ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی

Genetic diversity assessment of gal oak (*Quercus infectoria*)
populations in north Zagros forests using ScoT molecular marker
and morphological and biochemical characteristics

لیلا علیخانی^۱، نقی شعبانیان^۱، هدیه بدخشان^{۱*}، محمد شفیع رحمانی^۱

۱- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیاران، دانش‌آموخته کارشناس ارشد، دانشگاه کردستان

Alikhani L¹, Shabanian N¹, Badakhshan H^{*1}, Shafie Rahmani M¹

1- MSc Graduated Student, Assistant Professors, MSc Graduated Student,
University of Kurdistan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: b.badakhshan@uok.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۱۵)

چکیده

به منظور مقابله با پیامدهای فشار تخریبی ساکنان محلی بر تنوع ژنتیکی جنگل‌های غالباً بلوط زاگرس، شناسایی مراکز تنوع ژنتیکی و مدیریت پایدار ذخایر ژنتیکی این جنگل‌ها ضروری است. هدف از این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی در میان ۱۵۰ پایه مازودار (*Quercus infectoria*) برگرفته از ۱۰ جمعیت طبیعی این گونه در جنگل‌های زاگرس شمالی با استفاده از نشانگر چندشکلی کدون آغاز هدف (SCoT) و خصوصیات ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی برگ بود. بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی برگ تنوع بالایی در جمعیت‌ها وجود داشت. تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر داده‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی جمعیت‌ها را در سه خوشه اصلی گروه‌بندی کرد. از مجموع ۱۰ آغازگر SCoT مورد استفاده ۱۳۶ نوار تکثیر شد که از این تعداد، ۱۳۵ نوار (۹۹ درصد) چند شکل بودند. با تفکیک تنوع ژنتیکی مشاهده شده در جمعیت‌ها توسط تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) مشخص شد که بخش عمده تنوع ژنتیکی (۷۶ درصد) مربوط به درون جمعیت‌هاست. اما، بین جمعیت‌ها هم تفاوت معنی‌داری وجود داشت. به نظر می‌رسد که جریان ژنی گسترده ناشی از گرده‌افشانی وسیع گونه‌های بلوط به کمک باد یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده چنین وضعیتی است. تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر نشانگر SCoT، جمعیت‌های مورد مطالعه را بدون این که رابطه مشخصی با منشا جغرافیایی آن‌ها داشته باشد در خوشه‌های مجزا گروه‌بندی کرد. اطلاعات این مقاله می‌تواند برای پایه‌ریزی راهبردهای حفاظت از ذخایر ژنتیکی مازودار در جنگل‌های زاگرس سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی

بلوط
تنوع ژنتیکی
چندشکلی نواحی هدف کدون شروع
(SCoT)
نشانگر مولکولی

مقدمه

حفاظت ژنی، که طبق تعریف کلیه فعالیت‌های مختلف سیاستی و مدیریتی حفظ گونه‌ها جهت تداوم وجود تنوع ژنتیکی آن‌ها را در بر می‌گیرد (Boyle 2000; FAO/DFSC/IPGRI 2002)، یکی از مولفه‌های اصلی جنگلداری پایدار است (White et al. 2007). توان سازگار شدن گونه‌ها و جمعیت‌های آن‌ها با محیط و حفظ بقا، در آینده فراروی کره زمین بسیار حیاتی است. چرا که، گونه‌ها و جوامع آن‌ها به طور دائم در معرض تنش‌های مختلف از قبیل از دست دادن زیستگاه، پیدایش و ظهور آفات و بیماری‌ها، آلودگی‌های زیست محیطی و تغییرات اقلیمی قرار دارند (Boyle 2000). تنوع ژنتیکی امکان سازگاری گونه‌ها را با شرایط متغیر محیطی فراهم می‌کند و به گونه‌ها اجازه می‌دهد تا سازگاری‌های منحصر به فرد خود را توسعه و بروز دهند (Eriksson et al. 2007; Boyle 2000; White et al. 1993).

جنگل‌های زاگرس با سطح تقریبی ۵ میلیون هکتار، نقش مهمی در حفظ آب و خاک، تعدیل آب و هوا و توازن اقتصادی و اجتماعی جنگل‌نشینان دارند (Sagheb-Talebi et al. 2002). گونه‌های بلوط از گونه‌های کلیدی و محوری این جنگل‌ها محسوب می‌شوند. اما، به دلیل این که ساکنان محلی برای تأمین نیازهای مختلف خود از جمله چوب مورد نیاز سوخت و مصارف ساختمانی، از جنگل به‌طور بی‌رویه استفاده می‌کنند و همچنین به‌منظور انجام فعالیت‌های کشاورزی به‌طور غیر قانونی اقدام به قطع درختان جنگل می‌کنند، جنگل‌های زاگرس در معرض تغییرات شدیدی قرار گرفته‌اند (Ghazanfari et al. 2004). بدیهی است به دلیل چنین بهره‌برداری وسیع و بی‌رویه از اکوسیستمی که خود به دلیل تغییرات اقلیمی بسیار حساس و آسیب‌پذیر شده، تغییرات عمیقی در ذخایر ژنی آن‌ها ایجاد شده- است (Kanowski 2000). حفظ تنوع ژنتیکی این جنگل‌ها برای ساکنان آن مزایای متعددی از قبیل منافع اکولوژیکی، اقتصادی، اجتماعی و زیبایی‌شناختی دارد. بقای بسیاری از سایر گونه‌های گیاهی و جانوری به حیات گونه‌های بلوط بستگی دارد. بنابراین، حفاظت از تنوع ژنتیکی گونه‌های بلوط برای سلامت مولفه‌های این اکوسیستم در درازمدت ضروری است (Young and Boyle 2000). تنوع ژنتیکی در گونه‌های چوبی به توان جنگل در تولید

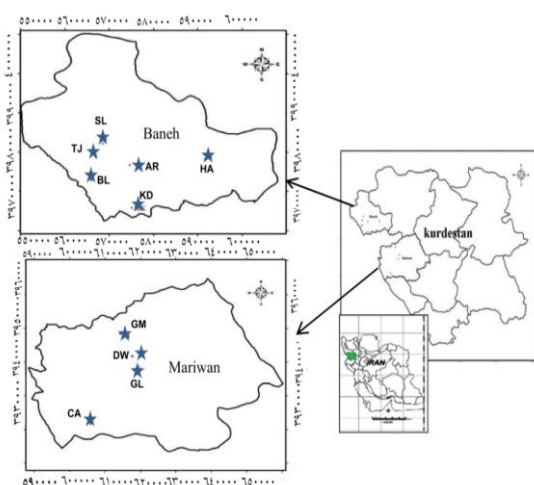
چوب و سایر محصولات مورد استفاده انسان پایداری می‌بخشد (Young and Boyle 2000; White et al. 2007). به‌علاوه، وجود تنوع ژنتیکی در یک گونه ممکن است در آینده منافع و مزایای دیگری داشته باشد که تاکنون به آن پی نبرده‌ایم. ممکن است تا زمانی که از تنوع ژنتیکی یک گونه حفاظت می‌شود تاثیر آن نامحسوس باشد. بنابراین، هنوز دانش ما درباره ژنتیک حفاظتی جوامع گونه‌های درختی جنگلی بسیار ناقص است (White et al. 2011; Neale and Kremer 2007).

تحقیقات ژنتیکی ابزاری کارآمد و موثر برای حفاظت، کمک به تجدید حیات و مدیریت جوامع طبیعی درختان جنگلی به شمار می‌آیند. عواملی مانند طولانی بودن مدت زمان بذردهی، بزرگ بودن ژنوم، عدم تشخیص درست جهش و بودجه‌دهی محدود از موانع مهم پیشرفت تحقیقات مذکور در گونه‌های جنگلی هستند (Neale and Kremer 2011). علی‌رغم این موارد، در دو دهه اخیر پیشرفت‌های چشم‌گیری در بررسی ژنتیک درختان جنگلی حاصل شده است (White et al. 2007). بر اساس نتایج بررسی تنوع ژنتیکی در هشت جمعیت مختلف بلوط ایرانی (*Q. brantii*) با بهره‌بردن از نشانگر مولکولی AFLP مشخص شد که در جنگل‌های بلوط استان چهارمحال و بختیاری، تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها بیشتر از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه بوده است و نتایج پژوهش نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی بین جمعیت‌های بلوط ایرانی در این استان وجود دارد که می‌تواند به دلیل وجود احتمالی زیرگونه‌ها و یا حتی گونه‌های دیگری در توده‌های برودار در جمعیت‌های مورد مطالعه باشد (Mashaieki et al. 2010). با هدف ارائه چهارچوب مدیریتی مبتنی بر حفظ ذخایر ژنتیکی در جنگل‌های بلوط استان کهگیلویه و بویراحمد، تنوع ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های چهار طبقه ارتفاعی بلوط ایرانی (*Q. brantii*) با استفاده از ۱۰ آغازگر SSR مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که ژنوتیپ‌های طبقه ارتفاعی میانی نسبت به ژنوتیپ‌های طبقات ارتفاعی بالاتر و پایین‌تر از خود تنوع ژنتیکی بیشتری دارند. بنابراین، باید به حفاظت جمعیت‌های این طبقات توجه زیادی شود (Zolfaghari et al. 2008). تنوع ژنتیکی جوامع مختلف بلوط هیبرید *Q. subpyrenaica* در شمال شرق اسپانیا بر اساس صفات ریخت‌شناختی و اکوفیزیولوژیکی مورد مطالعه قرار

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه و مواد گیاهی

برای انجام این مطالعه در اردیبهشت ۱۳۹۱ از ۱۵۰ پایه انتخابی از ۱۰ جمعیت مازودار (*Quercus infectoria*) در شهرستان‌های مریوان و بانه نمونه‌های برگ تازه جمع‌آوری شد (جدول ۱ و شکل ۱). از هر جمعیت حداقل ۱۰ پایه با فواصل حداقل ۱۰۰ متر از همدیگر به صورت جنگل‌گردشی انتخاب و از آنها نمونه‌برداری انجام گرفت. پس از انتقال برگ‌های تازه و جوان به آزمایشگاه در محفظه حاوی یخ، نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای 20°C - نگه‌داری شدند.



شکل ۱- نقشه ایران و استان کردستان (داخل کادر) و نقشه منطقه مورد مطالعه. برای اطلاعات بیشتر جدول ۱ را ببینید.

گرفت و مشخص شد پایه‌های هیبرید از لحاظ خصوصیات مورد نظر، از تنوع بالاتری نسبت به پایه‌های والدینی برخوردارند (Himrane et al. 2004). با بررسی تنوع ژنتیکی پرونانس‌های مختلف *Q. ilex* با استفاده از خصوصیات مورفومتریک و بیوشیمیایی بذر، گزارش شد که پرونانس‌های شمالی منطقه مورد مطالعه در اسپانیا در مقایسه با پرونانس‌های جنوبی آن به طور معنی‌داری دارای بذرهای سنگین‌تر، طول‌تر و قطورتری هستند. همچنین، این پرونانس‌ها از لحاظ خصوصیات بیوشیمیایی بذر دارای تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای بودند. بر اساس تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر داده‌های مورفومتریک و بیوشیمیایی، جوامع مورد مطالعه در دو خوشه اصلی شامل پرونانس‌های شمالی و پرونانس‌های جنوبی تفکیک شد (Valero et al. 2011). نشانگر مبتنی بر نواحی هدف کدون شروع (SCoT) توسط (2009) Collard and Mackill ابداع شده و تکرارپذیری آن در مجموعه‌ای از ژنوتیپ‌های برنج به اثبات رسیده است. با استفاده از این نشانگر آشکارسازی چندشکلی در ردیف نوکلئوتیدی طرفین کدون شروع ATG در ژن‌های گیاهی ممکن می‌شود. در این مطالعه، همراه با بررسی خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی، از نشانگر مولکولی SCoT نیز به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ۱۰ جمعیت مازودار *Q. infectoria* متشکل از ۱۵۰ ژنوتیپ از مناطق مختلف جنگل‌های زاگرس شمالی استفاده شد.

Start Codon Targeted Polymorphism

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری، تعداد ژنوتیپ‌های نمونه‌برداری شده در هر جامعه و برخی مشخصات اقلیمی و اداپتیکی هر منطقه

جمعیت	تعداد ژنوتیپ	ارتفاع (متر)	طول جغرافیایی (E)	عرض جغرافیایی (N)	شیب (%)	کربن آلی خاک (%)
کال (CA)	۱۸	۱۳۵۰-۱۴۷۰	$46^{\circ}10'43''$	$35^{\circ}25'27''$	۲۰-۳۰	۴/۳
گمارلنگ (GL)	۲۰	۱۳۸۰-۱۶۰۰	$46^{\circ}17'49''$	$35^{\circ}34'31''$	۴۰-۵۰	۲/۷
دویسه (DW)	۱۰	۱۴۰۰-۱۶۰۰	$46^{\circ}18'33''$	$35^{\circ}36'31''$	۴۰-۵۰	۲/۵
قامیشله (GM)	۱۹	۱۵۰۰-۱۷۰۰	$46^{\circ}15'45''$	$35^{\circ}40'28''$	۶۰-۶۵	۳/۵
کنده‌سوره (KD)	۱۴	۱۳۶۰-۱۴۸۰	$45^{\circ}48'46''$	$35^{\circ}50'32''$	۵۰-۶۰	۲/۴
بلکه (BL)	۱۸	۱۳۷۰-۱۵۰۰	$45^{\circ}64'49''$	$35^{\circ}51'34''$	۴۰-۵۰	۳/۶
هواره‌خول (HA)	۱۲	۱۶۰۰-۱۸۵۰	$46^{\circ}00'49''$	$35^{\circ}56'34''$	۴۰-۵۰	۳/۳
آرمرد (AR)	۱۰	۱۶۰۰-۱۸۰۰	$45^{\circ}44'47''$	$35^{\circ}55'33''$	۳۵-۵۰	۲/۹
تاژان (TJ)	۱۸	۱۴۱۰-۱۵۱۰	$45^{\circ}46'48''$	$35^{\circ}56'36''$	۳۵-۴۵	۰/۵
سالوک (SL)	۱۱	۱۳۵۰-۱۴۸۰	$45^{\circ}48'49''$	$35^{\circ}58'35''$	۶۰-۷۰	۲/۲

با استفاده از روش مبتنی بر CTAB و بر پایه دستورالعمل (Doyle and Doyle 1987) با کمی تغییرات، DNA ژنومی از بافت برگ استخراج شد. با استفاده از دستگاه بیوفتومتر (BioPhotometer, Eppendorf) و ژل آگارز ۰/۸ درصد کمیت و کیفیت نمونه‌های DNA استخراج شده کنترل شد. نمونه‌های DNA تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در دمای ۴۰°C- نگه‌داری شدند.

تجزیه و تحلیل مولکولی

به‌منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مورد مطالعه در این پژوهش، ۱۰ آغازگر مولکولی SCoT مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۳). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر واکنش (مسترکیست؛ سیناژن)، یک میکرولیتر آغازگر، دو میکرولیتر از DNA ژنومی با غلظت ۴۰-۲۰ نانوگرم و دو میکرولیتر آب دیونیزه با استفاده از دستگاه ترمو ساینکالر (Bio-RAD) C-1000 انجام شد.

موقعیت مکانی پایه‌های نمونه‌برداری شده با استفاده از سیستم موقعیت‌یاب جهانی ثبت و در مهر ماه ۱۳۹۱ از همان پایه‌ها به صورت تصادفی حداقل ۴۰ برگ برای بررسی‌های ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی جدا و در داخل محفظه‌ای حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل و تا زمان انجام این بررسی‌ها در دمای ۴°C نگه‌داری شدند. تجزیه و تحلیل بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی

در مجموع ۱۶ خصوصیت ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی برگ پایه‌های نمونه‌برداری شده مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). خصوصیات ریخت‌شناسی، بر اساس شاخص‌های گزارش شده توسط Bruschi et al. (2003) ارزیابی شدند. به‌منظور بررسی خصوصیات بیوشیمیایی، ابتدا برگ‌های جمع‌آوری شده (۲۰ برگ) از هر پایه در دمای ۸۰°C به مدت ۴۸ ساعت خشک و از آن‌ها نمونه ترکیبی برای آن پایه تهیه شد. در جدول ۲ خصوصیات شیمیایی اندازه‌گیری شده و روش سنجش آن‌ها آورده شده‌است. به‌منظور سنجش دقیق هر یک از عناصر شیمیایی، در تمامی موارد، سری استاندارد تهیه شد.

استخراج DNA ژنومی

جدول ۲- خصوصیات ریخت‌شناختی و شیمیایی مورد سنجش در برگ پایه‌های نمونه از جمعیت‌های *Q. infectoria*

کد	صفت (روش اندازه‌گیری)	واحد
BL	طول پهنک (فاصله بین نوک برگ و محل اتصال پهنک-دمبرگ)	میلی‌متر
PL	طول دمبرگ (فاصله بین محل اتصال پهنک-دمبرگ و محل اتصال دمبرگ-شاخه فرعی)	میلی‌متر
LW	پهنای دندان انتهایی	میلی‌متر
LL	طول دندان انتهایی	میلی‌متر
WL	پهنای پهن‌ترین دندان	میلی‌متر
SD	حداکثر عمق سینوس (فاصله بین کف بیشترین فرورفتگی بین دو دندان تا نوک دندان سمت راست مجاور)	میلی‌متر
MD	فاصله رگبرگ اصلی تا نوک بزرگترین دندان (فاصله افقی بین نوک برگ و پهن‌ترین نقطه در پهنک برگ)	میلی‌متر
WW	پهنای پهنک در پهن‌ترین نقطه آن	میلی‌متر
LH	ارتفاع نقطه حداکثر پهنای برگ تا نوک (فاصله بین نوک برگ و پهن‌ترین نقطه در پهنک برگ)	میلی‌متر
LN	تعداد دندان در سمت راست برگ	عدد
TN	مقدار نیتروژن کل (بر اساس روش کج‌لدال، Baker and Thompson 1992)	درصد وزن خشک
CH	قندهای کل (بر پایه روش Yoshida et al. (1976))	میلی‌گرم بر گرم
Pr	پروتئین کل (بر اساس روش کج‌لدال، Baker and Thompson 1992)	میلی‌گرم بر گرم
K	پتاسیم (بر پایه روش Hanlon (1992) با استفاده از دستگاه جذب اتمی (AA-7000G, SHIMADZU))	میلی‌گرم بر گرم
Ca	کلسیم (بر پایه روش Hanlon (1992) با استفاده از دستگاه جذب اتمی (AA-7000G, SHIMADZU))	میلی‌گرم بر گرم
Mg	منیزیم (بر پایه روش Hanlon (1992) با استفاده از دستگاه جذب اتمی (AA-7000G, SHIMADZU))	میلی‌گرم بر گرم

جدول ۳- توالی نوکلئوتیدی آغازگرهای SCoT و دمای بهینه اتصال آن-

ها (AT)			
ردیف	آغازگر	ردیف (3'→5')	AT(°C)
۱	SCoT5	CAACAATGGCTACCACGA	۵۳/۳
۲	SCoT6	CAACAATGGCTACCACGC	۵۲/۰
۳	SCoT9	CAACAATGGCTACCAGCA	۵۰/۷
۴	SCoT12	ACGACATGGCGACCAACG	۵۶/۳
۵	SCoT14	ACGACATGGCGACCACGC	۵۳/۸
۶	SCoT22	AACCATGGCTACCACCAC	۵۳/۹
۷	SCoT25	ACCATGGCTACCACCGGG	۵۳/۹
۸	SCoT27	ACCATGGCTACCACCGTG	۵۹/۴
۹	SCoT30	CCATGGCTACCACCGGCG	۵۲/۰
۱۰	SCoT35	CATGGCTACCACCGGCC	۵۶/۳

با استفاده از آزمون همبستگی مانتل (Mantel 1967)، همبستگی بین ضرایب فاصله دایس و فاصله جغرافیایی بین جمعیت‌ها ارزیابی شد.

نتایج

پس از آزمون صحت مفروضات تجزیه واریانس و انجام تبدیل داده مناسب، تجزیه واریانس بر مبنای طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بدین ترتیب که، هر یک از جمعیت‌ها به عنوان تیمار در تجزیه وارد شده و از لحاظ صفات مورد مطالعه مورد مقایسه قرار گرفتند. از لحاظ خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی، بین جمعیت‌های *Q. infectoria* در جنگل‌های زاگرس شمالی تنوع قابل ملاحظه‌ای برآورد شد (جدول ۴ و ۵). بین صفات ریخت-شناسی BL، PL، LL، WL، MD، SD و LH اختلاف قابل توجهی وجود داشت (جدول ۴). میانگین صفات مورد آزمون در جمعیت‌های مختلف در جدول ۶ و ۷ نشان داده شده‌اند. به عنوان نمونه، همانطور که از جدول ۶ و ۷ مشهود است؛ جمعیت بلکه با میانگین برابر با ۴/۶ سانتی‌متر بیش‌ترین و جمعیت گمارلنگ با میانگین برابر با ۰/۰۳ سانتی‌متر کمترین ارتفاع نقطه حداکثر پهنای برگ تا نوک (LH) را داشتند. همچنین، طول پهنک (BL) در جمعیت‌های بلکه و قامیشه به ترتیب با میانگین برابر با ۹/۷ و ۶/۵۳ حداکثر و حداقل مقدار را داشتند. جمعیت‌های بلوط مورد مطالعه، از نظر مقدار پتاسیم (K) و منیزیم (Mg) دارای اختلاف

برنامه دمایی که برای PCR در نظر گرفته شد شامل، مرحله واسرشت سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴، ۴۵ چرخه در دماهای ۹۴، ۵۶-۵۰ (جدول ۳) و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به-ترتیب به مدت ۳۰ ثانیه، ۴۵ ثانیه، ۹۰ ثانیه و مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه بود. آشکارسازی محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید ۰/۱ درصد، به کمک دستگاه ژل‌داکیومنت (Gel Doc™ XR, Bio-Rad) انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی در جمعیت‌های بلوط با استفاده از نسخه 9.1 نرم‌افزار SAS (SAS Institute Inc. Cary, NC.) تجزیه و تحلیل شدند. تجزیه خوشه‌ای به منظور گروه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی با استفاده از روش وارد (Ward 1963) و بر مبنای فاصله اقلیدسی با استفاده از نرم‌افزار XLSTAT® انجام شد.

نمره‌دهی نوارها در پروفایل آغازگر SCoT، بر اساس حضور (یک) و عدم حضور نوار (صفر) و مقایسه با خط‌کش ژنی انجام شد (Image Lab Software v. 4.0; Bio-Rad). شاخص‌های تنوع ژنتیکی از جمله، تعداد نوار تکثیر شده (TB)، تعداد نوار چندشکل (PB)، درصد چندشکلی (% PL)، دامنه اندازه نوارهای تکثیر شده (FSR)، شاخص اطلاعات شانون (I) و شاخص تنوع ژنی نی (h) با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx, v. 6.5 (Peakall and Smouse 2006) برآورد شدند. شاخص تنوع ژنی نی بر اساس تابع $1-p^2-q^2$ (Powel et al. 1996) محاسبه شد. در این تابع، p_i فراوانی حضور نوار (یک) و q فراوانی عدم حضور نوار (صفر) است. برای بررسی ساختار جمعیت، ضریب تمایز جمعیتی (G_{ST}) و جریان ژنی (N_m) نیز محاسبه شدند. به منظور تعیین سهم واریانس ژنتیکی درون جمعیتی و واریانس ژنتیکی بین جمعیتی از روش تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) استفاده شد (Excoffier et al. 1992). روابط ژنتیکی بین جمعیت‌ها با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای بر پایه روش UPGMA و ضریب فاصله دایس مورد بررسی قرار گرفت.

تنهایی به ترتیب در خوشه‌های سوم تا پنجم گروه‌بندی شدند (شکل ۲). تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بر اساس صفات ریخت-شناسی و بیوشیمیایی به منظور گروه‌بندی کردن ژنوتیپ‌های مورد مطالعه انجام شد. سه مؤلفه اول ۶۷/۳۰ درصد از تغییرات مربوط به خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی را تبیین کردند (جدول ۸).

در مؤلفه اصلی اول، صفات بیوشیمیایی قندهای کل و پروتئین دارای بیشترین ضریب با علامت مثبت و صفات ریخت‌شناسی طول پهنک و تعداد دندان در سمت راست برگ دارای بیشترین ضرایب منفی بودند. این مؤلفه ۳۷/۴ درصد از کل تغییرات را تبیین کرد و با توجه به این که مقدار ضرایب خصوصیات بیوشیمیایی بیشترین مقدار را با علامت مثبت در مؤلفه اول دارا بودند، می‌توان مؤلفه اول را به عنوان مؤلفه خصوصیات بیوشیمیایی نام برد. در مؤلفه اصلی دوم ضرایب صفات ریخت-شناسی پهنای دندان انتهایی، حداکثر عمق سینوس، پهنای پهن-ترین دندان و صفات کلسیم و پتاسیم با علامت مثبت بیشترین مقدار را دارا بودند. مؤلفه دوم مجموعاً ۱۵ درصد از تغییرات کل را تبیین کرد. با توجه به بیش‌تر بودن نقش صفات ریخت‌شناسی در این مؤلفه، می‌توان این مؤلفه را بیانگر خصوصیات ریخت-شناسی دانست. مؤلفه سوم ۱۴/۸ درصد کل تغییرات را تبیین کرد. در این مؤلفه در میان صفات بیوشیمیایی بیش‌ترین ضرایب مثبت مربوط به عناصر معدنی کلسیم، پتاسیم و منیزیم بود.

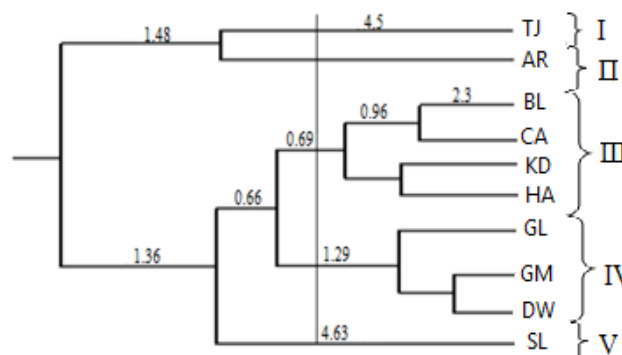
از بین ۲۵ آغازگر SCoT مورد بررسی، ۱۰ آغازگر که نوارهای چندشکل و قابل نمره‌دهی تولید کردند، برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در ۱۵۰ ژنوتیپ از ۱۰ جمعیت *Q. infectoria* انتخاب شدند. این آغازگرها در مجموع ۱۳۵ نوار با میانگین ۱۳/۵ نوار در هر آغازگر را تولید کردند که از این تعداد، ۱۲۶ نوار چندشکل بودند (جدول ۹).

جدول ۴- تجزیه واریانس بر اساس طرح کاملاً تصادفی برای هر یک از صفات ریخت‌شناسی

منبع تغییر	درجه آزادی	MS				
		WL	LL	LW	PL	BL
جمعیت	۹	۱/۶۶***	۰/۰۷**	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۱۷***	۰/۰۰۱**

منبع تغییر	درجه آزادی	MS				
		LN	LH	WW	MD	SD
جمعیت	۹	۴/۱۵ ^{ns}	۰/۰۲**	۰/۶۰	۰/۰۱**	۱/۶۶***

ns, *, **, *** به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح پنج، یک و یکدهم درصد.



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های *Q. infectoria* بر اساس فواصل اقلیدسی مبتنی بر خصوصیات ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی برگ.

معنی‌دار قابل توجهی بودند (جدول ۵). بیش‌ترین (۱۵۵/۰۲) و کم‌ترین (۱۰۲/۸۱) مقدار K به ترتیب در جمعیت‌های گمارلنگ و تاژان برآورد شد (جدول ۷). بر اساس مجموع خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی تجزیه خوشه‌ای انجام شد و مطابق با این تجزیه، جمعیت‌های مورد مطالعه در پنج گروه دسته‌بندی شدند. در گروه اول، جمعیت‌های کال و قامیشه قرار گرفتند. جمعیت‌های هه‌واره‌خول، بلکه و سالوک در دسته دوم و جمعیت‌های کنده‌سوره، تاژان، دویسه و گمارلنگ هر یک به

جدول ۵- تجزیه واریانس بر اساس طرح کاملاً تصادفی برای صفات بیوشیمیایی

منبع تغییر	درجه آزادی	MS					
		Mg	Ca	K	Pr	CH	TN
جمعیت	۹	۲۷۳/۱۶***	۰/۰۶ ^{ns}	۲۷۳/۱۶***	۵۵/۱۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۶ ^{ns}	۱/۴۱ ^{ns}

ns, *, **, *** به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح پنج، یک و یکدهم درصد.

جدول ۶- خصوصیات ریخت‌شناختی اندازه‌گیری شده در برگ پایه‌های نمونه جمعیت‌های *Q. infectoria* (داده‌ها نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار هستند).

جمعیت	BL	PL	LW	LL	WL	SD	MD	WW	LH	LN
CA	۷/۳±۱/۸ ^{ab}	۱/۵±۰/۴ ^b	۰/۸±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^c	۱/۰±۰/۱ ^b	۰/۳±۰/۱ ^{bc}	۱/۶±۰/۵ ^b	۳/۳±۱/۰ ^b	۳/۲±۰/۸ ^c	۷/۷±۱/۲ ^a
GL	۶/۸±۰/۷ ^b	۱/۰±۰/۱ ^c	۱/۰±۰/۱ ^a	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۰±۰/۱ ^b	۰/۳±۰/۱ ^{bc}	۱/۶±۰/۱ ^b	۳/۳±۰/۱ ^b	۲/۰±۰/۲ ^d	۶/۶±۱/۳ ^b
DW	۷/۴±۰/۱ ^{ab}	۱/۱±۰/۱ ^c	۰/۵±۰/۱ ^c	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۱±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۵±۰/۱ ^c	۳/۲±۰/۱ ^b	۲/۱±۰/۹ ^d	۷/۸±۲/۰ ^a
GM	۶/۵±۰/۴ ^b	۱/۲±۰/۳ ^{bc}	۱/۱±۰/۱ ^a	۰/۴±۰/۱ ^c	۱/۱±۰/۱ ^b	۰/۵±۰/۱ ^c	۱/۵±۰/۳ ^b	۳/۵±۰/۵ ^{ab}	۲/۹±۰/۴ ^c	۵/۹±۱/۱ ^c
KD	۸/۰±۰/۳ ^{ab}	۱/۴±۰/۱ ^b	۰/۸±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۳±۰/۱ ^b	۰/۵±۰/۱ ^b	۱/۹±۰/۲ ^a	۴/۰±۰/۲ ^a	۳/۳±۰/۲ ^{bc}	۷/۴±۱/۱ ^{ab}
BL	۹/۷±۱/۲ ^a	۱/۸±۰/۶ ^a	۰/۵±۰/۱ ^c	۰/۶±۰/۱ ^a	۱/۷±۰/۱ ^a	۰/۷±۰/۲ ^a	۲/۳±۰/۲ ^a	۴/۱±۰/۷ ^a	۴/۶±۱/۱ ^a	۷/۹±۱/۹ ^a
HA	۷/۴±۰/۲ ^{ab}	۱/۴±۰/۲ ^b	۰/۸±۰/۱ ^b	۰/۵±۰/۱ ^{ab}	۱/۳±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۸±۰/۲ ^b	۳/۵±۰/۵ ^{ab}	۳/۲±۰/۴ ^c	۶/۵±۱/۰ ^b
AR	۶/۷±۰/۵ ^b	۱/۷±۰/۱ ^{ab}	۰/۸±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۲±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۸±۰/۲ ^a	۳/۶±۰/۳ ^{ab}	۳/۷±۰/۲ ^b	۷/۰±۰/۳ ^b
TJ	۷/۶±۱/۰ ^{ab}	۱/۵±۰/۵ ^a	۰/۸±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^b	۱/۱±۰/۱ ^b	۰/۵±۰/۱ ^b	۱/۸±۰/۲ ^b	۳/۶±۰/۵ ^{ab}	۳/۰±۰/۴ ^c	۶/۲±۲/۹ ^{bc}
SL	۸/۶±۰/۲ ^a	۱/۴±۰/۳ ^b	۱/۰±۰/۱ ^a	۰/۵±۰/۱ ^{ab}	۱/۲±۰/۱ ^b	۰/۴±۰/۱ ^b	۲/۰±۰/۱ ^a	۴/۰±۰/۲ ^a	۴/۲±۰/۸ ^a	۸/۵±۰/۴ ^a
CV (%)	۸۵/۷۵	۱۲/۷۷	۲۰/۱۱	۱۶/۴۶	۱۸/۵۱	۱۳/۵۱	۴۱/۸۸	۷/۹۶	۲۳/۸۶	۶/۶۰

(CA: کال؛ GL: گمارلنگ؛ DW: دویسه؛ GM: قامیشله؛ KD: کنده سور؛ BL: بلکه؛ HA: هواره خول؛ AR: آرمرده؛ TJ: تازان؛ SL: سالوک).

جدول ۷- خصوصیات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در برگ پایه‌های نمونه جمعیت‌های *Q. infectoria* (داده‌ها نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار هستند).

جمعیت	TN (%)	CH (mg/g)	Pr (%)	K (mg/g)	Ca (mg/g)	Mg (mg/g)
CA	۵/۰۰±۱/۲ ^b	۷۲/۴۳±۱/۱ ^a	۳۱/۲۵±۷/۹ ^b	۱۴۵/۳۴±۳۹/۹ ^a	۶۹/۵۲±۳۸/۹ ^a	۴۲/۳۳±۸/۹ ^a
GL	۴/۶۶±۰/۸ ^b	۵۶/۷۶±۰/۳ ^c	۲۹/۶۰±۵/۱ ^b	۱۵۵/۰۲±۴۸/۵ ^a	۵۶/۵۳±۴۸/۵ ^b	۲۴/۸۹±۷/۸ ^b
DW	۴/۰۰±۱/۰ ^c	۶۷/۲۱±۰/۳ ^a	۲۵/۰۰±۶/۲ ^c	۱۳۲/۸۶±۵/۴ ^b	۲۶/۴۴±۵/۴ ^d	۱۷/۸۲±۴/۴ ^c
GM	۴/۵۰±۰/۵ ^{bc}	۷۳/۰۳±۱/۷ ^a	۲۸/۲۰±۳/۴ ^{bc}	۱۳۵/۴۱±۸/۸ ^b	۵۰/۰۵±۸/۸ ^b	۲۰/۶۴±۳/۴ ^{bc}
KD	۴/۳۳±۰/۸ ^c	۶۸/۰۰±۰/۶ ^a	۲۷/۰۸±۵/۱ ^c	۱۵۴/۱۸±۲۷/۲ ^a	۶۵/۱۱±۲۷/۲ ^a	۲۲/۴۹±۷/۵ ^{bc}
BL	۴/۵۰±۰/۵ ^{bc}	۶۰/۹۷±۰/۶ ^b	۲۸/۱۲±۳/۴ ^{bc}	۱۰۵/۵۱±۱۹/۱ ^c	۵۰/۸۶±۲۸/۱ ^b	۲۷/۴۳±۱/۲ ^b
HA	۶/۰۰±۲/۷ ^a	۷۰/۷۱±۰/۵ ^a	۳۷/۵۰±۱۷/۳ ^a	۱۱۱/۲۷±۲۱/۰ ^c	۴۰/۶۲±۲۱/۰ ^c	۲۲/۹۲±۷/۳ ^{bc}
AR	۴/۰۰±۱/۰ ^c	۶۷/۱۵±۰/۵ ^a	۲۵/۰۰±۶/۲ ^c	۱۳۸/۱۶±۲۳/۹ ^b	۵۰/۱۰±۲۳/۹ ^b	۲۶/۷۹±۳/۱ ^b
TJ	۳/۳۳±۱/۶ ^c	۶۳/۱۰±۰/۳ ^b	۲۰/۸۳±۱۰/۲ ^c	۱۰۲/۸۱±۲۱/۱ ^c	۶۴/۰۰±۲۱/۱ ^a	۲۱/۰۶±۶/۳ ^{bc}
SL	۴/۳۳±۱/۰ ^c	۶۵/۳۶±۰/۲ ^b	۲۷/۰۸±۶/۴ ^c	۱۲۷/۰۵±۲۶/۰ ^b	۴۷/۹۲±۲۶/۰ ^c	۱۹/۴۲±۸/۱ ^c
CV (%)	۹/۶۵	۱/۸۴	۳/۸۶	۱/۸۰	۳/۶۶	۴/۶۰

(CA: کال؛ GL: گمارلنگ؛ DW: دویسه؛ GM: قامیشله؛ KD: کنده سور؛ BL: بلکه؛ HA: هواره خول؛ AR: آرمرده؛ TJ: تازان؛ SL: سالوک).

مشاهده شده (A_0) نیز برابر با ۱/۳۹ برآورد شد و میزان آن از ۱/۱۱ (هواره خول) تا ۱/۶۸ (گمارلنگ) متغیر بود. با فرض وجود تعادل هاردی-وینبرگ، شاخص تنوع ژنی نی (h) در جمعیت‌های متفاوت محاسبه شد. شاخص تنوع ژنی نی با میانگین برابر با ۰/۱۷، از ۰/۱۳ (جمعیت‌های هواره خول و آرمرده) تا ۰/۱۹ (جمعیت‌های گمارلنگ و بلکه) متفاوت بود (جدول ۱۰). کمترین مقدار شاخص اطلاعات شانون برابر با ۰/۱۴ در سالوک و بیشترین مقدار آن در جمعیت‌های گمارلنگ و بلکه برابر با ۰/۳۰ با میانگین ۰/۲۶ محاسبه شد (جدول ۱۰). بدین ترتیب، بر اساس مجموع شاخص‌های ژنتیکی برآورد شده توسط نشانگرهای

میانگین تعداد نوارهای چندشکل برابر با ۱۲/۶ درصد و چندشکلی آشکار شده به ازای هر آغازگر از ۸۴/۶۱ درصد (SCoT30) تا ۱۰۰ درصد (SCoT14 و SCoT27) متفاوت بود (جدول ۹). از شاخص اطلاعات شانون (I) و شاخص تنوع ژنتیکی نی (h) به منظور کمی‌سازی تنوع ژنتیکی آشکار شده توسط آغازگرها استفاده شد (جدول ۷). میانگین I و شاخص تنوع ژنی نی در ژنوتیپ‌های مازودار به ترتیب برابر با ۰/۲۶ و ۰/۳۷ برآورد شد (جدول ۹). درصد نوارهای چندشکل (PPL%) با میانگین ۵۵/۸۹ درصد بسته به جمعیت متفاوت بود (از ۷۱/۸۵ درصد در آرمرده تا ۸۵/۹۲ درصد در کال). میانگین تعداد آلل

میان جمعیت‌ها در هر نسل برابر با ۱/۲۹۵ برآورد شد (جدول ۱۰). بر اساس تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)، تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای ($p < 0.01$) بین جمعیت‌های بلوط مورد بررسی برآورد شد (جدول ۱۱).

در میان ۱۰ جمعیت مورد بررسی، جمعیت‌های گمارلنگ و بلکه دارای بیش‌ترین و آرمرده و هوااره‌خول دارای کم‌ترین تنوع ژنتیکی بودند (جدول ۱۰). ضریب تمایز ژنتیکی (G_{ST}) میان جمعیت‌های مورد مطالعه برابر با ۰/۲۷۸ و میزان جریان ژنی (N_m)

جدول ۸- تجزیه به مولفه‌های اصلی بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی برگ

صفت	واحد	PC-1	PC-2	PC-3
طول پهنک	میلی‌متر	-۰/۳۵	۰/۰۶	-۰/۰۷
طول دم‌برگ	میلی‌متر	-۰/۱۵	-۰/۱۴	۰/۱۴
پهنای دندانته انتهایی	میلی‌متر	-۰/۰۵	۰/۴۵	۰/۴۰
طول دندانته انتهایی	میلی‌متر	-۰/۲۱	-۰/۱۵	-۰/۱۴
پهنای پهن‌ترین دندانته	میلی‌متر	-۰/۰۲	-۰/۳۲	-۰/۴۷
حداکثر عمق سینوس	میلی‌متر	-۰/۰۴	-۰/۳۷	-۰/۰۷
فاصله رگ‌برگ اصلی تا نوک بزرگ‌ترین دندانته	میلی‌متر	۰/۲	-۰/۰۵	-۰/۲۹
پهنای پهنک در پهن‌ترین نقطه آن	میلی‌متر	-۰/۲	۰/۲۴	-۰/۲۷
ارتفاع نقطه حداکثر پهنای برگ تا نوک	میلی‌متر	۰/۳	-۰/۰۶	۰/۳۱
تعداد دندانته در سمت راست برگ	عدد	-۰/۳۳	-۰/۰۲	-۰/۱
مقدار نیتروژن کل	درصد وزن خشک	-۰/۳۳	-۰/۱۷	-۰/۰۰
قندهای کل	میلی‌گرم بر گرم	۰/۳۳	-۰/۱۲	-۰/۱۴
پروتئین	میلی‌گرم بر گرم	۰/۲۷	۰/۳۴	-۰/۱۴
پتاسیم	میلی‌گرم بر گرم	-۰/۱۹	-۰/۰۰۵	۰/۱۶
کلسیم	میلی‌گرم بر گرم	-۰/۰۵	۰/۴۵	۰/۴۰
منیزیم	میلی‌گرم بر گرم	-۰/۱۵	-۰/۲۱	۰/۲۱
مقدار ویژه		۲/۵۲	۱/۶۰	۱/۵۸
% واریانس		۳۷/۴	۱۵/۰	۱۴/۸
% واریانس تجمعی		۳۷/۴	۵۲/۵	۶۷/۳

جدول ۹- تعداد کل نوار تکثیر شده (TB)، تعداد نوار چندشکل (PB)، درصد چندشکلی (PL)، دامنه اندازه نوارهای تکثیر شده (FSR)، شاخص اطلاعات

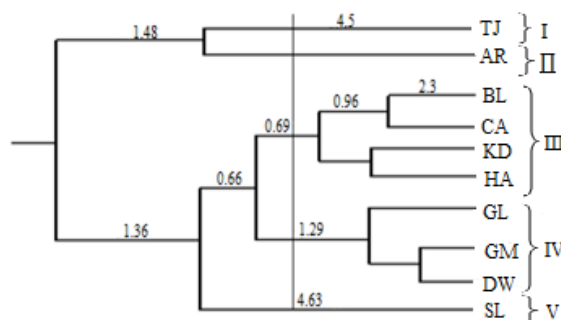
شانون (I)، شاخص تنوع ژنی نی (h) برآورد شده با استفاده از نشانگرهای SCoT در *Q. infectoria*

h	I	FSR (bp)	PL (%)	PB	TB	
۰/۲۱	۰/۱۷±۰/۰۱	۲۰۰-۲۶۰۰	۹۲/۸۵	۱۳	۱۴	SCoT5
۰/۴۵	۰/۳۱±۰/۰۲	۵۰۰-۲۸۰۰	۹۲/۸۵	۱۳	۱۴	SCoT6
۰/۳۹	۰/۲۵±۰/۰۱	۱۰۰-۱۸۰۰	۹۰/۹	۱۰	۱۱	SCoT9
۰/۳۸	۰/۲±۰/۰۱	۱۵۰-۲۴۰۰	۹۲/۳	۱۲	۱۳	SCoT12
۰/۳۷	۰/۳۲±۰/۰۱	۱۰۰-۲۳۰۰	۱۰۰	۱۳	۱۳	SCoT14
۰/۴۴	۰/۳۱±۰/۰۱	۱۵۰-۱۹۰۰	۹۱/۶۶	۱۱	۱۲	SCoT22
۰/۳۳	۰/۲۵±۰/۰۱	۲۵۰-۲۷۰۰	۹۲/۸۵	۱۳	۱۴	SCoT25
۰/۲۹	۰/۲۳±۰/۰۱	۲۵۰-۲۸۰۰	۱۰۰	۱۴	۱۴	SCoT27
۰/۳۷	۰/۲۶±۰/۰۱	۱۰۰-۲۲۰۰	۸۴/۶۱	۱۱	۱۳	SCoT30
۰/۴۵	۰/۲۹±۰/۰۱	۶۰۰-۲۴۵۰	۹۴/۱۱	۱۶	۱۷	SCoT35
-	-	-	-	۱۲۶	۱۳۵	جمع
۰/۳۷	۰/۲۶±۰/۰۰۷	-	۹۳/۳۳	۱۲/۶	۱۳/۵	میانگین

جدول ۱۰- شاخص‌های تنوع ژنتیکی برآورد شده بر اساس نشانگر SCoT در ۱۰ جمعیت *Q. infectoria*

جمعیت	PPL %	A_0	h	I	G_{ST}	$(H_{Sp} - H_{Po})/H_{Sp}$	N_m
CA	۸۵/۹۲	۱/۳۴±۰/۰۷	۰/۱۸±۰/۱۹	۰/۲۸±۰/۰۲			
GL	۷۹/۲۵	۱/۶۸±۰/۰۴	۰/۱۹±۰/۱۶	۰/۳±۰/۰۲			
DW	۷۶/۲۹	۱/۳۳±۰/۰۷	۰/۱۶±۰/۱۸	۰/۲۵±۰/۰۲			
GM	۸۰	۱/۴۳±۰/۰۶	۰/۱۷±۰/۱۸	۰/۲۶±۰/۰۲			
KD	۸۳/۷۰	۱/۶۱±۰/۰۱	۰/۱۸±۰/۱۷	۰/۲۸±۰/۰۲			
BL	۸۵/۱۸	۱/۴۰±۰/۰۷	۰/۱۹±۰/۱۸	۰/۳±۰/۰۲			
HA	۸۰	۱/۱۱±۰/۰۷	۰/۱۳±۰/۱۷	۰/۲±۰/۰۲			
AR	۷۱/۸۵	۱/۳۳±۰/۰۶	۰/۱۳±۰/۱۶	۰/۲۱±۰/۰۲			
TJ	۷۸/۵۱	۱/۵۸±۰/۰۵	۰/۱۸±۰/۱۷	۰/۲۹±۰/۰۲			
SL	۷۸/۵۲	۱/۱۳±۰/۰۷	۰/۱۴±۰/۱۹	۰/۱۴±۰/۰۲			
H_{Po}	۵۵/۸۹	۱/۳۹±۰/۰۲	۰/۱۷±۰/۰۰۵	۰/۲۶±۰/۰۰۷			
H_{Sp}	۹۳/۳۳	۱/۹۳±۰/۰۲	۰/۲۴±۰/۰۱	۰/۳۸±۰/۰۲	۰/۲۷۸	۳۱/۵۷	۱/۲۹۵

(PPL) درصد نوارهای چندشکل؛ (A_0) تعداد آلل مشاهده شده؛ (h) تنوع ژنی نی؛ (I) شاخص شانون؛ (G_{ST}) ضریب تمایز ژنتیکی؛ (N_m) جریان ژنی.



شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر الگوریتم UPGMA و فاصله ژنتیکی نی برای تعیین روابط ژنتیکی در جمعیت‌های *Q. infectoria*

خوشه چهارم جمعیت‌های گمارلنگ، قامیشه و دویسه قرار گرفتند. در خوشه پنجم جمعیت سالوک به تنهایی جای گرفت.

بحث

بر اساس ۱۶ خصوصیت ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی برگ، تنوع معنی‌داری بین ۱۰ جمعیت مورد مطالعه *Q. infectoria* وجود داشت (جدول ۴ و ۵). بنابراین، خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی برگ مانند طول پهنک، طول دم‌برگ، پهنای دندانه انتهایی، پتاسیم و منیزیم می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های ارزیابی تنوع در درون و بین جمعیت‌ها در گونه‌های مختلف چوبی مورد استفاده قرار گیرند. در این پژوهش، برای اولین بار از این خصوصیات برای بررسی تنوع در جمعیت‌های *Q. infectoria*

جدول ۱۱- تجزیه AMOVA بر اساس نشانگر SCoT در جمعیت‌های مازودار

منبع تغییرات	df	SS	MS	VC	%TV
بین جمعیت‌ها	۹	۷۴۰/۶۰۴	**۸۲/۲۸۹	۴/۵۶۳	۲۴
درون جمعیت‌ها	۱۴۰	۲۰۰۵/۷۷۶	۱۴/۳۲۷	۱۴/۳۲۷	۷۶
کل	۱۴۹	۲۷۴۶/۳۸۰	-	۱۸/۸۹۰	۱۰۰

(df) درجه آزادی؛ (SS) مجموع مربعات؛ (MS) میانگین مربعات؛ (VC) اجزاء واریانس؛ (%TV) درصد اجزاء واریانس

اما، میزان تنوع در درون جمعیت‌ها (۷۶ درصد) در مقایسه با تنوع در بین جمعیت‌ها (۲۴ درصد) بیشتر بود. بر اساس آزمون ماتیل همبستگی بین فواصل ژنتیکی و فواصل جغرافیایی در جمعیت‌های *Q. infectoria* معنی‌دار نبود ($r = -0.05$; $p > 0.05$). فاصله ژنتیکی نی از ۰/۰۴۳ (جمعیت‌های قامیشه و سالوک) تا ۰/۱۵۸ (جمعیت‌های دویسه و آرمرده) متفاوت بود (جدول ۱۲).

تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم UPGMA و فاصله ژنتیکی نی انجام شد و جمعیت‌های مورد مطالعه در پنج گروه دسته‌بندی شدند (شکل ۳). همبستگی کوفنتیک بین ماتریس تشابه نی و ماتریس کوفنتیک دندروگرام مبتنی بر روش UPGMA معنی‌دار بود ($r = 0.758$, $p < 0.01$) و به همین دلیل از این الگوریتم جهت دسته‌بندی جمعیت‌ها استفاده شد. در دسته‌های اول و دوم جمعیت‌های تازان و آرمرده به تنهایی قرار گرفتند. جمعیت‌های بلکه، کال، کنده‌سوره و هه‌واره‌خول با هم در خوشه سوم و در

به‌خوبی از هم تفکیک کرد. همبستگی بین خصوصیات ماتریس تشابه به دست آمده از نشانگرهای ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و مولکولی معنی‌دار اما ضعیف بود ($r = 0.111$; $p > 0.05$). در این مطالعه، گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌ها بر اساس صفات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی با دسته‌بندی بر حسب نشانگرهای SCoT مطابقت نداشت. بر اساس گزارش Lacis et al. (2009) و Kadkhodaei et al. (2011) همبستگی ضعیفی بین خصوصیات ریخت‌شناسی و مولکولی به ترتیب در جمعیت‌های گیلاس و بادام وجود داشت. گروه‌بندی بر اساس خصوصیات مختلف ریخت‌شناسی یا بیوشیمیایی ضرورتاً با دسته‌بندی بر حسب داده‌های ژنتیکی مطابقت ندارد (Williams et al. 1990; Kumar 1999). از طرف دیگر می‌توان چنین استدلال کرد که دلیل این عدم تطابق ناشی از کنترل صفات رویشی و بیوشیمیایی توسط بخش‌های محدودی از ژنوم است. (Semagn 2002) عدم تطابق بین گروه‌بندی بر مبنای خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی با نتایج حاصل از نشانگرهای مولکولی را ناشی از دو دلیل عمده می‌داند: الف) نشانگرهای مولکولی در مقایسه با نشانگرهای ریخت‌شناسی و یا بیوشیمیایی بخش‌های بزرگی از ژنوم شامل نواحی رمزشونده و غیررمزشونده را پوشش می‌دهند؛ ب) نشانگرهای مولکولی در مقایسه با نشانگرهای ریخت‌شناسی و یا بیوشیمیایی در معرض انتخاب غیرطبیعی قرار نمی‌گیرند. بنابراین، معنی‌دار بودن همبستگی بین داده‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی با داده‌های حاصل از نشانگرهای مبتنی بر DNA زمانی مورد انتظار است که خوشه‌بندی جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌ها بر اساس تعداد بسیار زیادی از خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی برگ انجام شود.

عوامل زیادی در افزایش تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی دخیلند در میان عوامل تکاملی در گونه‌های دارای عمر طولانی مانند بلوط، دورگه‌گیری، گونه‌زایی و رانش ژنتیکی (به دلیل کوچک شدن اندازه جمعیت گونه‌ها) توجه متخصصین سیستماتیک گیاهی را به خود جلب کرده است (Conte et al. 2004). به علاوه، استراتژی تولید مثلی گونه نیز نقش مهمی در ایجاد تنوع ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌های آن دارد (Maguire and Sedgley 1997; Ranker et al. 2004). گونه‌های بلوط عمدتاً

استفاده شده است. تجزیه خوشه‌ای بر مبنای خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی، جمعیت‌ها را در پنج گروه مجزا قرار داد. به‌منظور مطالعه تنوع در هشت جمعیت *Q. brantii* بر اساس مشخصه‌های ریخت‌شناسی برگ در جنگل‌های استان کهگیلویه و بویراحمد تجزیه خوشه‌ای انجام شد و جمعیت‌ها در چهار خوشه از هم متمایز شدند (Shiran et al. 2011). با مطالعه تنوع جمعیتی در ۱۳ پروونانس *Q. ruber* در مناطقی از اسپانیا، همبستگی معنی‌دار بین شیب و مشخصه‌های ریخت‌شناسی و ترکیبات شیمیایی بذر گزارش شد. بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی بذر این جمعیت‌ها در دو خوشه اصلی (پروونانس‌های شمالی در گروه اول و پروونانس‌های جنوبی در گروه دوم) متمایز شدند (Valero et al. 2011). چندشکلی بالایی (۹۵٪) با به کار بردن ۱۰ آغازگر مولکولی SCoT در جمعیت‌های *Q. infectoria* در دو سطح گونه و جمعیت آشکار شد. این وضعیت در گونه‌های *Quercus* احتمالاً به دلیل سیستم تلاقی آن‌ها، فاصله کم میان توده‌ها و ایتروگرسین میان گونه‌های یک توده معمول است (López-Aljorna et al. 2007). درصد نوارهای چندشکل (از ۷۱/۸۵ درصد در آرمده تا ۸۵/۹۲ درصد در کال)، تعداد آلل مشاهده شده (از ۱/۱۱ در هواره‌خول تا ۱/۶۸ در گمارلنگ)، تنوع ژنی نی (از ۰/۱۳ در هواره‌خول و آرمده تا ۰/۱۹ در گمارلنگ و بلکه) و شاخص اطلاعات شانون (از ۰/۱۴ در سالوک تا ۰/۳۰ در گمارلنگ و بلکه) در سطح جمعیت متفاوت بود (جدول ۱۰). نتایج مشابهی از تفاوت بین‌جمعیتی در پارامترهای تنوع ژنتیکی برآورد شده در *Gmelina* و *Q. suber* و Lopez-Aljorna et al. (2007) و Naik et al. (2009) مشاهده شده‌است. با بررسی تنوع ژنتیکی در درون و بین ۱۲ جمعیت گونه گرمسیری *Hagenia abyssinica* مقدار شاخص اطلاعات شانون (I) برابر با ۰/۳۰ تا ۰/۵۰ و تنوع ژنتیکی نی برابر با ۰/۲۱ تا ۰/۳۵ گزارش شد (Feyissa et al. 2007) با استفاده از ۶ آغازگر ISSR، به‌منظور مطالعه تنوع ژنتیکی در ۵۰ ژنوتیپ برگرفته از ۶ جمعیت *Q. suber* ۸۴ درصد چندشکلی گزارش شده است (López-Aljorna et al. 2007). به نظر می‌رسد که بر اساس تفاوت‌های ریخت‌شناسی و بیوشیمیایی نمی‌توان جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌های درون آن‌ها را در سطح ژنوم

اگرچه در مطالعات قبلی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی بالایی در گونه‌های مختلف بلوط گزارش شده است (Zolfaghari et al. 2011; Shiran et al., 2008)، اما، هیچ‌گونه اطلاعاتی در مورد تنوع در جمعیت‌های مختلف *Q. infectoria* در زاگرس شمالی وجود نداشت. با استفاده از ۱۰ نشانگر مولکولی SCoT، تنوع ژنتیکی بالایی در داخل و بین جمعیت‌های مورد مطالعه آشکار شد. تنوع میان پایه‌های داخل جمعیت‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت عمیق در ریزاقليم‌ها و همچنین شرایط اداپتیکی پایه‌های نمونه‌برداری شده (با فاصله حداقل ۱۰۰ متر از همدیگر) باشد. از طرف دیگر، جریان ژنی گسترده ناشی از جابجایی گسترده دانه‌گرد و پیمودن کیلومترها مسافت از یک توده به توده دیگر را می‌توان عامل قوی احتمالی پایین بودن تنوع بین جمعیت‌ها دانست. البته بالا بودن تنوع ژنتیکی درون‌جمعیت‌ها خود می‌تواند فرصتی مناسبی را برای شناسایی جمعیت‌های برخوردار از بیشترین تنوع ژنتیکی به منظور بهره‌برداری از آن‌ها در برنامه‌های مدیریت حفاظت ذخایر ژنتیکی گونه‌های بلوط فراهم آورد. اگرچه در این مطالعه، جمعیت و توده‌های بیشتری از اکوسیستم رویشگاهی مازودار تحت پوشش قرار نگرفته‌اند؛ اما، تنوع زیادی با استفاده از خصوصیات ریخت‌شناختی، بیوشیمیایی و مولکولی به ویژه در جمعیت‌های "گمارلنگ" و "بلکه" برآورد شد که می‌توان از این جمعیت‌ها، به عنوان مراکز حفاظت از ذخایر ژنتیکی این گونه در جنگل‌های زاگرس شمالی استفاده کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله سپاسگزار زحمات سرکار خانم مونا نصری به خاطر کمک در جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی هستند. منابع مالی این کار از محل اعتبارات تصویب شده برای پایان‌نامه لیلا علیخانی به شماره مصوب ۱۰۴۳۹۷۳ (دانشگاه کردستان) تأمین شد.

منابع

Baker W, Thompson T (1992) Determination of total nitrogen in plant samples by Kjeldahl. In: Plank CO (Ed). Plant analysis reference procedures for the southern region of the United States. Southern Cooperative Series Bulletin, Athens, 13-16.

خودناسازگار و در گرده‌افشانی باد دوست هستند (Chung et al. 2002). بنابراین، تنوع ژنتیکی بالای مشاهده شده می‌تواند ناشی از پیشینه تکاملی آن و دگرگشتی اجباری در این گونه باشد. به عبارت دیگر، دگرگشتی اجباری ناشی از خود ناسازگاری و پخش شدن دانه‌گرد در مسافت‌های طولانی از طریق باد جریان ژنتیکی و تنوع ژنتیکی را در سطح بالایی حفظ می‌کند. بنابراین، به خاطر نحوه سیستم تلاقی *Q. infectoria* از طرفی، تنوع ژنتیکی پایه‌های داخل جمعیت‌ها و بین جمعیت‌ها را حفظ و از طرف دیگر جریان ژنی را تقویت می‌کند. مقدار جریان ژنی برآورد شده در این مطالعه (۱/۲۹) بیانگر نرخ متوسطی از مهاجرت و جریان ژنی میان جمعیت‌هاست. اما، واگرایی ژنتیکی معنی‌داری بین جمعیت‌ها وجود دارد، اگرچه مقادیر تمایز ژنتیکی بسیار بالا نیستند (GST = ۰/۲۷۸، شاخص تنوع شانون = ۰/۲۶). سهم تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی انعکاسی از سیستم تلاقی آن‌هاست (Hamrick and Godt 1996). به طوری که گونه‌های دگرگشت معمولاً از تنوع ژنتیکی بالا و تمایز ژنتیکی بین جمعیتی پایینی برخوردارند (Rossetto et al. 1995) تنوع ژنتیکی با مسافت جابجایی دانه‌گرد نیز ارتباط معنی‌داری دارد (Frankel et al. 1995). بیش‌تر بودن تنوع ژنتیکی درون‌جمعیتی نسبت به تنوع بین‌جمعیتی مشاهده شده در این مطالعه توسط (Zhang et al. 2007) در *Quercus mongolica* و (González-Rodríguez et al. 2005) در *Quercus sp.* نیز گزارش شده‌است. جریان وسیع ژنی و گزینش‌های انسانی از جمله عواملی هستند که می‌توانند در این وضعیت نقش داشته باشند (Hamrick and Godt, 1996). در هر برنامه حفاظت از ذخایر ژنتیکی گونه‌های گیاهی، هدف اصلی باید بر حفظ بالاترین میزان تنوع ژنتیکی ممکن در گونه هدف در اکوسیستم‌های طبیعی رویش آن گونه و ذخایر ژرم پلاسمی آن متمرکز شود. به‌علاوه، نهال‌کاری و غنی‌سازی جمعیت‌های مختلف درختان جنگل، نیازمند گسترش تنوع ژنتیکی در ذخایر گیاهی برای انتخاب ژنوتیپ‌های سازگارتر از بین آن‌هاست.

Boyle TJ (2000) Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity. In: Young A, Boshier D, Boyle T (Eds.) Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. Commonwealth Scientific and Industrial

- Research Organization (CSIRO) Publishing, Victoria, Australia, 239-250.
- Bruschi P, Vendramin GG, Bussotti F, Grossoni P (2003) Morphological and molecular diversity among Italian populations of *Quercus petraea* (Fagaceae). *Annals of Botany* 91:707-16.
- Chung MY, Nason J, Chung MG, Kim K, Park C, Sun B, Pak J (2002) Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 89:1229-1236.
- Collard BCY, Mackill DJ (2009) Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 27:86-93.
- Conte L, Cotti C, Schicchi R, Raimondo F, Cristofolini G (2004) Detection of ephemeral genetic sub-structure in the narrow endemic *Abies nebrodensis* (Lojac.) Mattei (Pinaceae) using RAPD markers. *Plant Biosystems* 138:279-289.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of leaf tissue. *Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America* 19:11-15.
- Eriksson G, Namkoong G, Roberts JH (1993) Dynamic gene conservation for uncertain futures. *Forest Ecology and Management* 62:15-37.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131:479-491.
- FAO/DFSC/IPGRI (2002) Conservation and management of forest genetic resources. Volume 2: Forest genetic resources conservation and management: In: managed natural forests and protected areas (in situ). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Feyissa T, Nybom H, Bartish IV, Welander M (2007) Analysis of genetic diversity in the endangered tropical tree species *Hagenia abyssinica* using ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54:947-958.
- Frankel OH, Brown AHD, Burdon JJ (1995) The conservation of plant biodiversity. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ghazanfari H, Namiranian M, Sobhani H, Marvi Mohajer MR (2004) Traditional forest management and its application to encourage public participation for sustainable forest management in the northern Zagros mountain of Kurdistan province, Iran. *Scandinavian Journal of forest science* 19:65-71.
- González-Rodríguez A, Arias DM, Oyama K (2005) Genetic variation and differentiation of populations within the *Quercus affinis* – *Quercus laurina* (Fagaceae) complex analyzed with RAPD markers. *Canadian Journal of Botany* 83: 155-162.
- Hamrick JL, Godt MJW (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species: Philosophical Transactions. *Biological Sciences* 351:1291-1298.
- Hanlon EA (1992) Determination of potassium, calcium and magnesium in plants by Atomic Absorption Techniques. In: Plank CO (Ed): *Plant analysis reference procedures for the southern region of the United States*. Southern Cooperative Series Bulletin, Athens, 30-33.
- Himrane H, Camarero JJ, Gil-Pelegrín E (2004) Morphological and ecophysiological variation of the hybrid oak *Quercus subpyrenaica* (*Q. faginea* × *Q. pubescens*). *Trees* 18:566-575.
- Kadkhodaei S, Elahy M, Khayyam Nekouei M, Imani A, Shahnazari M, Mardi M, Javanmard A, Arbakariya B (2011) A panel of cultivate specific marker based on polymorphisms at microsatellite markers for Iranian cultivated Almonds (*Prunus dulcis*). *Australian Journal of Crop Science* 4:730-736.
- Kanowski P (2000) Politics, policies and the conservation of forest genetic diversity. In: Young A, Boshier D, Boyle T (Eds.) *Forest Conservation Genetics: Principles and Practice*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) Publishing, Victoria, Australia, 275-287.
- Kumar LS (1999) DNA markers in plant improvement: an overview. *Biotechnology Advances* 17:143-182.
- Lacis G, Rashal I, Ruisa S, Trajkovski V, Iezzoni AF (2009) Assessment of genetic diversity of Latvian and Swedish sweet cherry (*Prunus avium* L.) genetic resources collections by using SSR (microsatellite) markers. *Scientia Horticulturae* 121:451-457.
- Lopez-Aljorna A, Bueno MA, Aguinagalde I, Martin JP (2007) Fingerprinting and genetic variability in cork oak (*Quercus suber* L.) elite trees using ISSR and SSR markers. *Annals of Forest Science* 64:773-779.
- Maguire TL, Sedgley M (1997) Genetic diversity in *Banksia* and *Dryandra* (Proteaceae) with emphasis on *Banksia cuneata*, a rare and endangered species. *Heredity* 79:394-401.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27:209-220.
- Mashayekhi Sh, Shiran B, Jahanbazi H, Houshmand SA, Soltani A, Sorkheh K (2010) Study of genetic variation of *Quercus brantii* in Chaharmahal va Bakhtiary province using AFLP molecular markers. *Journal of Forest and Wood Products* 63:77-90. (In Farsi).
- Naik D, Singh D, Vartak V, Paranjpe S, Bhargava S (2009) Assessment of morphological and genetic diversity in *Gmelina arborea* Roxb. *New Forests* 38:99-115.
- Neale DB, Kremer A (2011) Forest tree genomics: growing resources and applications. *Nature Review Genetics* 12:111-122.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6:288-295. [http://www.anu.edu.au/BoZo/GenALEX/genalex_download .php](http://www.anu.edu.au/BoZo/GenALEX/genalex_download.php).
- Powell W, Morgante M, Andre C, Hanafey M, Vogel J, Tingey S, Rafalski A (1996) The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Molecular Breeding* 2:225-238.
- Ranker TA, Smith AR, Parris BS, Geiger JMO, Haufler CH, Strauband SK, Schneider H (2004) Phylogeny and evolution of grammitid ferns (Grammitidaceae): a case rampant morphological homoplasy. *Taxon* 53:415- 428.

Rossetto M, Weaver PK, Dixon KW (1995) Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). *Molecular Ecology* 4:321-329.

Sagheb-Talebi KH, Sajedi T, Yazdian F (2002) Forests of Iran, an overview. Forest and Rangelands Institute Publication 28-29. (In Farsi).

SAS Institute. SAS Procedures Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc; 2004. Version 9.1.

Semagn K (2002) Genetic relationships among ten encoded types as revealed by a combination of morphological, RAPD and AFLP markers. *Hereditas* 137:149-156.

Shiran B, Mashayekhi S, Jahanbazi H, Soltani A, Bruschi P (2011) Morphological and molecular diversity among populations of *Quercus brantii* Lindl. in western forest of Iran. *Plant Biosystems* 145:452-460.

Valero GJ, Jorrín-Novo J, Gómez C, Ariza D, García-Olmo J, Navarro-Cerrillo RM (2011) Population variability based on the morphometry and chemical composition of the acorn in Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota* [Desf.] Samp.). *European Journal of Forest Research* 131:893-904.

Ward J. (1963) Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association* 58:236-244.