

بررسی تنوع در جمعیت‌های بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) جنگل‌های زاگرس شمالی براساس نشانگرهای ریخت‌شناختی و مولکولی ISSR و IRAP

نقی شعبانیان^{۱*}، لیلا علیخانی^۲، هدیه بدخشان^۳ و محمدشفیع رحمانی^۴

^۱ دانشیار گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کردستان

^۲ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کردستان

^۳ استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان

^۴ کارشناس آزمایشگاه بیولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۵)

چکیده

در این تحقیق، تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی ۱۲۵ ژنوتیپ از نه جمعیت برودار (*Quercus brantii*) در جنگل‌های زاگرس شمالی با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناختی برگ، توالی‌های تکراری ساده میانی (ISSR) و چندشکلی تکثیرشده بین رتروترانسپوزون‌ها (IRAP) بررسی شده است. براساس تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر داده‌های ریختاری، جمعیت‌های مورد بررسی به‌طور معنی‌داری از هم متمایز شدند و در شش خوشه اصلی قرار گرفتند. از مجموع ۱۸ آغازگر ISSR ۲۳۳ نوار ایجاد شد که ۲۲۴ نوار (۹۶ درصد) چندشکل بودند. تعداد کل نوارهای تکثیرشده با آغازگر IRAP برابر با ۱۲۹ نوار بود که ۱۲۶ نوار (۹۷ درصد) چندشکل بودند. در سطح گونه، تنوع ژنتیکی زیادی [ISSR: $h=0.24$ ، درصد لوکوس‌های چندشکل (PPL) = $98/71$ درصد؛ IRAP: $h=0.21$ ، PPL = $99/22$ درصد] توسط دو نشانگر ISSR و IRAP برآورد شد. مقدار ضریب تمایز ژنتیکی بین جمعیتی (Φ_{ST}) برآوردشده از هر دو نشانگر ISSR و IRAP به ترتیب ۰/۲۳ و ۰/۱۶ بود که بیانگر تقسیم بخش عمده تنوع ژنتیکی کل، به تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها بوده است و این موضوع، توسط تجزیه واریانس مولکولی نیز تایید شد. به نظر می‌رسد پایین بودن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها و در مقابل بالا بودن تمایز ژنتیکی بین پایه‌های داخل جمعیت‌ها به دلیل جریان ژنی گسترده ناشی از گرده‌افشانی به کمک باد در بلوط‌ها باشد. تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر هر دو نشانگر مولکولی، نه جمعیت *Q. brantii* این تحقیق را در خوشه‌های مشخص دندروگرام UPGMA گروه‌بندی کرد. براساس آزمون مانتل، همبستگی بین فواصل ژنتیکی جمعیت‌ها و فواصل جغرافیایی آنها معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: بلوط، تنوع ژنتیکی، توالی‌های تکراری ساده میانی (ISSR)، جریان ژنی، نشانگر مولکولی.

مقدمه و هدف

جنس *Quercus L.* با داشتن ۳۵۰ تا ۵۰۰ گونه یکی از فراوان‌ترین و به‌لحاظ اجتماعی، اقتصادی و اکولوژیکی، یکی از مهم‌ترین جنس‌های گیاهی در نیمکره شمالی است (Fortini et al., 2009; Lopez-Aljorna et al., 2007). این جنس در طول دوره حیات طولانی خود (به‌طور معمول ۲۰۰ سال یا بیشتر) با شرایط ناهمگون محیط سازگار می‌شود. بنابراین، تنوع ژنتیکی برای زنده ماندن آن در محیط‌های متفاوت زمانی و مکانی بسیار اهمیت دارد (Muller-Starck and Ziehe., 1991).

زاگرس به‌دلیل داشتن ویژگی‌هایی از جمله پوشش نه‌چندان متراکم جنگل‌های بلوط و بنه و وجود رودهایی همچون کارون، زاینده‌رود و سیمره، دارای اهمیت زیادی است (نمیرانیان و همکاران، ۱۳۸۶). تخریب زیستگاه، بهره‌برداری‌های بی‌رویه توسط ساکنان جنگل، استفاده غیرقانونی از زمین جنگل برای فعالیت‌های کشاورزی در دهه‌های اخیر (Ghazanfari et al., 2004) و نبود مدیریت جامع منابع ژنتیکی بلوط‌ها در جنگل‌های زاگرس آثار نامطلوبی بر حیات و پویایی این جنگل‌ها به‌جای گذاشته است. بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) یکی از مهم‌ترین گونه‌های جنگل‌های زاگرس است که اهمیت اکولوژیکی، جنگل‌شناسی و اجتماعی-اقتصادی آن به‌ویژه برای زاگرس‌نشینان انکارشده نیست. گستردگی تغییرپذیری و تنوع ژنتیکی این گونه سبب شده است که در شرایط اقلیمی و اقلیمی بسیار متنوعی رشد کند و به شرایط اکولوژیکی مختلفی سازگار شود، به‌طوری‌که دامنه طبیعی اکولوژیکی آن از جنوب استان آذربایجان غربی تا استان فارس گسترش یافته است. در شرایطی که در یک اکوسیستم طبیعی یک گونه نادر بتواند به‌طور گسترده با گونه غالب آن اکوسیستم تلاقی داشته باشد، دوره‌گیری با، یا بدون اینتروگرسیون از طریق ایجاد مرداب ژنتیکی جمعیت‌های یک گونه، اغلب موجب کاهش تنوع

ژنتیکی می‌شود (Rhymer and Simberloff, 1996; Allendorf et al., 2001). به‌همین دلیل، به‌واسطه دوره‌گیری‌های بین‌گونه‌ای گسترده با گونه‌های *Q. libani* و *Q. infectoria* یکپارچگی و انسجام ژنتیکی برخی از جمعیت‌های این گونه در زاگرس دچار تهدید و اختلال شده است. برای مثال، در برخی مناطق زاگرس شمالی، به‌دلیل چنین دوره‌گیری‌هایی، از لحاظ ریخت‌شناختی اغلب پایه‌هایی حدواسط بین *Q. libani* و *Q. brantii* مشاهده می‌شود.

مدیریت پایدار ذخایر ژنتیکی این جنگل‌ها، نیازمند آگاهی از میزان و پراکنش تنوع ژنتیکی و شناسایی مراکز این تنوع به‌منظور حفاظت از آنها به-عنوان ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی است (ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۸۷). آشکارسازی الگوهای مکانی تنوع ژنتیکی درون و میان جمعیت‌های یک گونه، جنبه مهمی از بررسی ژنتیکی درختان جنگلی است (White et al., 2007). تحقیق و بررسی تنوع ژنتیکی در 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 در مورد پایه‌ریزی برنامه‌های اصلاح ساختار جنگل و حفاظت از ذخایر ژنتیکی آن به‌دست می‌دهد (White et al., 2007; Grivet et al., 2008). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تنوع ژنتیکی در بلوط‌ها به‌دلیل سیستم تلاقی آنها (باد-دگرگرده‌افشان)، بیشتر از آنکه در بین جمعیت‌های آنها نهفته باشد، مربوط به تنوع بین پایه‌های درون جمعیت‌هاست (Coart et al., 2003; Kelleher et al., 2005; Lopez-Aljorna et al., 2007; Birchenko, 2008). فراوانی جریان ژنی بین جمعیت‌های یک گونه به گستره رویشگاهی آن گونه، اندازه و حد جدایی جمعیت‌ها، فراوانی و مسافت جابه‌جایی دانه‌گرده و بذر بین این جمعیت‌ها بستگی دارد (White et al., 2007; Grivet et al., 2008).

تجزیه خوشه‌های داده‌های مورفومتریک بذر، پرووانس‌های شمالی این تحقیق را به‌عنوان هم‌گروه در خوشه اصلی یک و پرووانس‌های جنوبی را در خوشه دو در کنار هم قرار داده است (Valero et al., 2012).

همانند سایر گونه‌های بلوط جنگل‌های زاگرس، هنوز اطلاعات ما درباره ژنتیک حفاظتی و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی این جنگل‌ها ناقص است که خود پایه‌ریزی برنامه‌های حفاظتی این گونه را به‌طور نامطلوبی تحت تأثیر قرار می‌دهد. به این دلیل، در این تحقیق، تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مختلف بلوط ایرانی (*Q. brantii*) در مناطقی از شهرستان‌های مریوان و بانه با استفاده از نشانگرهای ریخت‌شناختی برگ و دو نشانگر مولکولی ISSR و IRAP ارزیابی شد. نتایج این تحقیق می‌تواند برای برنامه‌های حفاظتی این گونه در آینده و گزینش ژنوتیپ‌های مطلوب برای نهالکاری در برنامه‌های احیای جنگل، یا برای ذخیره در بانک‌های ژنی سودمند باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

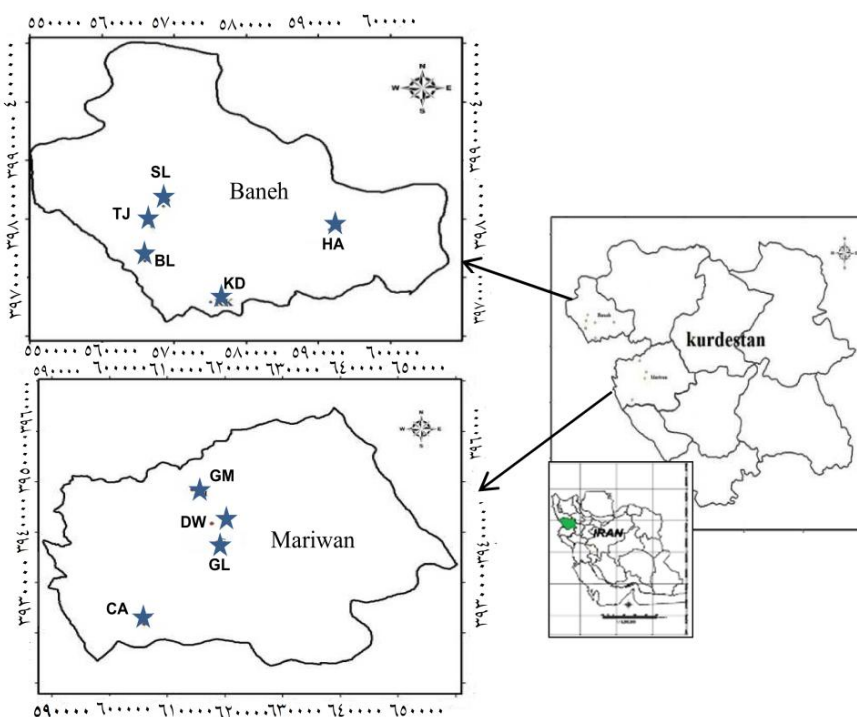
برای انجام این تحقیق در مجموع از ۱۲۵ پایه انتخاب‌شده از نه جمعیت بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) توده‌های مختلف بلوط شهرستان‌های مریوان و بانه در اردیبهشت ۱۳۹۱ نمونه‌برگی جمع‌آوری شد. از این جمعیت‌ها، چهار جمعیت در محدوده جغرافیایی شهرستان مریوان و پنج جمعیت در محدوده جغرافیایی شهرستان بانه واقع بودند (شکل ۱ و جدول ۱). در هر جمعیت دست‌کم ۱۰ پایه با فواصل حداقل ۱۰۰ متر از همدیگر (به‌منظور جلوگیری از تکرار نمونه‌گیری از ژنوتیپ‌های همسان) به‌صورت جنگل‌گردشی انتخاب شد و از آنها نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌های برگی جمع‌آوری‌شده تا زمان استخراج DNA در دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه نگهداری شدند.

در بررسی تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف بلوط، از نشانگرهای ریخت‌شناختی (Bacilieri et al., 1996; Bruschi et al., 2003; Shiran et al., 2011; Valero et al., 2012)، و مولکولی مبتنی بر DNA همچون توالی‌های تکراری ساده (SSR) (Lopez-Aljorna et al., 2007)، توالی‌های تکراری ساده میانی (ISSR) (Lopez-Aljorna et al., 2007)، چندشکلی طولی قطعات تکثیر یافته (AFLP) (Andrade et al., 2007; Shiran et al., 2011) و چندشکلی DNA تکثیر یافته تصادفی (RAPD) (Lee et al., 1997; Yakovlev and Kleinschmid, 2002) استفاده شده است. به تازگی با هدف حفاظت و مدیریت بهتر جنگل‌های بلوط استان کهگیلویه و بویراحمد، تنوع ژنتیکی جوامع مختلف ارتفاعی *Q. brantii* با استفاده از نشانگرهای SSR بررسی شده است، براساس نتایج این تحقیق، جوامع طبقات ارتفاعی میانی نسبت به جوامع طبقات ارتفاعی بالاتر و پایین‌تر از خود، تنوع ژنتیکی بیشتری دارند. افزون‌براین، فاصله ژنتیکی در جامعه درختان ارتفاعات پایین‌بند نسبت به جمعیت‌های دیگر طبقات ارتفاعی بیشتر بوده است (ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۸۷). با بهره‌گیری از نشانگرهای AFLP، ریزماهواره‌های کلروپلاستی (cpSSR) و ریخت‌شناختی برگ، تنوع ژنتیکی ۴۵ پایه برگرفته از هشت جمعیت طبیعی *Q. brantii* بررسی شد (Shiran et al., 2011). جمعیت‌های بررسی‌شده، براساس مشخصات ریخت‌شناسی برگ و نشانگرهای AFLP و cpSSR به‌طور معنی‌داری متمایز شدند. علاوه‌براین، بخش عمده تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده در درون جمعیت‌ها نهفته بود (Shiran et al., 2011). در بررسی تنوع ژنتیکی پرووانس‌های مختلف بلوط *Q. serrate* در اسپانیا با بهره‌گیری از مشخصه‌های مورفومتریک بذر، مشخص شد که پرووانس‌های شمالی منطقه بررسی شده در مقایسه با پرووانس‌های جنوبی آن به‌طور معنی‌داری بذرهای سنگین‌تر، طویل‌تر و قطورتری دارند.

تجزیه و تحلیل ریخت‌شناختی

برای این منظور ۱۲ مشخصه ریختاری برگ براساس روش (Bruschi *et al.*, 2003) به صورت چشمی و به کمک ابزار کولیس اندازه‌گیری (جدول ۲) و در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با سه تکرار تجزیه شد.

موقعیت مکانی پایه‌های بررسی شده با استفاده از سیستم موقعیت‌یاب جهانی ثبت شد. در مهر ماه همان سال، به منظور بررسی‌های ریخت‌شناسی پس از توقف کامل رشد برگ، به صورت تصادفی دست کم ۲۰ برگ از هر پایه انتخاب و برای اندازه‌گیری شاخص‌ها به آزمایشگاه منتقل شد.



شکل ۱- موقعیت نه جمعیت طبیعی *Q. brantii* در جنگل‌های زاگرس شمالی

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری، برخی مشخصات اقلیمی و اداپتیکی آنها و تعداد پایه‌های نمونه‌برداری شده از هر جمعیت

جمعیت	کد	ارتفاع (متر)	طول جغرافیایی (E)	عرض جغرافیایی (N)	شیب (درصد)	کربن آلی خاک (درصد)	تعداد پایه
کال	CA	۱۳۵۰-۱۴۷۰	۴۶° ۱۰' ۴۳"	۳۵° ۲۵' ۲۷"	۲۰-۳۰	۴/۳	۱۶
گمارلنگ	GL	۱۳۸۰-۱۶۰۰	۴۶° ۱۷' ۴۹"	۳۵° ۳۴' ۳۱"	۴۰-۵۰	۲/۷	۱۶
دویسه	DW	۱۴۰۰-۱۶۰۰	۴۶° ۱۸' ۳۳"	۳۵° ۳۶' ۳۱"	۴۰-۵۰	۲/۵	۱۰
قامیشله	GM	۱۵۰۰-۱۷۰۰	۴۶° ۱۵' ۴۵"	۳۵° ۴۰' ۲۸"	۶۰-۶۵	۳/۵	۱۹
کنده‌سوره	KD	۱۳۶۰-۱۴۸۰	۴۵° ۴۸' ۴۶"	۳۵° ۵۰' ۳۲"	۵۰-۶۰	۲/۴	۱۰
بلکه	BL	۱۳۷۰-۱۵۰۰	۴۵° ۶۴' ۴۹"	۳۵° ۵۱' ۳۴"	۴۰-۵۰	۳/۶	۱۲
هه‌واره‌خول	HA	۱۶۰۰-۱۸۵۰	۴۶° ۰۰' ۴۹"	۳۵° ۵۶' ۳۴"	۴۰-۵۰	۳/۳	۱۲
تازان	TJ	۱۴۱۰-۱۵۱۰	۴۵° ۴۶' ۴۸"	۳۵° ۵۶' ۳۶"	۳۵-۴۵	۰/۵	۱۷
سالوک	SL	۱۳۵۰-۱۴۸۰	۴۵° ۴۸' ۴۹"	۳۵° ۵۸' ۳۵"	۶۰-۷۰	۲/۲	۱۳
کل							۱۲۵

جدول ۲- مشخصه‌های ریخت‌شناختی اندازه‌گیری شده در برگ پایه‌های نمونه در جمعیت‌های *Q. brantii* بررسی شده و واحد اندازه‌گیری آنها

طول پهنک (سانتی‌متر؛ فاصله بین نوک برگ و محل اتصال پهنک- دمبرگ)	BL
طول دمبرگ (سانتی‌متر؛ فاصله بین محل اتصال پهنک- دمبرگ و محل اتصال دمبرگ-شاخه فرعی)	PL
پهنای دندانۀ انتهایی (سانتی‌متر)	LW
طول دندانۀ انتهایی (سانتی‌متر)	AL
پهنای پهن‌ترین دندانۀ (سانتی‌متر)	WW
حداکثر عمق سینوس (سانتی‌متر؛ فاصله بین کف بیشترین فرورفتگی بین دو دندانۀ تا نوک دندانۀ سمت راست مجاور)	SD
فاصله رگبرگ اصلی تا نوک بزرگ‌ترین دندانۀ (سانتی‌متر؛ فاصله افقی بین نوک برگ و پهن‌ترین نقطه در پهنک برگ)	MD
پهنای پهنک در پهن‌ترین نقطه آن (سانتی‌متر)	BW
ارتفاع نقطه حداکثر پهنای برگ تا نوک (سانتی‌متر؛ فاصله بین نوک برگ و پهن‌ترین نقطه در پهنک برگ)	BH
تعداد دندانۀ در سمت راست برگ	LR
تعداد دندانۀ در سمت چپ برگ	LN
نسبت طول کلی برگ (پهنک + دمبرگ) به طول دمبرگ $\times 100$	LL/PL*100

استخراج DNA و نشانگرهای استفاده شده

استخراج DNA با استفاده از ۰/۰۱ گرم بافت برگ و بر پایه پروتکل (Doyle and Doyle 1987) با کمی تغییر انجام گرفت. کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA استخراج شده با استفاده جذب بر روی طول موج ۲۶۰ نانومتر (Eppendorf, BioPhotometer) کنترل شده، و نمونه‌های DNA تا زمان اجرای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت نهایی هر یک از نمونه‌های DNA با استفاده از بافر TE بر روی غلظت ۲۰ نانوگرم/میکرولیتر برای تکثیر PCR رقیق شد. به منظور بررسی تنوع ژنتیکی، از دو نشانگر مولکولی ISSR و IRAP استفاده شد. از ۳۱ آغازگر ISSR بررسی شده، ۱۸ آغازگر و ۱۰ آغازگر IRAP که دارای الگوی نواری قابل نمره‌دهی بودند، برای تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی به کار گرفته شدند (جدول ۵). واکنش PCR در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر واکنش (۱/۸ میلی مولار Mg^{2+} ، ۱۵۰ میکرومولار dNTP، و ۱ واحد تگ پلیمرز)، ۲ میکرولیتر آغازگر، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی (۴۰-۲۰ نانوگرم) و ۱ میکرولیتر آب دیونیزه در دستگاه

ترمال سایکلر (C-1000, BioRad) انجام گرفت. محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد تفکیک و نوارهای تکثیر شده با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید ۰/۱ درصد رنگ آمیزی شدند. آشکارسازی نوارهای حاصل و نمره‌دهی نوارها با استفاده از سیستم ژل داکيومنت (Gel Doc™ XR, BioRad) انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تجزیه صفات ریختاری، مقایسه میانگین براساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار فیشر (FLSD) با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 (SAS Institute Inc. Cary, NC.) انجام گرفت. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش وارد (Ward, 1963) و براساس فاصله اقلیدسی و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA)^۱ با استفاده از نرم افزار R Core R (Package Rsaft; R Team, 2013) اجرا شد. نوارهای حاصل از آغازگرهای ISSR و IRAP به صورت وجود (۱) یا عدم وجود (صفر) نمره‌دهی شدند و با استفاده از برنامه‌های (Peakall and Smouse, GenAIEx 6.1, 2006) و POPGENE و XLSTAT[®] با فرض وجود

^۱Principal Component Analysis (PCA)

مؤلفه اول ۴۶/۳ درصد از تنوع کل را نشان داد که ضرایب صفات ارتفاع نقطه حداکثر پهنای برگ تا نوک، طول پهنک و تعداد دندان‌ها در سمت راست و چپ برگ در این مؤلفه بزرگ‌تر بودند. مؤلفه دوم بیانگر ۲۴/۶ درصد تنوع موجود در جمعیت بود و برای این مؤلفه، صفات طول دم‌برگ، پهنای پهن‌ترین دندان‌ها و فاصله رگ‌برگ اصلی تا نوک بزرگ‌ترین دندان‌ها، مقدار بیشتری داشتند. مؤلفه سوم ۱۵/۵ درصد تغییرات را تبیین کرد که ضرایب پهنای دندان‌ها انتهای و طول دندان‌ها انتهای در آن بزرگ‌تر بودند (جدول ۴). بنابر تجزیه خوشه‌ای داده‌های ریخت‌شناختی براساس الگوریتم وارد و فاصله اقلیدسی، جمعیت‌های بررسی شده در شش گروه دسته‌بندی شدند (شکل ۲). در گروه اول، جمعیت‌های کال و قامیشه (مریوان) قرار گرفتند. جمعیت‌های هه‌واره‌خول، بلکه و سالوک (بان‌ه) به عنوان هم‌گروه در گروه دوم تمایز یافتند و جمعیت‌های کنده‌سوره، تاژان (بان‌ه)، دویسه و گمارلنگ (مریوان) هر یک به تنهایی به ترتیب در خوشه‌های سوم تا ششم از هم متمایز شد (شکل ۱).

نتایج حاصل از داده‌های ژنتیکی

از مجموع به ترتیب ۳۱ و ۱۰ آغازگر ISSR و IRAP بررسی شده در این پژوهش، ۱۸ آغازگر ISSR و ۱۰ آغازگر IRAP با الگوی نواری قابل نمره‌دهی و تکرارپذیر برای برآورد تنوع ژنتیکی به کار رفتند. با استفاده از نشانگرهای یادشده، تنوع ژنتیکی بین ۱۲۵ پایه انتخاب شده از ۹ جمعیت *Q.brantii* بررسی شد. در میان ۱۸ آغازگر ISSR مورد تحقیق، ۱۲ آغازگر و از ۱۰ آغازگر IRAP، ۷ آغازگر چندشکل بودند.

اندازه نوارهای تکثیرشده آغازگرهای ISSR و IRAP از ۱۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت‌باز متفاوت بود. تعداد نوار تکثیرشده آغازگرهای ISSR از ۱۰ (UBC 821) تا ۲۰ (UBC 807) با میانگین ۱۲/۹ نوار و آغازگرهای IRAP از ۱۱ (5'LTR2) تا ۱۹ (Gaga) با میانگین ۱۲/۹ نوار متفاوت بود. مجموع تعداد نوارهای

تبادل هاردی - وینبرگ در جمعیت بررسی شده، مشخصه‌های ژنتیکی برآورد شد. تعداد کل نوارهای تکثیرشده (TAB)، تعداد نوارهای چندشکل (PB) و درصد نوارهای چندشکل (PP) در دو سطح گونه و جمعیت محاسبه شد. همچنین درصد مکان‌های ژنی چندشکل (PPL%)، تعداد آلل‌های مشاهده شده در هر لوکوس (A_0)، شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1978) ($h = 1 - \sum p_i^2$) که در آن p_i فراوانی یک قطعه خاص از IRAP و ISSR است، و شاخص اطلاعات شانون (I) در هر دو سطح جمعیت و گونه محاسبه شد. ساختار ژنتیکی جوامع بررسی شده با برآورد بزرگی نسبی تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها ($\Phi_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$) و میزان جریان ژنی با استفاده از تابع ($N_m = (1 - \Phi_{ST}) / 4\Phi_{ST}$) (Nei, 1978) بررسی شد. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) به منظور تفکیک واریانس ژنتیکی کل به واریانس ژنتیکی درون جمعیتی و واریانس ژنتیکی بین جمعیتی با استفاده از نرم‌افزار GenAlEx انجام گرفت (Excoffier et al., 1992). درخت فیلوژنتیکی براساس روش UPGMA و فاصله ژنتیکی نی (Nei, 1978) ترسیم شد. همچنین، وجود همبستگی بین فواصل ژنتیکی با فواصل جغرافیایی با استفاده از آزمون مانتل بررسی شد (Mantel, 1967).

نتایج

تجزیه داده‌های ریختاری

بر پایه نتایج آزمون FLSD، جمعیت‌های تاژان و هه‌واره‌خول بیشترین طول پهنک و جمعیت‌های دویسه و گمارلنگ کمترین حد این صفت را نشان دادند. همچنین، بیشترین طول دم‌برگ در جمعیت بلکه و کمترین آن در جمعیت کال مشاهده شد (جدول ۳). برای تفکیک جمعیت‌ها براساس مشخصه‌های ریختاری از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد. براساس این تجزیه، سه مؤلفه اول ۸۶/۴ درصد کل تنوع موجود در جمعیت را تبیین کردند.

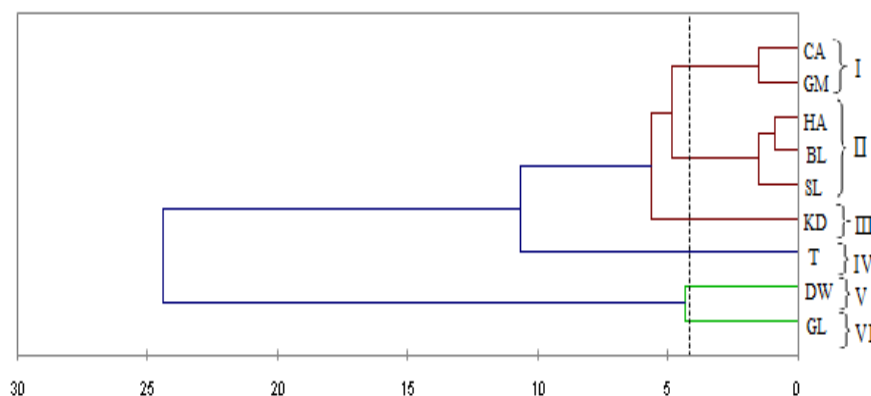
تکثیر یافته از آغازگرهای ISSR برابر با ۲۳۳ و در آغازگر UBC853 با ۰/۴۳ و کمترین مقدار آن در آغازگر UBC841 با ۰/۱۹ ثبت شد (جدول ۵).

جدول ۳- خصوصیات ریخت‌شناختی اندازه‌گیری شده در برگ جمعیت‌های *Quercus brantii* (داده‌ها نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار است)

جمعیت	BL	PL	LW	AL	WW	SD
CA	۸/۸۵ \pm ۰/۵ ^{ab}	۱/۶۶ \pm ۰/۰۸ ^a	۰/۳۴ \pm ۰/۱۷ ^{bc}	۰/۲۹ \pm ۰/۱۲ ^{bc}	۱/۰۰ \pm ۰/۰۸ ^a	۰/۲۶ \pm ۰/۰۳ ^b
GL	۷/۷۳ \pm ۱/۵۹ ^{ab}	۰/۹۳ \pm ۰/۳۶ ^b	۰/۴۵ \pm ۰/۱۶ ^b	۰/۳۴ \pm ۰/۰۹ ^b	۱/۱۵ \pm ۰/۱۶ ^a	۰/۳۳ \pm ۰/۲۳ ^b
DW	۷/۳۰ \pm ۰/۷۱ ^b	۱/۲۰ \pm ۰/۳۵ ^{ab}	۰/۴۱ \pm ۰/۱۰ ^b	۰/۳۱ \pm ۰/۰۴ ^{bc}	۰/۸۶ \pm ۰/۲۴ ^{ab}	۰/۲۷ \pm ۰/۰۴ ^b
GM	۷/۹۰ \pm ۱/۲۵ ^{ab}	۱/۴۰ \pm ۰/۴۰ ^{ab}	۰/۳۰ \pm ۰/۰۴ ^c	۰/۲۲ \pm ۰/۰۲ ^c	۰/۹۳ \pm ۰/۲۹ ^{ab}	۰/۳۰ \pm ۰/۰۷ ^b
KD	۸/۶۶ \pm ۱/۲۰ ^{ab}	۱/۵۳ \pm ۰/۳۷ ^a	۰/۴۰ \pm ۰/۲۲ ^b	۰/۴۳ \pm ۰/۰۳ ^b	۰/۹۰ \pm ۰/۰۸ ^{ab}	۰/۵۶ \pm ۰/۲۹ ^a
BL	۹/۲۰ \pm ۰/۶۰ ^{ab}	۱/۶۵ \pm ۰/۵۴ ^a	۰/۳۶ \pm ۰/۱۷ ^{bc}	۰/۳۶ \pm ۰/۱۵ ^b	۱/۱۱ \pm ۰/۳۲ ^a	۰/۴۵ \pm ۰/۰۳ ^{ab}
HA	۱۰/۰۰ \pm ۰/۸۹ ^a	۱/۴۱ \pm ۰/۱۱ ^{ab}	۰/۳۸ \pm ۰/۰۹ ^{bc}	۰/۳۲ \pm ۰/۰۴ ^{bc}	۱/۲۱ \pm ۰/۰۹ ^a	۰/۲۸ \pm ۰/۰۴ ^b
TJ	۱۰/۴۳ \pm ۰/۷۳ ^a	۱/۱۵ \pm ۰/۱۶ ^b	۰/۲۴ \pm ۰/۰۹ ^c	۰/۱۹ \pm ۰/۰۴ ^c	۱/۱۵ \pm ۰/۲۰ ^a	۰/۵۲ \pm ۰/۲۷ ^a
SL	۹/۶۰ \pm ۰/۰۷ ^a	۱/۲۸ \pm ۰/۲۶ ^b	۰/۷۰ \pm ۰/۳۴ ^a	۰/۶۹ \pm ۰/۳۵ ^a	۱/۱۰ \pm ۰/۰۸ ^a	۰/۲۹ \pm ۰/۰۵ ^b
جمعیت	MD	BW	BH	LR	LN	LL/PL*100
CA	۱/۷۵ \pm ۰/۳۰ ^b	۳/۸۰ \pm ۰/۲۵ ^c	۵/۵۰ \pm ۰/۹۹ ^b	۱۰/۷۷ \pm ۰/۸۰ ^b	۱۰/۷۰ \pm ۰/۶۲ ^b	۶۲۷/۷۸ \pm ۱۹/۶۸ ^{cd}
GL	۱/۶۰ \pm ۰/۶۸ ^b	۳/۱۰ \pm ۱/۹۵ ^c	۴/۶۰ \pm ۱/۲۳ ^c	۸/۷۰ \pm ۳/۰۳ ^c	۸/۷۰ \pm ۳/۰۴ ^c	۱۱۶۴/۳۷ \pm ۳۵۹/۴ ^a
DW	۱/۷۰ \pm ۰/۲۶ ^b	۳/۶۰ \pm ۰/۴۲ ^c	۵/۰۰ \pm ۰/۴۴ ^b	۱۰/۳۳ \pm ۲/۱۸ ^c	۱۰/۴۴ \pm ۲/۳۸ ^b	۷۵۳/۴۳ \pm ۳۰۷/۷ ^c
GM	۱/۸۵ \pm ۰/۱۳ ^b	۳/۶۰ \pm ۰/۳۱ ^c	۵/۷۰ \pm ۰/۶۸ ^b	۱۱/۰۹ \pm ۱/۵ ^{ab}	۱۰/۹۴ \pm ۱/۵۴ ^b	۶۸۲/۸ \pm ۱۵۰/۵ ^{cd}
KD	۱/۷۶ \pm ۰/۲۶ ^b	۳/۶۳ \pm ۰/۲۶ ^c	۵/۶۰ \pm ۱/۲۲ ^b	۱۱/۶۲ \pm ۰/۶۷ ^{ab}	۱۱/۸۸ \pm ۰/۸۲ ^{ab}	۷۰۸/۲۳ \pm ۳۲۳/۱ ^c
BL	۱/۸۶ \pm ۰/۲۷ ^b	۴/۰۸ \pm ۰/۷۷ ^b	۶/۳۵ \pm ۱/۰۲ ^a	۱۱/۲۲ \pm ۱/۲۷ ^{ab}	۱۱/۳۵ \pm ۱/۱۲ ^{ab}	۷۰۷/۰۸ \pm ۱۹۱/۶ ^c
HA	۲/۰۰ \pm ۰/۲۴ ^{ab}	۴/۰۵ \pm ۰/۵۰ ^b	۶/۶۸ \pm ۰/۴۰ ^a	۱۱/۲۲ \pm ۱/۴۰ ^{ab}	۱۱/۰۰ \pm ۱/۷۵ ^{ab}	۸۴۷/۷ \pm ۱۰۰/۲ ^{bc}
TJ	۲/۴۱ \pm ۰/۷۰ ^a	۵/۴۶ \pm ۱/۹۳ ^a	۶/۷۳ \pm ۰/۵۰ ^a	۱۲/۷۴ \pm ۱/۶۰ ^a	۱۲/۵۹ \pm ۱/۳۶ ^a	۱۰۵۰/۵ \pm ۱۳۴/۳ ^a
SL	۲/۴۶ \pm ۰/۲۲ ^a	۵/۱۵ \pm ۰/۳۵ ^a	۶/۷۳ \pm ۰/۳۱ ^a	۱۰/۹۸ \pm ۱/۱۲ ^{ab}	۱۰/۵۵ \pm ۱/۰۴ ^b	۹۲۷/۳ \pm ۷۷/۶ ^b

جدول ۴- بردارهای ویژه برای دوازده مشخصه ریخت‌شناسی برگ

مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳
۰/۳۵	-۰/۲۶	-۰/۰۷
طول پهنک		
۰/۲۹	۰/۳۲	۰/۲۰
طول دم‌برگ		
-۰/۱۷	-۰/۳۰	۰/۵۴
پهنای دندانته انتهایی		
-۰/۰۳	-۰/۲۲	۰/۶۳
طول دندانته انتهایی		
-۰/۰۷	-۰/۴۳	-۰/۳۳
پهنای پهن‌ترین دندانته		
۰/۱۵	-۰/۰۵	-۰/۲۲
حداکثر عمق سینوس		
۰/۲۹	-۰/۳۷	۰/۰۹
فاصله رگبرگ اصلی تا نوک بزرگ‌ترین دندانته		
۰/۳۲	-۰/۳۴	-۰/۰۰۱
پهنای پهنک در پهن‌ترین نقطه آن		
۰/۴۰	-۰/۱۱	۰/۱
ارتفاع نقطه حداکثر پهنای برگ تا نوک		
۰/۴۰	۰/۰۸	-۰/۰۳
تعداد دندانته در سمت راست برگ		
۰/۴۰	۰/۱۲	-۰/۰۳
تعداد دندانته در سمت چپ برگ		
-۰/۲۱	-۰/۴۳	-۰/۲۶
نسبت طول کلی برگ		
۰/۴۶۳	۰/۲۴۶	۰/۱۵۵
درصد تبیین		
۴۶/۳	۷۰/۹	۸۶/۴
درصد تجمعی		



شکل ۲- تجزیه خوشه‌ای نه جمعیت متشکل از ۱۲۵ ژنوتیپ *Quercus brantii* براساس صفات ریخت‌شناختی

جدول ۵- توالی و اطلاعات ژنتیکی به دست آمده از ۲۸ آغازگر استفاده شده در این بررسی

h	PP (%)	PB	TAB	FSR (bp)	AT (°C)	توالی ۵' → ۳'	آغازگر
ISSR							
۰/۲۶	۹۵	۱۹	۲۰	۲۰۰-۲۶۰۰	۴۹/۵	AGAGAGAGAGAGAGAGT	UBC 807
۰/۳۲	۱۰۰	۱۳	۱۳	۵۰۰-۲۸۰۰	۵۰/۶	AG AGAGAGAGAGAGAGC	UBC 808
۰/۲	۹۲/۸	۱۳	۱۴	۱۰۰-۱۸۰۰	۴۹/۰	AGAGAGAGAGAGAGAGG	UBC 809
۰/۲۸	۹۲/۳	۱۲	۱۳	۱۵۰-۲۴۰۰	۴۹/۰	GAGAGAGAGAGAGAGAC	UBC 811
۰/۳	۱۰۰	۱۲	۱۲	۱۰۰-۲۳۰۰	۴۹/۰	GAGAGAGAGAGAGAGAA	UBC 812
۰/۴	۱۰۰	۱۵	۱۵	۱۵۰-۱۹۰۰	۵۰/۶	CACACACACACACACAG	UBC 818
۰/۳۳	۱۰۰	۱۰	۱۰	۲۵۰-۲۷۰۰	۵۲/۲	GTGTGTGTGTGTGTGTT	UBC 821
۰/۲۴	۱۰۰	۱۲	۱۲	۲۵۰-۲۸۰۰	۵۰/۶	ACACACACACACACT	UBC 825
۰/۲۵	۱۰۰	۱۱	۱۱	۱۰۰-۲۲۰۰	۵۴/۱	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	UBC 834
۰/۲۷	۱۰۰	۱۴	۱۴	۶۰۰-۲۴۵۰	۴۹/۰	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	UBC 840
۰/۱۹	۱۰۰	۱۱	۱۱	۲۰۰-۲۵۰۰	۵۵/۷	GAGAGAGAGAGAGAGYC	UBC 841
۰/۴۳	۱۰۰	۱۲	۱۲	۴۰۰-۲۸۰۰	۴۹/۵	TCTCTCTCTCTCTCRT	UBC 853
۰/۳۵	۱۰۰	۱۳	۱۳	۱۰۰-۱۷۰۰	۵۷/۰	ACCACCACCACCACCACC	UBC 861
۰/۳۰	۸۱/۸	۹	۱۱	۱۵۰-۲۵۰۰	۵۶/۶	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	UBC 866
۰/۳۵	۱۰۰	۱۵	۱۵	۱۰۰-۲۳۰۰	۴۹/۵	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	UBC 868
۰/۳۶	۸۳/۳	۱۰	۱۲	۱۸۰-۲۰۰۰	۵۴/۱	GACAGACAGACAGACA	UBC 873
۰/۲۷	۸۴/۶	۱۱	۱۳	۲۵۰-۲۷۰۰	۴۹/۵	CAGCAGCAGCAGCAG	nIssr1
۰/۳۲	۱۰۰	۱۲	۱۲	۱۸۰-۲۸۰۰	۵۵/۷	AGGGAGAGGAGGAGGAGG	nIssr3
۰/۳	۹۶/۱	۱۳/۵	۱۲/۹				میانگین
IRAP							
۰/۳	۱۰۰	۱۵	۱۵	۱۸۰-۲۵۰۰	۴۷/۷	CACGATTCACCTTAATATCTGACA	Hana
۰/۲۶	۱۰۰	۱۳	۱۳	۵۰۰-۲۸۰۰	۴۳/۹	TAACCGCTAGGGTCGTAACA	Gagi
۰/۳۵	۹۴/۷۳	۱۸	۱۹	۱۰۰-۱۷۰۰	۴۰/۰	GGGAACCAACCGTCACA	Gaga
۰/۳۱	۱۰۰	۱۲	۱۲	۱۴۰-۲۳۰۰	۴۳/۹	ACAACCTTTATACGGGATCTCCGTT	5'LTR1
۰/۴۲	۹۰/۹	۱۰	۱۱	۱۰۰-۲۳۰۰	۴۰/۰	CTTAATACGGGATCTCCCTACTA	5'LTR2
۰/۲۹	۱۰۰	۱۲	۱۲	۱۵۰-۱۹۰۰	۴۰/۰	CTCGCTCGCCACACATCAACCGGTTTATT	LTR6149
۰/۲۹	۹۰/۹	۱۰	۱۱	۱۵۰-۲۶۰۰	۶۰/۰	ATGTACACACCTATGTATCTGTACCCGGCTTGTC	LTR6150
۰/۲۷	۱۰۰	۱۲	۱۲	۲۵۰-۲۷۰۰	۴۰/۰	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCAACA	3'LTR
۰/۳۴	۱۰۰	۱۲	۱۲	۱۰۰-۲۱۰۰	۴۷/۷	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	Sukkula
۰/۳۸	۱۰۰	۱۲	۱۲	۶۰۰-۲۵۰۰	۴۱/۲	CGCATTGTTCAGCCTAAACC	Nikita
۰/۳۲	۹۷/۶۵	۱۲/۶	۱۲/۹				میانگین

AT: دمای بهینه اتصال؛ TAB: تعداد نوار تکثیرشده؛ FSR: دامنه اندازه نوارهای تکثیرشده؛ PB: تعداد نوار چندشکل؛ PP: درصد چندشکلی؛ h: نوع ژنتیکی نی

براساس تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌های حاصل از آغازگرهای ISSR مشخص شد که ۷۷ درصد از تنوع ژنتیکی کل مربوط به درون جمعیت‌ها بود و ۲۳ درصد باقی‌مانده، تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها را تشکیل می‌داد. همچنین، براساس تجزیه واریانس مولکولی داده‌های آغازگرهای IRAP به ترتیب ۸۳ درصد و ۱۷ درصد از تنوع ژنتیکی کل به درون و بین جمعیت‌ها اختصاص یافت. شاخص تمایز بین جمعیت‌ها (Φ_{ST}) بر مبنای آغازگرهای IRAP و ISSR به ترتیب ۰/۲۳ و ۰/۱۶ برآورد شد. تعداد مهاجران در هر نسل (Nm)، که نمایانگر فراوانی جریان ژنی بین جمعیت‌هاست به ترتیب برابر با ۱/۵۶ و ۲/۰۸ به‌زای نشانگرهای ISSR و IRAP محاسبه شد (جدول ۷).

تنوع ژنی نی و شاخص شانون براساس نشانگرهای ISSR در هر جمعیت به‌طور جداگانه محاسبه و متوسط هر یک از آنها به ترتیب برابر با ۰/۱۸ و ۰/۲۸ برآورد شد (جدول ۶). براساس این شاخص‌های تنوع ژنتیکی، جمعیت تازان ($I=0/34$ و $h=0/22$) بیشترین و جمعیت بلکه ($I=0/22$ و $h=0/7$) کمترین تنوع ژنتیکی را نشان دادند. براساس نشانگرهای IRAP متوسط تنوع ژنی نی و شاخص شانون برای جمعیت‌های بررسی شده به ترتیب برابر با ۰/۲۱ و ۰/۱۸ در بلکه تا ۰/۲۷ در تازان و ۰/۳۳ و ۰/۲۷ در بلکه تا ۰/۴۱ در تازان برآورد شد. تنوع ژنتیکی در تازان براساس این دو شاخص بیشترین و در بلکه کمترین مقدار را به خود اختصاص داد که با نتایج حاصل از نشانگر ISSR مطابقت داشت.

جدول ۶- خلاصه تجزیه تنوع ژنتیکی ISSR و IRAP جمعیت‌های *Quercus brantii*

جمعیت	PPL (%)		A_0		h		I	
	IRAP	ISSR	IRAP	ISSR	IRAP	ISSR	IRAP	ISSR
CA	۸۲/۱۷	۷۳/۸۲	۱/۳۸	۱/۳۲	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۳۰	۰/۲۷
GL	۷۸/۲۹	۶۴/۳۸	۱/۴۹	۱/۵۳	۰/۲۳	۰/۲۱	۰/۳۲	۰/۳۲
DW	۷۰/۵۴	۷۳/۸۲	۱/۱۲	۱/۱۲	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۲۷	۰/۲۳
GM	۷۶/۷۴	۶۶/۵۲	۱/۴۹	۱/۴۲	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۳۴	۰/۲۷
KD	۶۸/۹۹	۵۶/۶۵	۱/۴۲	۱/۲۴	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۳۲	۰/۲۷
BL	۴۸/۸۴	۴۹/۳۶	۱/۰۹	۱/۰۹	۰/۱۸	۰/۱۴	۰/۲۷	۰/۲۲
HA	۴۹/۶۱	۵۰/۶۴	۱/۵۸	۱/۳۹	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۳۳	۰/۲۲
TJ	۶۵/۱۲	۶۲/۲۳	۱/۶۶	۱/۵۲	۰/۲۷	۰/۲۲	۰/۴۱	۰/۳۴
SL	۷۵/۹۷	۶۴/۸۱	۱/۵۸	۱/۳۸	۰/۲۴	۰/۱۸	۰/۳۷	۰/۲۸
م ج	۶۸/۴۸	۶۲/۴۷	۱/۴۳	۱/۳۴	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۳۳	۰/۲۸
م گ	۹۹/۲۲	۹۸/۷۱	۱/۹۸	۱/۹۸	۰/۲۱	۰/۲۴	۰/۴۱	۰/۳۷

PPL: درصد مکان‌های ژنی چندشکل؛ A_0 : تعداد آل مشاهده شده؛ h: تنوع ژنتیکی نی؛ I: شاخص اطلاعات شانون؛ م ج: میانگین در سطح جمعیت؛ م گ: میانگین در سطح گونه

جدول ۷- تجزیه واریانس مولکولی براساس آغازگرهای IRAP و ISSR

در ۱۲۵ پایه نمونه برداری شده از نه جمعیت *Quercus brantii*

N_m	Φ_{ST}	درصد اجزاء واریانس	اجزاء واریانس	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منبع تغییرات
							ISSR
۱/۵۶	۰/۲۳	۲۳	۷/۹۹	۱۳۶/۸۶**	۱۰۹۴/۸۸	۸	بین جمعیتی
۰/۲۴	-	۷۷	۲۶/۵۵	۲۶/۵۵	۳۰۸۰/۱۶	۱۱۶	درون جمعیتی
							IRAP
۲/۰۸	۰/۱۶	۱۷	۳/۵۳	۶۶/۲۴**	۵۲۹/۹۶۱	۸	بین جمعیتی
۰/۲۰	-	۸۳	۱۷/۴	۱۷/۴۰	۲۰۱۸/۶۱۵	۱۱۶	درون جمعیتی

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد

بر هر دو نشانگر ISSR و IRAP وجود ندارد
 $(P > 0.05, t_{IRAP} = -0.12, t_{ISSR} = -0.16)$

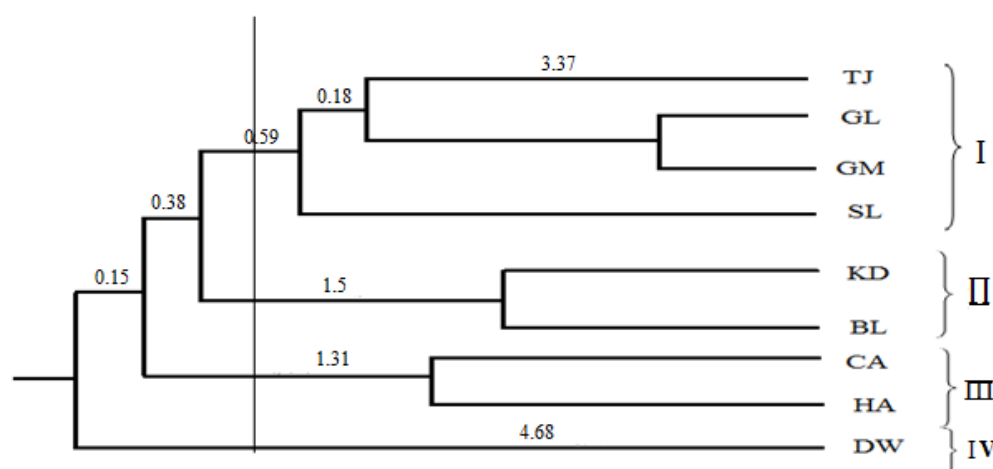
خوشه‌بندی جمعیت‌ها به‌منظور ترسیم روابط ژنتیکی بین نه جمعیت بررسی شده براساس فاصله ژنتیکی نی و الگوریتم UPGMA انجام گرفت. با استفاده از داده‌های ISSR، جمعیت‌های بررسی شده در چهار گروه دسته‌بندی شدند. در گروه یک، جمعیت‌های تاژان، گمارلنگ، قامیشله و سالوک، در گروه دو، جمعیت‌های کنده‌سوره و بلکه، در گروه سه، جمعیت‌های کال و هواره‌خول قرار گرفتند، جمعیت دویسه به تنهایی در خوشه چهار قرار گرفت (شکل ۳).

در جدول ۸ فاصله ژنتیکی مبتنی بر داده‌های ژنتیکی ISSR و IRAP بین جمعیت‌ها آمده است. براساس داده‌های ISSR، فاصله ژنتیکی از ۰/۰۳۵ (بین جمعیت‌های قامیشله و گمارلنگ) تا ۰/۱۳۴ (بین جمعیت‌های هواره‌خول و سالوک) متفاوت است. همچنین براساس نشانگر IRAP، دامنه فاصله ژنتیکی جفت جمعیت‌ها از ۰/۰۲۷ (بین جمعیت‌های هواره‌خول و کال) تا ۰/۱۴۳ (بین جمعیت‌های کنده‌سوره و دویسه) متفاوت بود. نتایج آزمون مانتل نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین فاصله جغرافیایی و هم‌ردیفی جفتی با فاصله ژنتیکی مبتنی

جدول ۸- فواصل ژنتیکی* ناریب نی میان جفت جمعیت‌های *Quercus brantii*

جمعیت	TJ	SL	GL	GM	KD	BL	DW	CA	HA
TJ	****	۰/۰۶۸	۰/۰۶۵	۰/۰۷۱	۰/۰۸۹	۰/۱۰۳	۰/۰۹۷	۰/۰۷۳	۰/۱۱۱
SL	۰/۰۶۹	****	۰/۰۶۸	۰/۰۷۸	۰/۰۹۴	۰/۱۰۵	۰/۱۱۷	۰/۰۹۹	۰/۱۳۴
GL	۰/۰۷۹	۰/۰۶۳	****	۰/۰۳۵	۰/۰۶۴	۰/۰۶۹	۰/۰۷۸	۰/۰۶۵	۰/۰۹۱
GM	۰/۰۷۱	۰/۰۷۱	۰/۰۳۹	****	۰/۰۷۱	۰/۰۶۹	۰/۰۸۴	۰/۰۶۶	۰/۰۹۱
KD	۰/۰۴۰	۰/۱۰۳	۰/۰۹۹	۰/۰۷۶	****	۰/۰۵۳	۰/۱۰۲	۰/۰۷۵	۰/۰۹۴
BL	۰/۰۸۹	۰/۱۳۱	۰/۰۹۹	۰/۰۸۶	۰/۰۸۹	****	۰/۰۷۲	۰/۰۸۲	۰/۱۰۸
DW	۰/۱۱۹	۰/۱۱۷	۰/۰۶۱	۰/۰۶۳	۰/۱۴۳	۰/۰۹۰	****	۰/۰۷۴	۰/۱۲۴
CA	۰/۰۵۴	۰/۰۸۴	۰/۰۶۷	۰/۰۶۹	۰/۰۵۸	۰/۰۶۱	۰/۰۸۴	****	۰/۰۶۴
HA	۰/۰۵۵	۰/۰۸۰	۰/۰۶۹	۰/۰۶۰	۰/۰۶۹	۰/۰۷۸	۰/۰۷۰	۰/۰۲۷	****

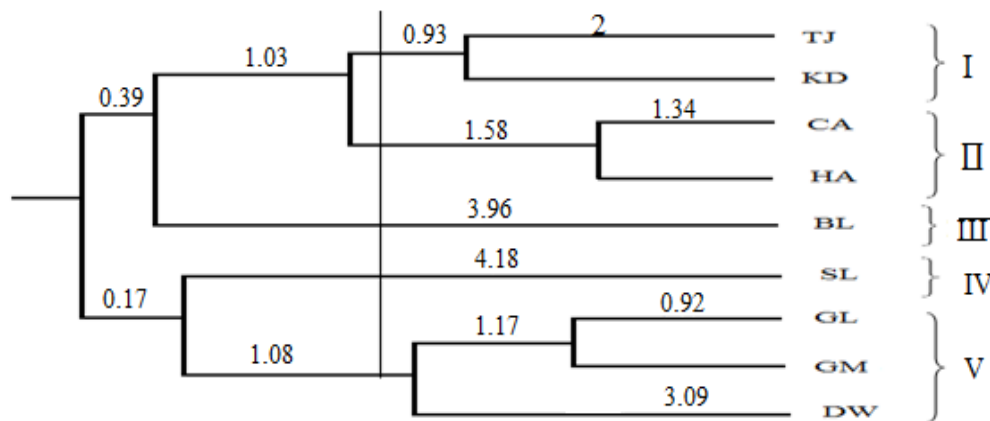
*فواصل ژنتیکی نی بر اساس نشانگر ISSR در بالا و بر اساس نشانگر IRAP در پایین محور قطری نشان داده شده‌اند.



شکل ۳- تجزیه خوشه‌ای نه جمعیت *Quercus brantii* براساس داده‌های نشانگر ISSR بر مبنای فاصله ژنتیکی و الگوریتم UPGMA

شدند. جمعیت‌های بلکه و سالوک به تنهایی در خوشه‌های سوم و چهارم قرار گرفتند؛ خوشه پنجم جمعیت‌های گمارلنگ، قامیشله و دویسه را در خود جای داد (شکل ۴).

تجزیه خوشه‌ای براساس داده‌های IRAP با استفاده از الگوریتم UPGMA و فاصله ژنتیکی نی جمعیت‌های بررسی شده را به پنج خوشه تفکیک کرد. در خوشه اول، جمعیت‌های تاژان و کنده‌سوره و در خوشه دوم، جمعیت‌های کال و هه‌واره‌خول همگروه



شکل ۴- تجزیه خوشه‌ای نه جمعیت *Quercus brantii* با استفاده از داده‌های نشانگر IRAP بر مبنای فاصله ژنتیکی و الگوریتم UPGMA

درصد و مؤلفه سوم ۱۵/۵ درصد از تنوع کل را نشان دادند. بزرگ‌ترین ضرایب صفات در مؤلفه اول شامل ارتفاع نقطه حداکثر پهنای برگ تا نوک، طول پهنک و تعداد دندانه در سمت راست و چپ برگ، در مؤلفه دوم شامل صفات طول دم‌برگ، پهنای پهن‌ترین دندانه و فاصله رگبرگ اصلی تا نوک بزرگ‌ترین دندانه و در مؤلفه سوم شامل ضرایب پهنای دندانه انتهایی و طول دندانه انتهایی بودند (جدول ۴). این تنوع زیاد ریختاری مشاهده شده در جمعیت‌های بلوط ایرانی زاگرس شمالی ممکن است ناشی از انتروگرسیون ژن‌ها از دیگر گونه‌های بلوط یعنی *Q. infectoria* و *Q. libani* به ژنوم بلوط ایرانی باشد. البته قبول یا رد این فرضیه (دورگه‌گیری مبتنی بر اینتروگرسیون) در این گونه نیازمند بررسی‌های بیشتر است. در مطالعات مختلف انجام گرفته بر روی سایر گونه‌های پهن‌برگ، مشخصه‌هایی همچون طول و پهنای برگ بیشترین

بحث

در این تحقیق، علاوه بر استفاده از دو نشانگر مولکولی مبتنی بر DNA، تنوع در مشخصه‌های ریختاری برگ پایه‌های جمعیت‌های نمونه‌برداری شده نیز ارزیابی شد. استفاده از مشخصه‌های ریختاری در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گونه‌های چوبی را برخی محققان، پیشتر گزارش کرده‌اند (Shiran *et al.*, 2011). نتایج تجزیه واریانس چندمتغیره این صفات نشان داد که بین مناطق بررسی شده، تنوع ریختاری زیادی وجود دارد. همچنین برای تمایز جمعیت‌ها براساس مشخصه‌های ریختاری با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، بررسی صورت گرفت. این تجزیه نشان داد که سه مؤلفه اول در مجموع ۸۶/۴ درصد از کل تنوع ریختاری موجود در جمعیت‌ها را تبیین کردند، به طوری که مؤلفه اول ۴۶/۳ درصد، مؤلفه دوم ۲۴/۶

حفظ کرده‌اند. به‌طور مشابه در *Quercus suber* (López-Aljorna et al., 2007) *Q. acutissima* (Zhang et al., 2013) *Q. semiserrata* (Pakkad et al., 2008) و دیگر گونه‌های چوبی همچون *Hagenia abyssinica* (Feyissa et al., 2007)، *Dendrocalamus giganteus* (Tian et al., 2012) *Prunus armeniaca* (Li et al., 2013) تنوع ژنتیکی زیادی در سطح گونه گزارش شده است. در مورد تنوع ژنتیکی نی و شانون بین نه جمعیت بررسی شده تفاوت‌های زیادی وجود داشت. براساس این دو شاخص جمعیت‌های تاژان و بلکه به‌ترتیب بیشترین و کمترین تنوع را نشان دادند (جدول ۶).

نتایج نشان داد که رابطه معنی‌داری بین پراکنش جغرافیایی جمعیت‌ها و واگرایی آنها براساس داده‌های ریخت‌شناختی، ISSR و IRAP وجود ندارد؛ به‌طوری‌که جمعیت‌های یک منطقه در یک خوشه قرار نگرفته‌اند و در مقابل در برخی موارد، جمعیت‌های برگرفته از مناطق مختلف در کنار هم گروه‌بندی شده‌اند. (Thrivani et al., 2013) و (Luo et al., 2011) نیز عدم همبستگی معنی‌دار بین تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بررسی شده و منشأ جغرافیایی آنها را گزارش کردند. اما از طرف دیگر، (Salehi Shanjani et al., 2010) Feyissa et al. (2007) و (Derero et al., 2011) به ترتیب در *Fagus orientalis* *Hagenia abyssinica* و *Cordia Africana* همبستگی بین فواصل ژنتیکی جمعیت‌های بررسی شده با فواصل جغرافیایی بین آنها را ضعیف، اما معنی‌دار می‌دانند.

پراکنش جغرافیایی، سیستم تلاقی، گستره حیات و دخالت‌های انسانی، از عوامل اصلی تأثیرگذار و تعیین‌کننده تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی شناخته شده‌اند (Hamrick and Godt, 1996; White et al., 2007). به‌طور کلی گونه‌های دارای پراکنش گسترده به برخورداری از تنوع ژنتیکی بیشتری از گونه‌های دارای گستره رویشگاهی محدود متمایل‌ترند

تأثیر را در ایجاد واریانس داشته‌اند (زرافشار و همکاران، ۱۳۸۸؛ کفاش و همکاران، ۱۳۸۷؛ یوسف‌زاده و همکاران، ۱۳۸۷). براساس تجزیه خوشه‌ای داده‌های ریخت‌شناختی بنابر الگوریتم وارد و فاصله اقلیدسی، جمعیت‌های بررسی شده در شش گروه دسته‌بندی شدند (شکل ۱). با وجود مشاهده تنوع زیاد ریختاری بین جمعیت‌های بررسی شده، شاخص‌های این تنوع برای تمایز کامل جمعیت‌ها از هم ناکافی بودند.

ارزیابی صفات ریختاری، رویکردی کلاسیک و سنتی برای بررسی تنوع جمعیتی گونه‌های گیاهی است (White et al., 2007). در ارزیابی مشخصه‌های ریخت‌شناختی برگ ۴۵ پایه برگرفته از هشت جمعیت طبیعی *Quercus brantii* در جنگل‌های استان چهارمحال و بختیاری، تنوع معنی‌دار و بالای جمعیت‌های مورد بررسی براساس مشخصه‌های ریخت‌شناختی برگ گزارش شده است (Shiran et al., 2011). با بهره‌گیری از مشخصه‌های ریختاری بذر، تنوع جمعیتی پروونانس‌های مختلف *Q. ilex* در اسپانیا بررسی و تنوع معنی‌دار بین پروونانس‌ها گزارش شده است (Valero et al., 2012).

تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های بررسی شده با بهره‌گیری از نشانگرهای مولکولی ISSR و IRAP بررسی شد. در سطح جمعیت، میانگین درصد مکان‌های ژنی چندشکل برآورد شده براساس نشانگر ISSR برابر با ۶۲/۴۷ درصد و میانگین تنوع ژنتیکی نی برابر با ۰/۱۸ بود. در سطح گونه این مقادیر به ترتیب ۹۸/۷۱ درصد و ۰/۲۴ بود. براساس نشانگر IRAP در سطح جمعیت و گونه میانگین درصد لوکوس‌های چندشکل به ترتیب ۶۸/۴۸ درصد و ۹۹/۲۲ درصد و میانگین تنوع ژنتیکی نیز به ترتیب برابر با ۰/۲۱ و ۰/۲۱ برآورد شد. بنابراین، جمعیت‌های *Q. brantii* تنوع ژنتیکی بیشتری را در سطح گونه در مقایسه با سطح جمعیت

(Chung et al., 2002)، پخش‌شدگی دانۀ گرده در فواصل طولانی به‌وسیله باد (Dow and Ashley, 1998; Frankel et al., 1995) و بذر توسط انسان در کم بودن تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌های بلوط نقش مهمی داشته و سبب تقویت یکنواختی ژنتیکی و یکسان شدن فراوانی‌های آلی در میان جمعیت‌های مجاور هم بلوط شده است (Alfonso-Corrado et al., 2004; Coelho et al., 2006; Shiran et al., 2011). جریان ژنی (Nm) برآورد شده در این تحقیق با کم بودن تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌ها همخوانی دارد. در تحقیقی در مورد ارزیابی تنوع ژنتیکی دو بلوط مکزیکی با استفاده از نشانگرهای RAPD فراوانی جریان ژنی بین ۱/۹۵ و ۳/۷۶ گزارش شده است (Alfonso-Corrado et al., 2004). مقدار Nm بیشتر از یک از واگرایی ژنتیکی جمعیت‌ها و تأثیرپذیری آنها از عوامل فرساینده تنوع ژنتیکی همچون رانش ژنتیکی جلوگیری می‌کند (Wright, 1951; Slakhtin, 1994). سازوکار تلاقی یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار بر تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی به‌شمار می‌آید (Hamrick and Godt, 1996)، به‌طوری‌که گونه‌های باددگرگشن همچون بلوط‌ها به‌طور طبیعی از تنوع ژنتیکی زیاد و تمایز ژنتیکی بین جمعیتی کمی برخوردارند (Rossetto et al., 1995). بیشتر بودن تنوع ژنتیکی درون جمعیتی نسبت به تنوع بین جمعیتی مشاهده شده در این تحقیق را Zhang et al. (2007) در *Q. mongolica* و González-Rodríguez et al. (2005) در *Quercus sp.* نیز مشاهده کرده‌اند.

در بررسی‌های تنوع ژنتیکی، تفاوت‌های ریختاری قادر به تمایز کردن جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌های داخل آنها در سطح ژنوم نیستند (Kadkhodaei et al., 2011). در این تحقیق، همبستگی ماتریس تشابه به‌دست‌آمده از نشانگرهای ریختاری و ژنوتیپی ضعیف بود. چنین یافته‌ای مبنی بر ضعیف بودن همبستگی بین داده‌های ریختاری و مولکولی در مطالعه ژنتیک

(Hamrick and Godt, 1996). رویشگاه *Q. brantii* در ایران از جنوب استان آذربایجان غربی تا استان فارس گسترش دارد. بنابراین، همان‌طور که نتایج این تحقیق نیز نشان داد انتظار می‌رود تنوع ژنتیکی زیادی در این گونه حفظ شود. دومین عامل مهم تعیین‌کننده تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی، نوع سیستم تلاقی حاکم بر آنها است. گونه‌های بلوط عموماً خودناسازگار و بادگرده‌افشان هستند (Knapp et al., 2001; Chung et al., 2002). تکثیر این گونه در جمعیت‌های طبیعی از طریق بذر و جست‌زایی است، البته به‌شرطی که رویشگاه آن از دخالت و آشفته‌گی‌های انسانی مصون بماند. این نوع سیستم زادآوری سبب شکل‌گیری رقابت میان پایه‌های واقع در آن جمعیت می‌شود که خود به تقویت احتمال بقای پایه‌ها و حفظ تنوع ژنتیکی زیاد بلوط‌ها منجر می‌شود. از منظر سومین عامل تعیین‌کننده اثرگذار بر تنوع ژنتیکی، از آنجا که *Q. brantii* عمری طولانی دارد و پایه‌های آن ممکن است سال‌ها عمر کنند، از این‌رو، این عامل می‌تواند در حفظ تنوع ژنتیکی زیاد این گونه اثرگذار باشد (Hamrick and Godt, 1996). همچنین دخالت‌های انسانی به‌عنوان یکی دیگر از عوامل مهم اثرگذار بر تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی، می‌تواند پایداری و پویایی جمعیت‌ها را از طریق تغییر فرایندهای ژنتیکی و اکولوژیکی دستخوش تغییراتی کند و بدین ترتیب تنوع ژنتیکی جمعیت‌های یک گونه را نسبت به هم تغییر دهد (Farwig et al., 2008).

در مقایسه با سایر گونه‌های بلوط، در این تحقیق مشخص شد که میزان تمایز ژنتیکی جمعیتی بلوط ایرانی با برآورد وجود ۰/۲۳ (ISSR) و ۰/۱۶ (IRAP) در میان جمعیت‌ها متوسط است که نشان‌دهنده تمایز ملایم ژنتیکی بین جمعیت‌ها براساس هر دو آغازگر است. برآورد جریان ژنی (Nm , ISSR) = ۱/۵۶؛ (Nm , IRAP) = ۲/۰۸ با استفاده از آماره Φ_{ST} محاسبه شد. به‌نظر می‌رسد خودناسازگاری

کاهش شدید مساحت جنگل از یک طرف و عدم استقرار زادآوری به دلیل آشفستگی‌های اکولوژیکی و ژنتیکی از طرف دیگر منجر شده است. بنابراین، حفاظت در محل به‌عنوان مهم‌ترین اولویت حفاظت از ذخایر ژنتیکی این گونه توصیه می‌شود. مراقبت از جمعیت یا جمعیت‌های هدف در حفاظت در محل به انسجام فرایندهای دگرگشتی، جوانه‌زنی بذرها، نمو نهال‌های این گونه و دیگر گونه‌های همراه و در نتیجه حفاظت از تنوع ژنتیکی این گونه منجر می‌شود. براساس نتایج این تحقیق، جمعیت تاژان و پس از آن کال بیشترین تنوع ژنتیکی را دارند. بنابراین، این جمعیت‌ها می‌توانند جمعیت‌هایی ایده‌آل برای بررسی اکولوژی و تکامل این گونه باشند و باید به حفاظت آنها توجه ویژه‌ای شود. در بررسی‌های عرصه‌ای، همواره در پای درختان بلوط تعداد زیادی بذر در فصل بذردهی مشاهده می‌شود، اما متأسفانه هیچ نهالی در اطراف همین پایه‌ها در مناطق طبیعی مشاهده نمی‌شود. به‌نظر می‌رسد جوانه‌زنی بذر در بلوط‌های زاگرس شمالی به‌دلیل نیازهای اختصاصی به رطوبت و دمای مورد نیاز بسیار پایین است. به‌علاوه، ورود دام به جنگل و آشفستگی‌های ناشی از دخالت‌های انسانی نیز یکی از دلایل عدم استقرار نهال‌های جوان حاصل از تعداد محدود بذر جوانه‌زده در جنگل است. بنابراین، افزون‌بر حفاظت در محل، باید روشی مؤثر و سیستماتیک برای جوانه‌زنی بذرهای این گونه به‌منظور ایجاد کتابخانه‌های ژرم‌پلاس (حفاظت خارج از محل) در این گونه توسعه یابد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از سرکار خانم مونا نصری به دلیل کمک در جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی بسیار سپاسگزارند. منابع مالی این تحقیق از محل اعتبارات تصویب‌شده برای پایان‌نامه خانم لیلا علیخانی و همچنین پژوهانه دکتر نقی شعبانیان در دانشگاه کردستان تأمین شد.

جمعیت ژنوتیپ‌هایی از *Prunus* sp. توسط Khadivi-khub et al. (2013) و Lacis et al. (2009) مشاهده شده است. محققان یادشده بر این باورند که تفاوت در مشخصه‌های ریختاری ضرورتاً به گروه‌بندی جمعیت‌ها یا ژنوتیپ‌های داخل آنها همانند گروه‌بندی مبتنی بر تکنیک‌های مولکولی منجر نمی‌شود. در این تحقیق نشان داده شد که تفاوت در مشخصه‌های ریختاری برگ جمعیت‌ها در سطح ژنتیکی مانند نشانگرهای ISSR و IRAP، که در ارزیابی چندشکلی مناطق وسیعی از ژنوم را پوشش می‌دهند، جمعیت‌ها را تفکیک نکردند. در مورد صفات ریختاری به‌دلیل اینکه هر یک توسط بخش‌های محدودی از ژنوم کنترل می‌شود و از طرف دیگر بروز آنها به‌شدت متأثر از تغییرات محیطی است، انتظار اینکه داده‌های آنها از مطابقتی زیاد با داده‌های نشانگرهای مولکولی برخوردار نباشند، طبیعی است (Williams et al., 1990; Kumar, 1999). از طرف دیگر اگرچه در مناطق مختلف ژنوم (رمز‌شونده و غیررمز‌شونده) همواره جهش کم‌وبیش اتفاق می‌افتد، و نشانگرهای چندشکلی DNA ضرورتاً در نواحی بیان ژن‌های رمزکننده صفات ریختاری واقع نمی‌شوند، از این‌رو، تغییرات در سطح ژنوم همیشه در تغییرات ریختاری منعکس نمی‌شود.

استفاده ترکیبی از انواع مختلف نشانگرهای دارای سازوکار انتقال توارث مختلف و تأثیرپذیر از عوامل تکاملی گوناگون، تصویر جامع‌تر، قابل‌اعتمادتر، و بهتری از تنوع ژنتیکی به‌دست می‌دهد (Fortini et al., 2009; Carvalho et al., 2009).

براساس نتایج این تحقیق، ساختار ژنتیکی جمعیت‌های *Q. brantii* را می‌توان بدین صورت توصیف کرد: تنوع ژنتیکی نسبتاً زیاد در سطح جمعیت و گونه و تمایز متوسط ژنتیکی بین جمعیت‌ها. با وجود این، در دهه‌های اخیر جنگل‌های زاگرس شمالی متأثر از فعالیت‌های تخریبی شدید ناشی از دخالت‌های ساکنان محلی بوده است، که به

منابع

- Bacilieri, R., A. Ducousso, R.J. Petit, and A. Kremer, 1996. Mating system and asymmetric hybridization in a mixed stand of European oaks, *Evolution*, 50: 900–908.
- Birchenko, J.V., 2008. Genetic diversity of native northern red oak (*Quercus rubra* L.) populations, 108 p. Dissertation, University of Notre Dame, USA.
- Bruschi, P., G.G. Vendramin, F. Bussotti, and P. Grossoni, 2003. Morphological and molecular diversity among Italian populations of *Quercus petraea* (Fagaceae), *Annals of Botany*, 91: 707–16.
- Carvalho, A., J. Lima-Brito, B. Maçs, and H. Guedes-Pinto, 2009. Genetic diversity and variation among botanical varieties of old Portuguese wheat cultivars revealed by ISSR assays, *Biochemical Genetics*, 47: 276–294.
- Chung, M., Y. Nason, J. Chung, M.G. Kim, K. Park, C. Sun, and J. Pak, 2002. Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae), *American Journal of Botany*, 89: 1229–1236.
- Coart, E.X., M.J.M. Vekemans, I. Smulders, J. Wagner, E. Van Huylenbroeck, V. Vockstaele, and I. Roldán-Ruiz, 2003. Genetic variation in the endangered wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) in Belgium as revealed by amplified fragment length polymorphism and microsatellite markers, *Molecular Ecology*, 12: 845–857.
- Coelho, A.C., M.B. Lima, D. Neves, and A. Cravador, 2006. Genetic diversity of two evergreen oaks [*Quercus suber* (L.) and *Quercus ilex* subsp. *rotundifolia* (Lam.)] in Portugal using AFLP markers, *Silvae Genetica*, 55: 105–118.
- Derero, A., O. Gailing, and R. Finkeldey, 2011. Maintenance of genetic diversity in *Cordia africana* Lam., a declining forest tree species in Ethiopia, *Tree Genetics and Genomes*, 7: 1–9.
- Dow, B.D., and M.V. Ashley, 1998. High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites, *Journal of Heredity*, 89: 62–70.
- Doyle, J.J., and J.L. Doyle, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of leaf tissue, *Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America*, 19: 11–15.
- ذوالفقاری، رقیه، مسلم اکبری‌نیا، محسن مردی و فائزه قناتی، ۱۳۸۷. بررسی تنوع ژنتیکی بلوط ایرانی *Quercus brantii* Lindl در جوامع مختلف ارتفاعی استان کهگیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره SSR، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۲: ۱۷۲–۱۸۱.
- زرافشار، مهرداد، مسلم اکبری‌نیا، حامد یوسف‌زاده و علی ستاریان، ۱۳۸۸. بررسی تنوع در خصوصیات مورفولوژیک برگ و میوه گونه داغداغان (*Celtis australis* L.) در شرایط جغرافیایی مختلف، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۷: ۸۸–۹۹.
- کفاش، شب‌بو، غلامرضا بخشی‌خانیکی و بایزید یوسفی، ۱۳۸۷. بررسی ویژگی‌های مورفولوژیک برگ گونه بلوط مازودار (*Quercus infectoria* Olive) در جنگل‌های استان کردستان، پژوهش و سازندگی، ۲۱: ۱۳۵–۱۴۴.
- نمیرانیان، منوچهر، آزاد هناره‌خلیانی، قوام‌الدین زاهدی‌امیری و هدایت‌اله غضنفری، ۱۳۸۶. بررسی روش‌های مختلف احیا و استقرار زادآوری جنسی در جنگل‌های بلوط زاگرس شمالی (بررسی موردی: آرمردۀ بانه)، تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۵: ۳۸۶–۳۹۷.
- یوسف‌زاده، حامد، محمدرضا اکبری‌ان و مسلم اکبری‌نیا، ۱۳۸۷. بررسی تنوع درخت انجیلی در شیب ارتفاعی در شرق استان مازندران، رستنی‌ها، ۹: ۱۷۸–۱۸۹.
- Alfonso-Corrado, C., R. Esteban-Jimenez, R., Clarktapia, D. Pinero, J.E. Campos, and A. Mendoza, 2004. Clonal and genetic structure of two Mexican oaks: *Quercus eduardii* and *Quercus potosina* (Fagaceae), *Evolution and Ecology*, 18: 585–599.
- Allendorf, F.W., R.F. Leary, P. Spruell, and J.K. Wenburg, 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines, *Trends Ecological Evolution*, 16: 613–622.
- Andrade, I.M., S.J. Mayo, C. van den Berg, M.F. Fay, M. Chester, C. Lexer, and D. Kirkup, 2007. A Preliminary study of genetic variation in populations of *Monstera adansonii* var. *klotzschiana* (Araceae) from North-East Brazil, estimated with AFLP molecular markers, *Annals of Botany*, 100(6): 1143–1154.

- Dumolin-Lapègue, S., B. Demesure, S. Fineschi, V. Le Corre, and R.J. Petit, 1997. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent, *Genetics*, 146:1475–1487.
- Excoffier, L., P. Smouse, and J. Quattro, 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data, *Genetics*, 131: 479–491.
- Farwig, N., C.B. Braun, and K. Ohning-Gaese, 2008. Human disturbance reduces genetic diversity of an endangered tropical tree, *Prunus africana* (Rosaceae), *Conservation Genetics*, 9: 317–326.
- Feyissa, T., H. Nybom, I.V. Bartish, and M. Welander, 2007. Analysis of genetic diversity in the endangered tropical tree species *Hagenia abyssinica* using ISSR markers, *Genetics Resources and Crop Evolution*, 54: 947–958.
- Fortini, P., V. Viscosi, L. Maiuro, S. Fineschi, and G.G. Vendramin, 2009. Comparative leaf surface morphology and molecular data of five oaks of subgenus *Quercus Oerst* (Fagaceae), *Plant Biosystems*, 143: 543–554.
- Frankel, O.H., Brown, A.H.D., Burdon, J.J., 1995. The conservation of plant biodiversity. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ghazanfari, H., M. Namiranian, H. Sobhani, and M.R. Marvi Mohajer, 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, D.M., and 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.
- Grivet, D., V.L. Sork, R.D. Westfall, and F.W. Davis, 2008. Conserving the evolutionary potential of California valley oak (*Quercus lobata* Nee): a multivariate genetic approach to conservation planning, *Molecular Ecology*, 17: 139–156.
- Hamrick, J.L., and M.J.W Godt, 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species, *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 351: 1291–1298.
- Kadkhodaei, S., M. Elahy, M. Khayyam Nekouei, A. Imani, M. Shahnazari, M. Mardi, A. Javanmard, and B. Arbakariya, 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.
- Kelleher, C.T., T.R. Hodkinson, G.C. Douglas, and D.L. Kelly, 2005. Species distinction in Irish populations of *Quercus petraea* and *Q. robur*: Morphological versus Molecular analyses, *Annals of Botany*, 96(7): 1237–1246.
- Khadivi-Khub, A., H.R. Jafari, and Z. Zamani, 2013. Phenotypic and genotypic variation in Iranian sour and duke cherries, *Trees*, 27: 1455–1466.
- Knapp, E.E., M.A. Goedde, and K.J. Rice, 2001. Pollen-limited reproduction in blue oak: implications for wind pollination in fragmented populations, *Oecologia*, 128: 48–55.
- Kumar, L.S., 1999. DNA markers in plant improvement: an overview, *Biotechnology Advances*, 17: 143–182.
- Lacis, G., I. Rashal, S. Ruisa, V. Trajkovski, and A.F Iezzoni, 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.
- Lee, S.W. Y.Y. Kim, J.O. Hyun, and Z.S. Kim, 1997. Comparison of genetic variation in *Pinus densiflora* natural populations by allozyme and RAPD analysis, *Korean Journal of Breeding*, 29: 72-83 [in Korean with English summary].
- Li, M., Z. Zhao, and X.J. Miao, 2013. Genetic variability of wild apricot (*Prunus armeniaca* L.) populations in the Ili Valley as revealed by ISSR markers, *Genetics Resources and Crop Evolution*, DOI 10.1007/s10722-013-9996-x.
- Lopez-Aljorna, A., M.A. Bueno, I. Aguinagalde, and J.P. Martin, 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.
- Luo, S., Y. He, J. Ning, J. Zhang, G. Ma, and M. Bao, 2011. Genetic diversity and genetic structure of different populations of the endangered species *Davidia involucreta* in China detected by inter-simple sequence repeat analysis, *Trees*, 25: 1063–1071.

- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach, *Cancer Research* 27: 209–220.
- Muller-Starck, G., and M. Ziehe, 1991. Genetic variation in populations of *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L., and *Quercus petraea* Liebl, in Germany, In: Muller-Starck, G. and M. Ziehe, Genetic variation in European populations of forest trees, Frankfurt M.J.D, Sauerlander's Verlag: 125-140.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals, *Genetics*, 89: 583–590.
- Pakkad, G., S. Ueno, and H. Yoshimaru, 2008. Genetic diversity and differentiation of *Quercus semiserrata* Roxb. in northern Thailand revealed by nuclear and chloroplast microsatellite markers, *Forest Ecology and Management*, 255: 1067–1077.
- Peakall, R. and P.E. Smouse, 2006. GenAlEx6: genetic analysis in excel population genetic software for teaching and research, *Molecular Ecology Notes*, 6: 288–295.
- R Core Team, 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R, *Foundation for Statistical Computing*, <http://www.R-project.org>.
- Rhymer, J.M., and D. Simberloff, 1996. Extinction by hybridization and introgression. *Annual Review of Ecological Systems*, 27: 83–109.
- Rossetto, M., P.K. Weaver, and K.W. Dixon, 1995. Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered, *Grevillea scapigera* (Proteaceae). *Molecular Ecology*, 4: 321–329.
- Salehi Shanjani, P., G.G. Vendramin, and M. Calagari, 2010. Genetic diversity and differentiation of *Fagus orientalis* Lipsky in Hyrcanian forests revealed by nuclear and chloroplast microsatellite markers, *Conservation Genetics*, 11: 2321-2331.
- SAS Institute Inc. 2000-2004. SAS Help and Documentation. Cary, NC. Ver 9.1.3.
- Shiran, B., S. Mashayekhi, H. Jahanbazi, A. Soltani, and P. Bruschi, 2011. Morphological and molecular diversity among populations of *Quercus brantii* Lindl. in western forest of Iran, *Plant Biosystems*, 145: 452–460.
- Slatkin, M., 1994. Gene flow and population structure. In: Real L, editor. *Ecological genetics*. Princeton, NJ: Princeton University Press. pp. 3–17.
- Thriveni, H.N., R.C. Sumangala, K.N. Shivaprakash, G. Ravikanth, R. Vasudeva, and H.N. Ramesh Babu, 2013. Genetic structure and diversity of *Coscinium fenestratum*: a critically endangered liana of Western Ghats, India, *Plant Systematics and Evolution*, DOI: 10.1007/s00606-013-0890-y.
- Tian, B., H.Q. Yang, K.M. Wong, A.Z. Liu, and Z.Y. Ruan, 2012. ISSR analysis shows low genetic diversity versus high genetic differentiation for giant bamboo, *Dendrocalamus giganteus* (Poaceae: Bambusoideae), in China populations, *Genetics Resources and Crop Evolution*, 59: 901–908.
- Valero, G.J., J. Jorrín-Novo, C. Gómez, D. Ariza, J. García-Olmo, and R.M. Navarro-Cerrillo, 2012. 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.
- White, T.L., W.T. Adams, and D.B. Neale, 2007. *Forest Genetics*, CABI Publishing, Cambridge, Massachusetts, USA 702 p.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski, and S.V. Tingey, 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucleic Acids Research*, 18: 6531–6535.
- Wright, S., 1951. The genetical structure of populations, *Annals of Eugenics*, 15: 323-354.
- Yakovlev, I.A., and J. Kleinschmidt, 2002. Genetic Differentiation of Pedunculate Oak *Quercus robur* L. in the European Part of Russia Based on RAPD Markers, *Russian Journal of Genetics*, 38(2): 148-155.
- Zhang, J., D. Wu, C. Wang, H. Qu, X. Zou, and C. Yang, 2007. Genetic diversity analysis of *Quercus mongolica* populations with Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR) technique, *Biodiversity Science*, 15: 292–299.
- Zhang, Y.Y., Y.M. Fang, M.K. Yu, X.X. Li, and T. Xia, 2013. Molecular characterization and genetic structure of *Quercus acutissima* germplasm in China using microsatellites, *Molecular Biology Reports*, 40(6): 4083-4090.

Assessment of diversity in *Quercus brantii* populations of the north Zagros forests using morphological and molecular ISSR and IRAP markers

N. Shabani^{1*}, L. Alikhani², H. Badakhshan³, and M. S. Rahmani⁴

¹Associate Prof., Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I. R. Iran

²M.Sc. in Forest Ecology and Silviculture, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I. R. Iran

³Assistant Prof., Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, I. R. Iran

⁴Expert of Forest Biology Laboratory, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I. R. Iran

(Received: 19 December 2013, Accepted: 26 November 2014)

Abstract

In this study, the intra- and inter-population genetic diversities of 125 genotypes representing nine populations of *Quercus brantii* from North-Zagros forests were studied using leaf morphological characteristics, inter simple sequence repeats (ISSR) and inter retrotransposal amplified polymorphism (IRAP) markers. Cluster analysis based on morphological characteristics differentiated significantly the nine *Q. brantii* populations into six main groups. Eighteen ISSR and 10 IRAP primers amplified a total of 233 and 129 fragments of which 224 and 126 fragments were polymorphic, respectively. Both ISSR and IRAP marker systems revealed high genetic diversity at species level (ISSR: $h = 0.24$, PPL = 98.71%; IRAP: $h = 0.21$, PPL = 99.22%). Estimated coefficient of genetic differentiation (Φ_{ST}) based on ISSR and IRAP primers were 0.23 and 0.16, respectively indicating most of the total genetic variation distributed within populations than between populations for both marker systems that confirmed with molecular analysis of variance (AMOVA). The low level of genetic diversity between populations and high genetic differentiation among individuals within populations were probably due to extensive gene flow resulted from wind pollination of oaks. Cluster analysis for both molecular marker systems grouped these nine populations into distinct clusters within UPGMA dendrograms. There was no significant correlation between genetic distances of populations and geographic distribution distances with mantel test.

Keywords: Gene flow, Genetic diversity, Inter-simple sequence repeats (ISSR), Molecular marker, Oak.

*Corresponding author

Tel: +98 87 33620551

Email: n.shabani@uok.ac.ir