



ارزیابی ساختار ژنتیکی جمعیت درختان سالم و آسیب‌دیده بلوط ایرانی با استفاده از نشانگرهای ISSR و EST-SSR

زانکو کریمی^۱، رقیه ذوالفقاری^{۲*}، پیام فیاض^۲ و جواد رحیمیان^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد جنگلداری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

^۲ دانشیار گروه جنگلداری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

^۳ کارشناس اداره کل منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۲/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۵/۲)

چکیده

خشکسالی به‌منزله عامل اولیه به‌همراه عوامل ثانویه‌ای مانند طغیان انواع آفات و امراض و نیز آتش‌سوزی در دهه‌های اخیر در جنگل‌های زاگرس موجب نابودی بسیاری از درختان به‌ویژه گونه بلوط ایرانی - اصلی‌ترین گونه درختی تشکیل‌دهنده جنگل‌های زاگرس - شده است. در این پژوهش، تفاوت ژنتیکی ۵۱ درخت سالم و آسیب‌دیده بلوط ایرانی دانه‌زاد (*Quercus brantii* Lindl.) از جنگل خاییز با استفاده از دو نشانگر مولکولی ISSR و EST-SSR به‌ترتیب با چهار و پنج آغازگر بررسی شد. نتایج نشانگر مولکولی ISSR نشان داد که درصد چندشکلی و تنوع ژنتیکی کل درختان بلوط ایرانی به‌ترتیب حدود ۹۵/۸۳ درصد و ۰/۴۰ و مقادیر تنوع ژنتیکی برای جمعیت درختان سالم بیشتر از درختان آسیب‌دیده است. همچنین براساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی تنها ۶/۸۲ درصد تفاوت ژنتیکی در بین دو جمعیت درختان سالم و آسیب‌دیده وجود داشت. از بین آغازگرهای بررسی‌شده، آغازگر IS۱ با داشتن بیشترین درصد صحت (۸۳/۳ درصد)، از قدرت تفکیک بیشتری برای جداسازی درختان سالم و آسیب‌دیده برخوردار بود. نتایج نشانگر EST-SSR نیز نشان داد که جمعیت درختان سالم هتروزیگوتی بیشتری داشتند و گونه بلوط با استفاده از همه آغازگرها نقص هتروزیگوتی نشان داد. تفاوت ژنتیکی بین جوامع سالم و آسیب‌دیده نیز بسیار کم بود (۰/۱۱)، اما آغازگر FIR031 بیشترین فاصله ژنتیکی را با دیگر آغازگرها نشان داد. با توجه به نتایج می‌توان گفت تنوع ژنتیکی، نقش مؤثری در سازگاری به تنش خشکی در درختان سالم بلوط ایرانی دارد. همچنین استفاده از نشانگرهای مناسب برای شناسایی درختان مادری با ارزش ژنتیکی بیشتر، راهکاری برای افزایش موفقیت جنگلکاری‌هاست.

واژه‌های کلیدی: جنگل زاگرس، خشکیدگی بلوط، ساختار ژنتیکی، سازگاری، هتروزیگوتی.

مقدمه

اهمیت است. بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) از مهم‌ترین جوامع و گونه‌های تشکیل‌دهنده این منطقه جنگلی است که ۲۲۵۰۰۰۰ هکتار از آن را در بر می‌گیرد. در سالیان اخیر خشکسالی به‌منزله عامل اولیه (Maroufzadeh & Attarod, 2021) در کنار

ناحیه رویشی زاگرس که جزو جنگل‌های نیمه‌خشک کشور است، از نظر حفاظت از آب و خاک در بُعد ملی، مهیا کردن شرایط زیستی برای جوامع انسانی در بُعد منطقه‌ای و تولید محصولات فرعی دارای

درصد کمتری از چندشکلی را نشان می‌دهد، اما می‌تواند تا حد زیادی برای انتقال از ژنتیک ساختاری به ژنتیک کارکردی استفاده شود، زیرا در نواحی کدکننده ژن قرار می‌گیرد و منبع ارزشمندی در مورد عملکرد ژن‌ها به‌شمار می‌آید و برای بررسی تنوع عملکردی در زمینه تنوع سازگاری به تنش‌های محیطی مفید است. در این زمینه تحقیقات زیادی با استفاده از نشانگر مولکولی EST-SSR برای بررسی تنوع ژنتیکی و ارتباط لوکوس‌ها با مقاومت به تنش‌های محیطی در گونه‌های بلوط اروپا و آمریکا انجام گرفته است (Sullivan et al., 2013; Durand et al., 2010) که نتایج آنها چندشکلی زیاد این نشانگر مولکولی و ارتباط بین تنوع آلل‌ها با تنش‌های محیطی، فنولوژی و رشد را نشان داده است. برای مثال لوکوس FIR031 با ژن *DAD1* در دوکتاز^۱ مرتبط است که در تنظیم متابولیسم سلولی نقش دارد. همچنین Sridha & Wu (2006) بیان کردند که آغازگر FIR039 با ژن *HD2* از طبقه داستیلاز هیستون^۲ ارتباط دارد. این ژن در سنتز اسید آسیتیک^۳ و پاسخ به تنش خشکی نقش اساسی دارد و در نتیجه به گلدهی، خواب بذر، جوانه‌زنی و رشد گیاه در تنش‌های محیطی از راه تنظیم اسمزی کمک می‌کند.

با وجود بررسی نشدن تنوع ژنتیکی گونه‌های جنگلی در ایران با استفاده از نشانگر هم‌پارز EST-SSR، به دلیل در دسترس بودن و دمای اتصال زیاد آغازگرها در نشانگر ISSR و تفکیک مناسب ژنوتیپ‌های مختلف، این نشانگر به‌عنوان نوعی نشانگر بارز برای بررسی گونه‌های بلوط ایرانی توسط Shabanian et al. (2015) استفاده شده است. این نشانگر می‌تواند پایه‌های مختلف را به‌خوبی از هم تفکیک کند. چندشکلی زیاد با استفاده از این نشانگر

عواملی ثانویه مانند طغیان انواع آفات و امراض و آتش‌سوزی، موجب بروز پدیده خشکیدگی بلوط شده که از مشکلات اساسی جنگل‌های زاگرس به‌شمار می‌رود و آسیب جدی به درختان از جمله بلوط ایرانی وارد کرده است (Amir Ahmadi et al., 2015).

در دهه‌های اخیر، حفاظت از تنوع ژنتیکی به یکی از اولویت‌های برنامه‌های مدیریت بوم‌نظام‌های طبیعی تبدیل شده و ارزیابی دقیق مقدار و پراکنش تنوع ژنتیکی در گونه‌های در معرض خطر با هدف حفاظت و استفاده از منابع ژنتیکی اهمیت ویژه‌ای یافته است، زیرا تنوع ژنتیکی سبب افزایش توان سازگاری گونه‌ها و پایداری اکوسیستم‌ها می‌شود (Zolfaghari et al., 2008) و توده‌های پرتنوع برای حفاظت ژنتیکی مناسب‌ترند (Greet et al., 1998). به‌طور معمول در درختان جنگلی به‌ویژه بلوط، تغییرات درون‌گونه‌ای و ژنتیکی زیادی دیده می‌شود که اغلب به‌علت آمیزش دگرگشی، جریان ژن زیاد بین توده‌ها و هیبریداسیون طبیعی بین گونه‌ای این جنس است (Bacilieri et al., 1996; Zolfaghari et al., 2008). کاهش تعداد درختان و اندازه جمعیت در هر گونه ممکن است سبب کاهش منابع ژنتیکی و زیان برگشت‌ناپذیر در تنوع درون‌گونه‌ای شود. بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی در درختان جنگلی روشی معمول است. نشانگرهای ژنتیکی می‌توانند اطلاعات مفیدی درباره مقدار و توزیع گوناگونی ژنتیکی درون و بین جمعیت‌ها فراهم کنند (Hao et al., 2006; Kimura & Crow, 1963).

یکی از نشانگرهای مولکولی مناسب برای تنوع بین‌گونه‌ای و ساختار ژنتیک جمعیت بین گونه‌های چوبی، نشانگر EST-SSR است که به دلیل تنوع زیاد و هم‌پارز بودن (تفکیک هموزیگوت‌ها از هتروزیگوت)، برای بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت گونه‌های بلوط اروپا و آمریکا بسیار کاربرد داشته است (Lind & Gailing, 2013; Owusu et al., 2015;) (Antonecchia et al., 2015). نشانگر EST-SSR

1 5-adenylylsulfate reductase

2 Histone deacetylase

3 ABA

داشته باشند. بنابراین هدف این تحقیق، بررسی گوناگونی ژنتیکی در بین پایه‌های سالم و آسیب‌دیده بلوط ایرانی با استفاده از نشانگرهای مولکولی EST-SSR و ISSR است. با آنالیز داده‌های حاصل می‌توان بهترین نشانگرها و آغازگرها را برای مشخص کردن بهترین درختان مادری از نظر ژنتیکی معرفی کرد و در حفاظت و احیای جنگل‌های زاگرس به کار برد.

مواد و روش‌ها

منطقه پژوهش

منطقه حفاظت‌شده خاییز واقع در عرض جغرافیایی $50^{\circ}36'19''$ - $50^{\circ}38'30''$ شرقی و طول جغرافیایی $30^{\circ}24'19''$ - $30^{\circ}43'54''$ شمالی در حوزه استحفاظی شهرستان‌های کهگیلویه و شهرستان بهبهان قرار دارد. این منطقه تپه‌ماهوری، کوهستانی و صخره‌ای با بارندگی حداقل ۲۵۰ میلی‌متر و حداکثر ۶۷۰ میلی‌متر، دارای حداقل ارتفاع ۳۶۰ متر و حداکثر ارتفاع ۱۶۲۰ متر از سطح دریا و شیبی بین ۵ تا ۸۵ درصد است. وسعت رویشگاه مدنظر در حدود ۶۴۰۰ هکتار است. این منطقه در ناحیه گرمسیری استان قرار گرفته است و درختان بلوط آسیب‌دیده به فراوانی در این منطقه وجود دارد. گونه‌های دیگر جنگلی مانند بنه، کلخنگ، بادام وحشی و ارژن نیز در این منطقه وجود دارند.

شیوه اجرای پژوهش

ابتدا با توجه به شکل زمین (ارتفاعات، شیب‌ها، جهت‌های جغرافیایی و فرم زمین) پلات‌های آماربرداری مشخص شدند و در نهایت ۳۰ پلات از نقاط مختلف جنگل انتخاب شدند و نمونه‌برداری از برگ درختان بلوط ایرانی دانه‌زاد در حال خشکیدن یا آسیب‌دیده و سالم با طبقه قطری تقریباً یکسان در هر یک از پلات‌ها انجام گرفت. بیشتر درختان دانه‌زاد بودند؛ از این رو بین دو درخت متوالی دست‌کم ۲۰ متر فاصله در نظر گرفته شد. از برگ درختان بلوط در فصل بهار برای مطالعات مولکولی نمونه‌برداری شد. موقعیت جغرافیایی هر درخت

در بررسی گونه در معرض خطر شمشاد نیز گزارش شده است (Huang et al., 2008).

با توجه به مطالب گفته‌شده باید تفاوت‌های موجود در بین درختان سالم و آسیب‌دیده از نظر بردباری به خشکی در سطح ژنوم بررسی شود. استفاده از فناوری‌های جدید این امکان را برای برنامه‌های تجدید حیات جنگل و اصلاح درختان با هدف مقاومت بیشتر آنها به خشکی را فراهم می‌کند. همچنین با توجه به ارزش و اهمیت گونه بلوط ایرانی می‌توان با مقایسه تنوع ژنتیکی در میان درختان سالم و آسیب‌دیده یک منطقه، حد آسیب‌پذیری درختان به خشکیدگی را از طریق ژنتیکی توضیح داد. اگرچه درختان موجود در یک منطقه با شرایط اکولوژیکی مشابه از نظر ژنتیکی تا حد زیادی به هم شبیه‌اند، به دلیل سیستم تلاقی دگرلقاحی و تنش‌های محیطی تفاوت‌های ژنتیکی بین درختان یک جمعیت نیز وجود دارد (Lopez-Aljorna et al., 2007). برای مثال بررسی Nowakowska & Oszako (2008) در گونه راش نشان داد که جمعیت درختان سالم نسبت به درختان آسیب‌دیده از قارچ از هتروزیگوتی و تنوع ژنتیکی بیشتری (نزدیک به ۵۰ درصد) برخوردار بودند. بررسی ژنوتیپ‌های بدفرم و خوش‌فرم راش نشان داد که بخش زیادی از تفاوت‌های مورفولوژیکی ناشی از ژنتیک است (Salehi Shanjani et al., 2009).

پژوهش‌های کمی با استفاده از نشانگرهای مولکولی روی گونه بلوط ایرانی انجام گرفته است (Shabanian et al., 2015; Shiran et al., 2011;) (Zolfaghari et al., 2008)، اما تا کنون هیچ تحقیقی در زمینه مقایسه خصوصیات ژنتیکی درختان سالم و آسیب‌دیده بلوط ایرانی با استفاده همزمان از نشانگرهای مولکولی بارز و هم‌بارز انجام نگرفته است. با توجه به حضور همزمان درختان سالم و آسیب‌دیده در منطقه، تنها عامل محیطی نمی‌تواند سبب خشکیدگی بلوط ایرانی شده باشد و عوامل ژنتیکی هم ممکن است در مقاومت بلوط ایرانی به خشکیدگی تأثیر اساسی

به مدت ۷ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. برنامه دمایی آغازگرهای ISSR شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه برای واسرشته‌سازی اولیه، سپس ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۰ درجه به مدت ۱ دقیقه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه برای توسعه و در پایان دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه بود. در نهایت محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد بارگذاری و با ولتاژ ۱۰۰ به مدت ۷۵ دقیقه در دستگاه الکتروفورز قرار داده شد. قطعات تکثیرشده با استفاده از ژل داک مشاهده و ثبت شدند.

نالیزهای مولکولی

برای آنالیزهای مولکولی از نرم‌افزارهای مختلفی استفاده شد. شاخص‌های ژنتیکی مانند درصد آل‌های چندشکل، تعداد آل در هر مکان ژنی، تعداد آل مؤثر، شاخص شانون و تنوع ژنتیکی کل توسط نرم‌افزار Popgene 1.31 محاسبه شد. تفاوت ژنتیکی Nei بین جوامع درختان سالم یا آسیب‌دیده با این نرم‌افزار تعیین شد. تعیین تفاوت ژنتیکی بین و داخل جوامع^۳ توسط نرم‌افزار ARLEQUIN 3.1 نیز با استفاده از تجزیه واریانس AMOVA انجام گرفت. همچنین شاخص اطلاعات چندشکل^۴ در نرم‌افزار اکسل با استفاده از فرمول $PIC = 1 - \sum (P_i)^2$ به دست آمد که در آن Pi فراوانی آل نام است.

به منظور گروه‌بندی درختان یا ژنوتیپ‌های آسیب‌دیده و سالم بلوط ایرانی با استفاده از دو نشانگر مدنظر، پس از تشکیل ماتریس فاصله از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGMA استفاده شد و دندروگرام هر یک با استفاده از نرم‌افزار NTSYS ver 2.02 رسم شد. آنالیز تابع تشخیص (DA) نیز برای مشخص کردن درصد صحت طبقه‌بندی بین درختان

با استفاده از دستگاه GPS ثبت شد. در مجموع ۵۱ پایه درخت بلوط در دو طبقه آسیب‌دیده و سالم انتخاب شدند. درختان با خشکیدگی (۰ تا ۱۵) درصد در طبقه سالم و درختان با خشکیدگی (۱۵ تا ۶۰) درصد در طبقه آسیب‌دیده قرار گرفتند. درختان با خشکیدگی بیشتر از ۶۰ درصد توسط اداره کل منابع طبیعی قطع شده بودند یا کاملاً خشک بودند و برگ سبز برای نمونه‌برداری نداشتند، بنابراین از این تحقیق حذف شدند. از هر پلات یک درخت سالم و یک درخت آسیب‌دیده انتخاب شدند تا اثر شرایط محیطی برای درختان سالم و آسیب‌دیده یکسان باشد. سپس برگ‌های جوان و تازه بلوط برداشت شدند و در ازت مایع قرار گرفتند و به آزمایشگاه انتقال یافتند.

مطالعات مولکولی

استخراج DNA با استفاده از روش CTAB و براساس پروتکل اصلاح‌شده De La Crouz et al. (1997) انجام گرفت. سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز^۱ با استفاده از شش نوع آغازگر EST-SSR و چهار نوع نشانگر ISSR به شرح جدول ۱ انجام گرفت. آغازگرهای استفاده‌شده به شرکت سیناژن کلن سفارش داده شدند. محلول واکنش شامل ۲ نانوگرم DNA (در حدود ۲ میکرولیتر)، ۹/۵ میکرولیتر آب دی‌یونیزه، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس^۲، ۱/۵ میکرولیتر پرایمر FORWARD و ۱/۵ میکرولیتر پرایمر REVERSE، در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر تهیه شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از دستگاه ترموسیکل BioRad (آلمان، مدل ۷۶۵۹) با برنامه دمایی آغازگرهای مختلف EST-SSR شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه برای واسرشته‌سازی اولیه، سپس ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال برای آغازگرها (بسته به آغازگر متفاوت بود که در جدول ۱ آورده شده است) به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه برای توسعه و در پایان

1 PCR

2 Master mix

3 FST

4 PIC value

آسیب‌دیده و سالم با استفاده از آغازگرهای مختلف در نرم‌افزار SPSS ver 23 انجام گرفت.

جدول ۱- آغازگرهای استفاده‌شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

توالی (۵-۳) FORWARD	توالی (۵-۳) REVERSE	TM	نام نشانگر	نوع نشانگر
acgagtcacaacggaagttgt	Cacaacttcacaaggcaagg	۵۶/۲	FIR031	EST-SSR
gagcctctttcatcgcctcac	Tcaacaccccaaaactccat	۵۴	FIR039	
tgacacaaaattggaggatg	Ttgatgcaaggtgcagtttc	۵۶/۲	FIR048	
agtttccccacattttgtgc	Taccatgcaccaagcaattc	۵۲/۲	FIR053	
tgatcacagattggagcttaaca	Cccccacttaggaaagaagc	۵۴	VIT107	
	Gtcacacacacacacac	۵۰	ISSR1	ISSR
	Tgtagagagagagagag	۵۰	ISSR2	
	Agcctctctctctctct	۵۰	ISSR3	
	Gcatctctctctctctc	۵۰	ISSR4	

نتایج

تعداد کل باند و بیشترین تعداد باند چندشکل را به خود اختصاص داد و کمترین درصد چندشکلی مربوط به آغازگر IS۲ (۸۳/۳۳) بود. میانگین درصد چندشکلی در نشانگرهای به‌کاررفته ۹۵/۸۳ درصد به‌دست آمد. نتایج به‌دست‌آمده از شاخص‌های تنوع ژنتیکی برای کل پایه‌های درختی در رویشگاه خاییز با استفاده از نشانگر ISSR نشان داد که تعداد آلل مؤثر برای چهار آغازگر (IS۱، IS۲، IS۳، IS۴) به‌ترتیب ۱/۹۳، ۱/۶۱، ۱/۶۴ و ۱/۸۳ بوده است. بیشترین مقدار تنوع ژنتیکی کل و شاخص شانون مربوط به آغازگر IS۱ و کمترین مقدار تنوع ژنتیکی کل مربوط به آغازگرهای IS۲ و IS۳ بود. کمترین مقدار شاخص شانون نیز مربوط به IS۲ بود (جدول ۲).

نتایج به‌دست‌آمده از شاخص‌های تنوع ژنتیکی شامل تعداد مؤثر آلل‌ها، تنوع ژنتیکی کل و شاخص شانون برای سه آغازگر IS۱، IS۳ و IS۴ در جامعه سالم بیشتر از جامعه آسیب‌دیده بود اما در آغازگر IS۲ نتایج عکس بود (جدول ۲).

در این تحقیق برای اولین بار خصوصیات ژنتیکی بین و درون جمعیت‌های سالم و آسیب‌دیده گونه بلوط ایرانی در منطقه زاگرس توسط نشانگرهای EST_SSR و ISSR بررسی شد. به‌طور کلی از شش جفت آغازگر مورد استفاده EST_SSR، پنج جفت آغازگر (FIR031، FIR039، FIR048، FIR053 و VIT107) با تعداد ۱۹ قطعه باند تکثیر شده و چهار آغازگر ISSR (IS۱، IS۲، IS۳، IS۴) با ۲۸ قطعه باند تکثیرشده توانستند الگوی نوآردهی مناسبی برای امتیازدهی تولید کنند.

تنوع ژنتیکی گونه بلوط ایرانی با استفاده از

نشانگر ISSR

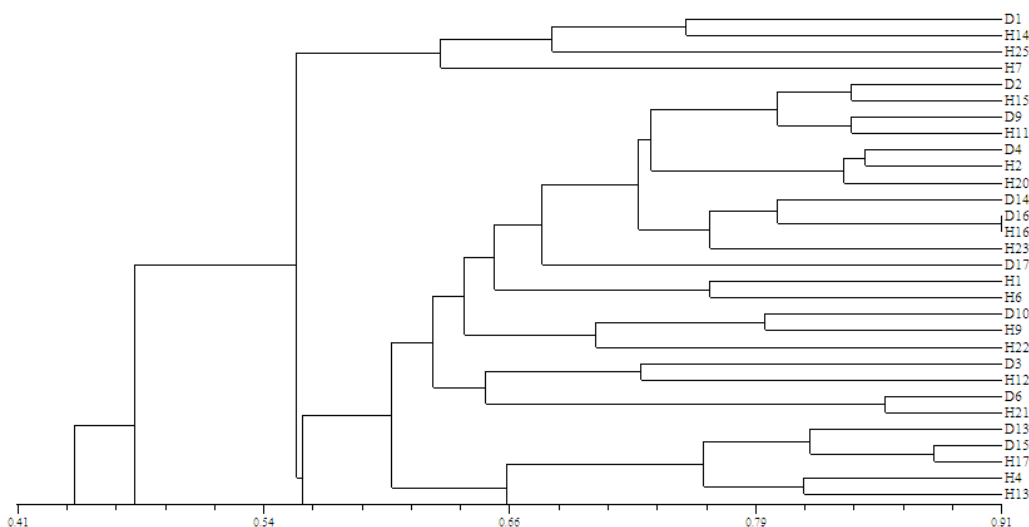
نتایج حاصل از تحقیق تنوع ژنتیکی برگ درخت بلوط با استفاده از چهار آغازگر ISSR در رویشگاه خاییز نشان داد که به‌طور متوسط ۷ باند و در مجموع ۲۸ باند (محدوده ۴۰۰ - ۲۱۵۰ جفت باز) تولید شد که ۶/۷۵ باند به‌صورت چندشکلی بودند. از بین آغازگرهای مورد استفاده، آغازگر ISSR۳ بیشترین

جدول ۲- شاخص‌های تنوع ژنتیکی حاصل از نشانگر ISSR برای درختان آسیب‌دیده و سالم بلوط ایرانی

نام آغازگر	جامعه درختان سالم			جامعه درختان آسیب‌دیده			تفاوت بین فاصله ژنتیکی Nei
	تعداد مؤثر آلل‌ها (N _e)	تنوع ژنتیکی کل (H)	شاخص شانون	تعداد مؤثر آلل‌ها (N _e)	تنوع ژنتیکی کل (H)	شاخص شانون	
IS1	۱/۸۵	۰/۴۵	۰/۶۵	۱/۷۷	۰/۴۳	۰/۶۲	۰/۱۸
IS2	۱/۵۶	۰/۳۰	۰/۴۳	۱/۶۲	۰/۳۴	۰/۵۰	۰/۰۴
IS3	۱/۶۶	۰/۳۷	۰/۵۴	۱/۵۹	۰/۳۳	۰/۴۹	۰/۰۱
IS4	۱/۸۵	۰/۴۵	۰/۶۴	۱/۷۱	۰/۳۸	۰/۵۳	۰/۰۳

نتایج آنالیز خوشه‌ای با استفاده از تمام آغازگرهای بررسی شده نشانگر مولکولی ISSR نیز نشان داد که پایه‌های بلوط سالم و آسیب‌دیده نتوانستند با این نشانگر به‌طور کامل تفکیک شوند (شکل ۱). اما آغازگر IS1 و IS2 از بین دیگر آغازگرهای مورد استفاده عملکرد بهتری نشان دادند و از قدرت تفکیک بهتری برخوردار بودند و توانستند پایه‌ها را با صحت ۹۵/۲ درصد از هم جدا کنند. نتایج آنالیز تابع تشخیص نیز نشان داد که دو آغازگر IS1 و IS2 دارای درصد صحت ۸۳/۷ درصد و ۷۰ درصد بودند و نسبت به دیگر آغازگرهای استفاده شده، بهتر توانستند دو جامعه سالم و آسیب‌دیده را از هم تفکیک کرده است.

تفاوت ژنتیکی بین دو جمعیت سالم و آسیب‌دیده با استفاده از آنالیز Nei برای هر چهار آغازگر مورد استفاده (IS1، IS2، IS3 و IS4) نشان داد که آغازگر IS1 بیشترین فاصله ژنتیکی و آغازگر IS3 کمترین فاصله ژنتیکی را دارد، اما در مجموع فاصله ژنتیکی بین آنها کم و میانگین آن ۰/۰۸ بود (جدول ۲). در تأیید نتایج Nei، نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) هم نشان داد که مقدار تنوع درون جمعیتی بیشتر از تنوع بین جمعیتی است و ۹۳/۱۷ درصد از تنوع در درون جمعیت و تنها ۶/۸۲ درصد از تنوع در بین جمعیت‌ها (FST) وجود دارد و آغازگر IS1 بیشترین مقدار FST (۰/۱۸) را بین جوامع سالم و آسیب‌دیده بلوط ایرانی نشان داد.



شکل ۱- نمودار درختی یا دندروگرام گروه‌های به‌دست‌آمده درختان آسیب‌دیده (D) و سالم (H) با استفاده از ضریب تشابه جاکارد و الگوریتم UPGM بر اساس نشانگر ISSR

تنوع ژنتیکی گونه بلوط ایرانی با استفاده از نشانگر EST-SSR

نتایج حاصل از پنج آغازگر مختلف EST-SSR، ۱۹ آلل را با میانگین ۳/۴ آلل برای هر جایگاه ژنی^۱ نشان داد. بیشترین تعداد آلل (۴) در نشانگرهای FIR031، FIR039 و FIR048 و کمترین تعداد آلل (۲) در نشانگر VIT107 دیده شد. نتایج تنوع ژنتیکی موجود در گونه بلوط ایرانی که شامل تعداد آلل، تعداد آلل مؤثر و میانگین هتروزیگوسیتی بود، در آغازگرهای مختلف با هم متفاوت بودند، به طوری که آغازگر VIT107 کمترین مقدار و آغازگر FIR031 بیشترین مقدار تنوع ژنتیکی را از نظر تعداد آلل مؤثر و میانگین هتروزیگوتی نشان دادند. شاخص اطلاعات چندشکل (۰/۷۴) نیز در آغازگر FIR031 بیشترین مقدار آغازگرهای بررسی شده بود. گونه بلوط ایرانی با استفاده از همه آغازگرها نقص هتروزیگوتی را نشان داد و آغازگرهای FIR039 و VIT107 دارای ۱۰۰ درصد نقص هتروزیگوتی بودند (جدول ۳). در این تحقیق صرف نظر از دو نشانگر FIR039 و VIT107

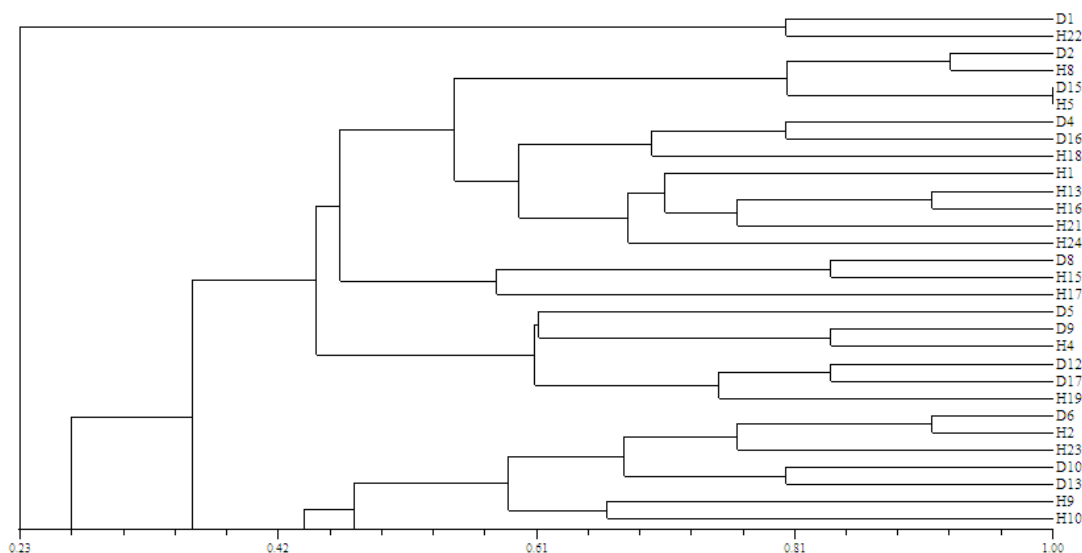
که مونومورفیک بودند، FIR048 از بقیه نشانگرها انحراف کمتری داشت و نقص هتروزیگوتی در این مکان ژنی نیز کمتر از بقیه بود (جدول ۳). مقایسه تنوع ژنتیکی دو جمعیت نشان داد که تنوع ژنتیکی جمعیت درختان سالم، کمی بیشتر از درختان آسیب دیده بود، اما تعداد آلل مشاهده شده در هر دو جامعه یکسان بود (جدول ۳). تفاوت ژنتیکی بین جوامع سالم و آسیب دیده (FST) نیز کم بود؛ برعکس جریان ژن بین جوامع با استفاده از تمامی آغازگرهای بررسی شده زیاد بود. آغازگر FIR031 بیشترین مقدار FST (۰/۰۲) و آغازگر FIR053 کمترین مقدار را نشان دادند (جدول ۳). همچنین در تأیید نتایج AMOVA، آغازگر FIR031 بیشترین فاصله ژنتیکی Nei و آغازگر FIR053 کمترین فاصله را بین درختان سالم و آسیب دیده نشان دادند (جدول ۳). براساس آنالیز تابع تشخیص نیز درختان آسیب دیده و سالم با صحت ۷۰ درصد توسط آغازگر FIR031 از یکدیگر تفکیک شدند.

جدول ۳- شاخص های تنوع ژنتیکی حاصل از نشانگر EST-SSR برای درختان آسیب دیده و سالم بلوط ایرانی

میانگین درختان آسیب دیده	میانگین درختان سالم	میانگین کل	آغازگرهای مختلف نشانگر EST-SSR					شاخص های تنوع ژنتیکی
			VIT107	FIR053	FIR048	FIR039	FIR031	
۳/۴	۳/۴	۳/۴	۲	۳	۴	۴	۴	تعداد آلل (N_a)
۲/۵۹	۲/۸۵	۲/۸۱	۱/۹۹	۲/۸۷	۲/۸۰	۲/۴۹	۳/۸۸	تعداد آلل مؤثر (N_e)
-	-	۰/۶۳	۰/۵۰	۰/۶۵	۰/۶۴	۰/۶۱	۰/۷۴	شاخص اطلاعات چندشکل (PIC)
۱/۰۲	۱/۱۰	۱/۰۸	۰/۶۹	۱/۰۷	۱/۱۸	۱/۱۰	۱/۳۷	شاخص شانون
۰/۶۳	۰/۶۰	۰/۶۱	۰/۴۹	۰/۶۵	۰/۶۳	۰/۵۸	۰/۷۱	هتروزیگوتی مورد انتظار (H_e)
۰/۱۰	۰/۱۳	۰/۱۱	۰	۰/۱۸	۰/۲۰	۰	۰/۱۶	هتروزیگوتی مشاهده شده (H_o)
-	-	۲۰/۷۶	۲۰/۹۹	۱۴۸/۳۰	۳۴/۲۹	۳۴/۳۶	۸/۴۴	جریان ژن (N_m)
۰/۸۵	۰/۸۱	۰/۸۳	۱	۰/۷۱	۰/۶۷	۱	۰/۷۸	نقص هتروزیگوتی (Fis)
-	-	۰/۰۱۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۷	۰/۰۲	تفاوت ژنتیکی بین جوامع (Fst)
-	-	۰/۰۳۸	۰/۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۱۳	فاصله ژنتیکی Nei

کامل از یکدیگر جدا کند، نسبت به نشانگر ISSR از قدرت تفکیک بیشتری برخوردار بود (شکل ۲).

با اینکه آنالیز خوشه‌ای با استفاده از تمام آغازگرهای نشانگر EST-SSR همانند نشانگر ISSR نتوانست پایه‌های بلوط سالم و آسیب‌دیده را به‌طور



شکل ۲- نمودار درختی یا دندروگرام گروه‌های به‌دست‌آمده درختان آسیب‌دیده (D) و سالم (H) با استفاده از ضریب شباهت جاکارد و الگوریتم UPGM براساس نشانگر EST-SSR

تنوع ژنتیکی زیادی در منطقه دارند. آغازگر IS1 بیشترین تنوع ژنتیکی کل (۰/۴۸) و شاخص شانون (۰/۶۷) و تعداد آلل مؤثر را نشان داد. آلل‌های مؤثر (Ne) یعنی آلل‌هایی که فراوانی برابری داشته و توزیع مطلوبی دارند. این شاخص عکس هموزیگوتی مورد انتظار است و از آنجا که کمتر به‌اندازه نمونه حساس است، در تحقیقات ژنتیکی کاربرد دارد (Kimura & Crow, 1963). متوسط تنوع ژنتیکی کل و شاخص اطلاعات شانون نیز نشان داد که جمعیت بلوط ایرانی از تنوع ژنتیکی مطلوبی برخوردار بود. تنوع ژنتیکی زیاد در گونه‌های *Quercus* احتمالاً به‌دلیل سیستم تلاقی آنها (دگرلقاحی)، فاصله کم میان توده‌ها، پراکنش جغرافیایی وسیع، عمر زیاد و لقاح میان گونه‌های مختلف در یک توده است (Lopez-Aljorna et al., 2007; Shabanian et al., 2015). Shabanian et al. (2015) نیز میانگین تنوع ژنتیکی برآورد شده در ژنوتیپ‌های بلوط ایرانی زاگرس شمالی

بحث

براساس نتایج نشانگر ISSR، درصد چندشکلی در نشانگرهای استفاده‌شده زیاد (۹۵/۸۳ درصد) بود. درصد چندشکلی توانایی جداسازی و تفکیک نشانگر را براساس تعداد نشان می‌دهد که هرچه مقدار آن بیشتر باشد نمایانگر قدرت تمایز بیشتر نشانگر و نشان‌دهنده توانایی بیشتر آن در تعیین تنوع ژنتیکی است. درصد باندهای چندشکل ملاک تعیین مقدار تنوع ژنتیکی و فرسایش ژنتیکی است که در سازگاری محیطی تأثیر مهمی دارد (Hao et al., 2006). نتایج تحقیقات (Shabanian et al., 2015) و Huang et al. (2008) نیز به چندشکلی زیاد نشانگرهای ISSR بین ۸۰ تا ۹۰ درصد اشاره دارد که با توجه به نتایج این تحقیق از یک طرف می‌توان گفت که آغازگرهای ISSR مورد استفاده در این تحقیق مناسب بودند و از طرف دیگر درختان بلوط

شاخص‌های ژنتیکی به‌دست‌آمده از آغازگرهای مختلف EST-SSR اعم از تعداد آلل (۳)، میانگین هتروزیگوتی (۰/۶) و نقص هتروزیگوتی زیاد به‌ویژه در آغازگرهای FIR039 و VIT107 نشان دادند که تنوع ژنتیکی در این جایگاه‌های ژنی جمعیت بلوط ایرانی مورد تحقیق اندک است. (Sullivan et al., 2013).
تحقیق خود میانگین هفت آلل را با همین آغازگرها در جوامع مختلف *Q. rubra* L.، *Q. coccinea* Muenchh.، *Q. ellipsoidalis* E.J.Hill و *Q. velutina* Lam. و همچنین Lind & Gailing (2013) یازده آلل را برای گونه‌های *Q. rubra* و *Q. ellipsoidalis* گزارش کردند. البته اندازه نمونه، میزان تنوع در نمونه‌ها، روش آشکارسازی و ارزیابی اندازه قطعات از جمله عوامل اختلاف در تعداد آلل‌ها در آزمایش‌های مختلف است. این اختلاف بیشتر ممکن است به‌دلیل تعداد نمونه کمتر در تحقیق حاضر باشد. همچنین میانگین هتروزیگوتی مشاهده‌شده در جوامع مختلف *Q. rubra*، *Q. ellipsoidalis* و *Q. coccinea* (Sullivan et al., 2013) (۰/۶۰ و ۰/۶۷، ۰/۶۰، ۰/۷۰) و در گونه‌های بلوط ایتالیا شامل *Q. pubescens*، *Q. frainetto* و *Q. petra* حدود ۰/۶۵ تا ۰/۷۲ گزارش شد و نقص هتروزیگوتی نیز وجود نداشت (Antonecchia et al., 2015). انحراف از قانون هاردی-واینبرگ در لوکوس VIT107 در جمعیت *Q. coccinea* به‌علت هموزیگوتی بیش از حد مشاهده شد (Lind & Gailing, 2013). از طرف دیگر به‌دلیل نقص هتروزیگوتی زیاد لوکوس FIR039 و مونومورفیک بودن آن می‌توان پیش‌بینی کرد که سازگاری درختان بلوط ایرانی در این منطقه نسبت به تغییرات اقلیمی و گرم شدن کره زمین کاهش یافته است، زیرا جایگاه ژنی این لوکوس با مقاومت به تنش خشکی ارتباط دارد (Sridha & Wu, 2006).
زیادتر بودن تنوع ژنتیکی جمعیت درختان سالم در این تحقیق با استفاده از هر دو نشانگر و نیز بیشتر

را براساس نشانگر ISSR حدود ۰/۲ گزارش کردند. این میانگین کمتر از تنوع ژنتیکی در این تحقیق است که ممکن است به‌دلیل اندازه جمعیت بزرگ‌تر و تعداد بیشتر درختان بلوط ایرانی در زاگرس جنوبی نسبت به زاگرس شمالی باشد که در نتیجه امکان دگرلفاحی در آنها بیشتر است.

همچنین بیشترین فاصله ژنتیکی Nei و FST بین درختان سالم و آسیب‌دیده را آغازگر IS۱ نشان داد، هرچند که مقدار FST بین آنها کم (۷ درصد) بود. (Shabanian et al., 2015) در پژوهش تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بلوط ایرانی بین دو منطقه مریوان و بانه را با نشانگر ISSR، شاخص تمایز بین جمعیت‌ها را ۲۳ درصد گزارش کردند. دلایل تفاوت ژنتیکی کم دو جامعه سالم و آسیب‌دیده بلوط ایرانی را می‌توان اشتقاق از نیای مشترک و بعد ادامه حیات در یک رویشگاه و شرایط اقلیمی مشابه و جریان زیاد ژن و تلاقی بین آنها یا هر سه عامل یادشده دانست (Lopez-Aljorna et al., 2007). اگر مبادله ژن بین دو جمعیت بیشتر باشد (از طریق انتشار دانه گرده با بذر)، به مرور زمان این دو جمعیت شباهت بیشتری به هم پیدا می‌کنند. (Salehi Shanjani et al., 2009).
نیز مقدار FST درختان راش خوش‌فرم و بدفرم را بین ۱۳ تا ۲۲ درصد بیان کردند و اظهار داشتند که ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها تحت تأثیر عوامل پیش‌بینی‌ناپذیر مثل جهت باد در زمان گرده‌افشانی نیز ممکن است سال‌به‌سال متفاوت باشد. از طرف دیگر دلیل تفاوت ژنتیکی زیاد جوامع در تحقیق آنها نسبت به تحقیق حاضر، ممکن است نمونه‌برداری از دو رویشگاه مختلف (گیلان و مازندران) باشد. در این زمینه ژنوتیپ‌ها یا درختان سالم و آسیب‌دیده نیز در دندروگرام کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند که نشان‌دهنده وجود آلل‌های مشترک بین آنها به‌دلیل پدیده جریان ژنی بین جمعیت‌های درختان آسیب‌دیده و سالم و نیز قرار گرفتن جمعیت‌ها در یک منطقه و داشتن شرایط اقلیمی مشابه است (Bacilieri et al., 1996).

تفکیک درختان سالم و آسیب‌دیده نشان می‌دهد که این درختان از نظر اندازه رشد و پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو زنده و غیرزنده با هم تفاوت دارند (Durand et al., 2010).

نتیجه‌گیری

مطالعات مولکولی با استفاده از دو نشانگر ISSR و EST-SSR نشان داد که تفاوت ژنتیکی در دو جمعیت درختان سالم و آسیب‌دیده در این تحقیق به دلیل جریان ژن زیاد در این گونه و نیز واقع بودن دو جمعیت درختان سالم و خشکیده در یک منطقه، بسیار پایین است. اما برخی آغازگرها مانند آغازگر ISSR1 و آغازگر FIR031 از نشانگر مولکولی EST-SSR توانستند تا حدی درختان سالم و آسیب‌دیده را از یکدیگر تفکیک کنند. بنابراین از این آغازگرها می‌توان در برنامه‌ریزی اصلاحی برای شناسایی درختان برتر و سازگار به تنش خشکی در بذرگیری و ایجاد باغ بذر استفاده کرد. همچنین نتایج دو نشانگر مولکولی بارز و هم‌بارز بررسی شده نشان داد که درختان سالم تنوع ژنتیکی بیشتری از درختان آسیب‌دیده دارند که نشان‌دهنده اهمیت تنوع ژنتیکی در سازگاری به تنش‌های محیطی است. از طرف دیگر نقص هتروزیگوتی موجود در نشانگرهای EST-SSR نشان داد که باید به تنوع ژنتیکی گونه بلوط ایرانی توجه بیشتری شود و حفاظت درون‌رویشگاهی^۱ به صورت ذخیره‌گاه جنگلی در مورد توده‌های بلوط ایرانی با ارزش ژنتیکی زیاد انجام شود.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی با عنوان «مطالعه الگوی فنوتیپی و ژنتیکی درختان سالم و خشکیده درختان بلوط ایرانی و ارائه راهکار مناسب» توسط اداره کل منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویراحمد حمایت مالی شد.

بودن مقدار هتروزیگوتی مشاهده شده جامعه درختان سالم (۰/۱۳) نسبت به آسیب‌دیده (۰/۱۰) با گزارش‌های Nowakowska & Oszako (2008) درباره توده‌های راش همخوانی دارد. آنها نیز مشاهده کردند که مقدار هتروزیگوتی در درختان راش سالم (۰/۲۴) بیشتر از درختان راش آسیب‌دیده (۰/۱۱) بود. همچنین درختان سالم راش حدود ۵۰ درصد تنوع ژنتیکی بیشتر و نقص هتروزیگوتی کمتر داشتند. اختلاف کمتر در نتایج این تحقیق بین جمعیت سالم و آسیب‌دیده ممکن است به دلیل قرار گرفتن درختان سالم و آسیب‌دیده در یک منطقه با شرایط محیطی یکسان باشد.

بیشترین مقدار تفاوت ژنتیکی (FST) بین جوامع سالم و آسیب‌دیده در آغازگر FIR031 (۰/۰۲) و کمترین مقدار در آغازگر FIR053 (۰/۰۰۱) مشاهده شد. Sullivan et al. (2013) نیز مقدار FST را به ترتیب ۰/۰۸، ۰/۲۵، ۰/۰۳، ۰/۱۵ و ۰/۰۸ برای FIR031، FIR039، FIR048، FIR053 و VIT107 به دست آوردند. (Owusu et al. (2015) در تحقیق خود مقدار FST را برای لوکوس‌های FIR039 و FIR053 به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۱۳ بین چهار گونه بلوط آمریکا گزارش کردند. هرچند تفاوت ژنتیکی بین جامعه سالم و خشکیده (FST) در تحقیق حاضر بسیار کمتر از تحقیقات دیگر است، زیرا تفاوت بین افراد یک گونه است. همچنین کمتر بودن مقدار FST در لوکوس FIR053 نسبت به لوکوس FIR039 با یافته‌های آنها مطابقت داشت. آنها بیان داشتند که لوکوس FIR039 می‌تواند نسبت به دیگر لوکوس‌ها گونه‌های مختلف بلوط را از هم جدا کند. همچنین این لوکوس اثر مهمی در مقاومت به تنش خشکی داشت. از طرف دیگر Lind & Gailing (2013) نیز مقدار FST را برای نشانگر FIR048 در دو گونه *Q. ellipsoidalis* و *Q. rubra* به ترتیب ۰/۰۰۷ و ۰/۰۱ گزارش کردند که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

آغازگر FIR031 به‌عنوان بهترین آغازگر در

References

- Amir Ahmadi, B., Zolfaghari, R., Mirzaei, M.R. (2015). Relation between Dieback of *Quercus brantii* Lindl. Trees with Ecological and Sylvicultural Factors, (Study Area: Dena Protected Area). *Ecology of Iranian Forest*, 3(6), 19-27.
- Antonecchia, G., Fortini, P., Lepais, O., Gerber, S., Legér, P., Scippa, G.S., & Viscosi, V. (2015). Genetic structure of a natural oak community in central Italy: Evidence of gene flow between three sympatric white oak species (*Quercus*, Fagaceae). *Annals of Forest Research*, 58(2), 205-216.
- Bacilieri, R., Ducouso, A., Petit, R.J., & Kremer, A. (1996). Mating system and asymmetric hybridization in a mixed stand of European oaks. *Evolution*, 1, 900-908.
- De La Cruz, M., Ramirez, F., & Hernandez, H. (1997). DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15, 319- 325.
- Durand, J., Boden es, C., Chancerel, E., Frigerio, J.M., Vendramin, G., Sebastiani, F., Buonamici, A., Gailing, O., Koelewijn, H.P., Villani, F., Mattioni, C., Cherubini, M., Goicoechea, P.G., Herran, A., Ikarán, Z., Caban, C., Ueno, S., Alberto, F., Dumoulin, P.Y., Guichoux, E., de Daruvar, A., Kremer, A., & Plomion, C. (2010). A fast and cost-effective approach to develop and map EST-SSR markers: oak as a case study. *BMC Genomics*, 11, 570
- Greet, B.D., Triest, L., Cuyper, B.D., & Slyckens, J.V. (1998). Assessment of intra-specific variation in half-sibs of *Quercus petraea* (Matt) Liebl. plus trees. *Heredity*, 81(3), 284-290.
- Hao, B., Li, W., Linchun, M., Li, Y., Rui, Z., Mingxia, T., & Weikai, B. (2006). A study of conservation genetics in *Cupressus chengiana*, an endangered endemic of China, using ISSR markers. *Biochemical genetics*, 44(1-2), 29-43.
- Huang, Y., Ji, K., Jiang, Z., & Tang, G. (2008). Genetic structure of *Buxus sinica* var. *parvifolia*, a rare and endangered plant. *Scientia horticulturae*, 116(3), 324-329.
- Kimura, M., & Crow, J.F. (1963). The measurement of effective population number. *Evolution*, 17(3), 279-288.
- Lind, J.F., & Gailing, O. (2013). Genetic structure of *Quercus rubra* L. and *Quercus ellipsoidalis* EJ Hill populations at gene-based EST-SSR and nuclear SSR markers. *Tree genetics and genomes*, 9(3), 707-722.
- Lopez-Aljorna, A., Bueno, M.A., Aguinagalde, I., & Martin, J.P. (2007). Fingerprinting and genetic variability in cork oak (*Quercus suber* L.) elite trees using ISSR and SSR markers. *Annals of Forest Science*, 64(7), 773-779.
- Maroufzadeh, E., & Attarod, P. (2021). Are variations of forest vegetation consistent with trends of meteorological parameters in the northern Zagros region of Iran?. *Iranian Journal of Forest*, 12(4), 449-466.
- Nowakowska, J.A., & Oszako, T. (2008). Health condition and genetic differentiation level of beech in the Siewierz Forest District assessed with cpDNA markers. *Sylvan*, 9, 11-20.
- Owusu, S.A., Sullivan, A.R., Weber, J.A., Hipp, A.L., & Gailing, O. (2015). Taxonomic relationships and gene flow in four North American *Quercus* species (*Quercus section* Lobatae). *Systematic Botany*, 40(2), 510-521.
- Salehi Shanjani, P., Asareh, M.H., & Calagari, M. (2009). Study of molecular and morphological characteristics of seeds from forked and unforked trees beech (*Fagus orientalis* Lipsky). *Iranian Journal of Forest*, 1(4), 361-377.
- Shabanián, N., Alikhani, L., Badakhshan, H., & Rahmani, M.S. (2015). Assessment of diversity in *Quercus brantii* populations of the north Zagros forests using morphological and molecular ISSR and IRAP markers. *Iranian Journal of Forest*, 6(3), 321-338.

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(2), 452-460.

Sridha, S., & Wu, K. (2006). Identification of AtHD2C as a novel regulator of abscisic acid responses in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 46(1), 124-133.

Sullivan, A.R., Lind, J.F., McCleary, T.S., Romero-Severson, J., & Gailing, O. (2013). Development and characterization of genomic and gene-based microsatellite markers in North American red oak species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 31(1), 231-239.

Zolfaghari, R., Akbarinia, M., Mardi, M., & Ghanati, F. (2008). Genetic diversity in Persian oak (*Quercus brantii* Lindl) from Kohkiluye and Boyerahmad using SSR. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 16(2), 172-181.



Research Article

Assessment of genetic structure in healthy and declined population of *Quercus brantii* Lindl. using EST-SSR and ISSR markers

Z. Karimi¹, R. Zolfaghari^{2*}, P. Fayyaz², and J. Rahimian³

¹M.Sc. Student of Forestry, Faculty of Agricultural and Natural resources, Yasouj University, I. R. Iran

²Associate Prof., Dept. of Forestry, Faculty of Agricultural and Natural resources, Yasouj University, I. R. Iran

³Natural Resource Office, Yasuj, I. R. Iran

(Received: 7 May 2021, Accepted: 24 July 2021)

Abstract

Drought as a primary factor along with other secondary factors such as outbreaks of pests and diseases as well as fires in recent decades in the Zagros forests have destroyed many trees, especially *Quercus brantii* as dominant tree species in Zagros forests.. So, genetic variability of 51 healthy and declined trees of *Quercus brantii* in Khaeez forests was evaluated by two molecular markers; 4 and 5 primers of EST-SSR and ISSR markers, and 28 and 15 band fragments were amplified, respectively. Results of ISSR markers showed that polymorphism percentage and genetic diversity of all *Q. brantii* trees were 95.83% and 0.40, respectively and genetic diversity value was higher in healthy trees population than declined. Also, only 6.82 of genetic differentiation was observed between two populations of healthy and declined trees based on molecular variance analysis (AMOVA). ISSR1 showed the highest accuracy (83.3%) for distinctive healthy and declined trees compared to other ISSR primers. Results of EST-SSR also showed higher heterozygosity in healthy trees and there was heterozygote deficiency *Q. brantii* by using all primers. Also, genetic differentiation was very low between healthy and declined trees and FIR031 showed the highest value compare to other primers. In conclusion, results suggest that genetic diversity had an important role in adaptation to drought stress of healthy *Q. brantii* trees. Moreover, using appropriate markers for identifying mother trees with high genetic value can be considered for improving the reforestation.

Keywords: Adaptation, Heterozygoty, Oak dieback, rehabilitation, Zagros forests.

