بررسی رابطهٔ بین تعداد نمونه و تنوع ژنتیکی راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky)

پروین صالحی شانجانی*[۱]، جوزپه جوانی وندرامین[۲] و محسن کلاگری[۳]

[۱]استادیار بانک ژن منابع طبیعی، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

[۲]استاد، انستیتو ژنتیک گیاهی، فلورنس، ایتالیا

[۳]استادیار گروه تحقیقات صنوبر و درختان سریع‌الرشد، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

(تاریخ دریافت: ۱۵/ ۴/ ۸۹، تاریخ پذیرش: ۱۱ / ۵ / ۹۰)

چکیده

دستیابی به تعداد نمونه، موضوع مهمی در پژوهش‌های تنوع ژنتیکی و برنامه‌های حفاظتی است. ارزیابی تعداد نمونهٔ لازم و کافی، به اطلاعات دقیقی در مورد تنوع و تمایز ژنتیکی نیاز دارد که به‌طور معمول در دسترس نیست. در این پژوهش تعداد نمونهٔ مورد نیاز برای برآورد دقیق تنوع ژنتیکی در سطح درختان بالغ و نتاج در یک جمعیت راش (*Fagus orientalis* Lipsky) در مرکز جنگل‌های خزری ایران بررسی شد. به این منظور ژنوتیپ ۳۵۰ درخت بالغ و ۴۸۰ بذر از ۶۰ درخت مادری به‌وسیله ۴ میکروساتلایت هسته‌ای تعیین شد. نتایج نشان داد که حدود ۳۰۰ درخت برای اندازه‌گیری صحیح غنای آللی یک توده مورد نیاز است. درصورتی‌که برای محاسبهٔ هتروزیگوتی مورد انتظار تعداد درخت کمتری (۳۰ درخت) کفایت می‌کند. از آنجا که بذرهای بررسی‌شده از ۵۰ درخت مادری (هر درخت حداقل ۸ بذر)، حدود ۹۰٪ از تنوع آللی موجود در تودهٔ مورد بررسی دربر دارند، بنابراین جمع‌آوری بذر حداقل از ۵۰ درخت از هر توده برای برنامه‌های حفاظتی توصیه می‌شود. با وجود اینکه اکثر آلل‌های موجود در درختان توده در بذرها نیز مشاهده شدند، ولی تنوع ژنتیکی بذرها به‌طور قابل توجهی کمتر از تنوع ژنتیکی درختان توده بود که نشان‌دهندهٔ اهمیت حفاظت از توده‌های طبیعی و حفاظت *in situ* است. این نتایج برای دیگر گونه‌های درختی که توزیع (گسترده)، روش ازدیاد (بادگرده افشان، انتشار بذرها به‌وسیلهٔ جاذبه)، تراکم (حدود ۴۰۰-۲۰۰ پایه در هکتار) و ساختار ژنتیکی مشابهی با راش دارند، قابل استفاده است.

واژه‌های کلیدی: راش (*Fagus orientalis* Lipsky)، تنوع ژنتیکی، میکروساتلایت، جمع‌آوری بذر.

*نویسندهٔ مسئول: تلفن: ۰۲۱ ۴۴۵۸۰۲۸۰ Email: psalehi@rifr-ac.ir

مقدمه و هدف

جنگل مهم‌ترین ذخیره‌گاه تنوع گونه‌های چوبی موجودات روی کرهٔ زمین است. پوشش گیاهی جنگل‌ها سبب بقای گسترهٔ وسیعی از موجودات می‌شود. در این بین درختان به‌علت طول عمر زیاد، دگرگشنی، ناهمگونی و گسترش در محیط‌های بسیار متغیر، مکانیسم‌های پیچیده‌ای را توسعه داده‌اند تا بتوانند گوناگونی درون‌گونه‌ای را در سطح بالایی حفظ کنند. تنوع در جنگل‌ها و گوناگونی ژنتیکی در درختان و درختچه‌ها برای سازگاری مستمر گونه‌ها به شرایط محیطی و نیز حفظ پتانسیل اصلاح ویژگی‌های مورد نظر انسان ضروری هستند. توانایی مستمر درختان جنگلی برای حمایت از عملکرد اکوسیستم و تأمین کالاها و خدمات مورد نیاز انسان به حفاظت از تنوع زیستی جنگل‌ها و مدیریت صحیح منابع ژنتیکی جنگل وابسته است (FAO, 2001).

اولین گام در طراحی یک برنامهٔ حفاظتی، تعیین اهداف حفاظتی است که به‌واسطهٔ آن تعداد بذری که باید جمع‌آوری شود و سطحی از تنوع ژنتیکی که باید حفاظت شود، مشخص می‌شود. مبنای اطلاعات مورد نیاز برای جمع‌آوری مؤثر بذر در هر دو برنامه‌های حفاظت *in situ* و *ex situ*، یکسان است. در هر دو مورد، حفظ بیشترین تنوع ژنتیکی موجود، اساس برنامه است، ولی در نهایت محدودیت‌های ساختاری و مالی تعیین‌کنندهٔ نوع و میزان تنوع ژنتیکی است که می‌توان در هر دو روش حفاظت *in situ* و *ex situ* جمع‌آوری و حفاظت کرد (Amaral *et al.*, 2004).

برای ارائه استراتژی‌های جمع‌آوری بذر در حفاظت *ex situ*، شناخت گسترهٔ پراکنش، جمعیت‌ها یا پرووانس‌های گونهٔ درختی مورد نظر (هدف) اهمیت دارد، زیرا با جمع‌آوری بذر از جمعیت‌ها و توده‌های مختلف می‌توان امکان احیای جمعیت‌های جنگلی محلی که تخریب‌یافته، یا برای حفاظت *in situ* در نظر گرفته‌شده را بالا برد (مهم‌ترین اصل در عملیات جنگلکاری استفاده از پرووانس‌های محلی است). در جمع‌آوری بذر از گونه‌های درختی هدف، علاوه بر اهمیت تعیین تعداد جمعیت در برنامهٔ حفاظت، تعداد درختی که در هر جمعیت باید بذرگیری شوند و تعداد بذری که از هر درخت باید جمع‌آوری شود نیز بسیار مهم است. تعداد درخت و میزان بذری که از هر جمعیت جمع‌آوری می‌شود باید به اندازه‌ای باشد که نمایندهٔ ساختار ژنتیکی آن جمعیت باشد. بنابراین در حفاظت ژنتیکی نه تنها به اثر تعداد بذر جمع‌آوری‌شده بر تنوع میان و درون جمعیتی باید توجه کرد، بلکه تأثیر تعداد بذر از هر درخت بر تنوع ژنتیکی نسل بعدی نیز نباید نادیده گرفته شود. انتخاب توده‌ها و درختانی که ارجحیت بیشتری برای بذرگیری دارند، به داشتن اطلاعاتی در زمینهٔ تفاوت‌های ژنتیکی جمعیت‌ها، ارزش بالقوهٔ آنها (برای مثال جمعیت‌هایی که از ویژگی متمایزی برخوردارند)، سطح آسیب‌پذیری جمعیت‌ها و نیز امکانات و محدودیت‌های جمع‌آوری و ذخیرهٔ بذر، نیاز دارد (Amaral *et al.*, 2004).

یکی از مهم‌ترین مباحثی که در بررسی گونه‌های گیاهی مورد غفلت واقع شده است، تعداد نمونهٔ کافی برای مطالعهٔ پارامترهای تنوع ژنتیکی است. مناسب‌ترین اندازهٔ نمونه‌برداری براساس قوانین آماری برای برآورد میانگین هر صفت در جمعیت، ۳۰ فرد است (Sjogren & Wyoni, 1994; Petit *et al.*, 1998). بسیاری از دانشمندان ژنتیک جمعیت گیاهی برای اطمینان از صحت برآورد تمامی پارامترهای ژنتیکی در هر جمعیت، به‌طور متوسط ۵۰ فرد را مطالعه می‌کنند. درحالی‌که برای برخی مطالعات از جمله بررسی سیستم تولید مثلی، آنالیز Parentage و منحنی‌های پراکنش گرده، تعداد نمونه یا اندازهٔ جمعیت مورد بررسی باید بیشتر از این تعداد باشد (Ritland *et al.*, 2002; Austerlitz *et al.*, 2004; Cavers *et al.*, 2005; Kalinowski *et al.*, 2007). Ohsawa *et al.* (2007) بیان کردند که عدم مشاهدهٔ ساختار فضایی ژنتیکی در برخی قطعه‌های نمونهٔ *Quercus crispula* به‌علت نمونه‌برداری محدود (کمتر از ۵۰ درخت) است. آنها معتقدند که پژوهش‌های وسیع جمعیت با حداقل ۵۰۰ فرد یا بیشتر، ارزش زیادی برای ارزیابی استراتژی‌های جمع‌آوری بذر دارد. Miyamoto *et al.* (2008) نیز با مطالعهٔ وسیع در یک تودهٔ بزرگ *Fraxinus excelsior* در فرانسه، تعداد نمونه بیش از ۳۰۰ فرد بالغ و کمتر از ۳۰ فرد را به‌ترتیب

برای برآورد درست غنای آللی و هتروزیگوسیتی مورد انتظار پیشنهاد کردند.

مبحث مهم دیگری که هنوز به‌درستی مورد بررسی قرار نگرفته، نقش برنامه‌های حفاظتی در تنوع ژنتیکی جمعیت‌های آینده است. به‌طوری که مشخص نشده است در عملیات جنگلکاری چه مقدار از تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی به توده‌های مصنوعی انتقال می‌یابد یا چه تعداد بذر از چند درخت باید جمع‌آوری شود تا حفظ تنوع ژنتیکی نسل‌های بعدی تضمین شود. از این نظر پژوهش‌های محدودی انجام شده است. تعیین جمعیت‌هایی که ارجحیت بیشتری برای حفاظت دارند، به‌طور معمول از طریق مطالعهٔ ژنوتیپ نمونه‌هایی از جمعیت‌های مختلف به‌وسیلهٔ یک یا چند نشانگر خنثی انجام می‌شود (Petit *et al.*, 1998). در مطالعهٔ تنوع ژنتیکی، از میان نشانگرهای مختلف، میکروساتلایت‌ها به‌دلیل پلی‌مورفیسم بالا و ویژگی هم‌بارزی نسبت به ایزوآنزیم‌ها و AFLP ترجیح داده می‌شوند (Zane *et al.*, 2002). در پژوهش‌هایی که برای تخمین تعداد نمونهٔ مناسب بر اساس برآورد مقادیر تنوع ژنتیکی انجام شده است، نه تنها به داشتن دانش اولیه در مورد فراوانی ژنوتیپی جمعیت‌ها، بلکه بر آگاهی از اطلاعات دقیقی از ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه نیز تأکید شده است (Cavers *et al.*, 2005; Ohsawa *et al.*, 2007).

راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky) در ترکیب و ساختار اکوسیستم‌های جنگلی خزری نقش مهمی بازی می‌کند و تا کنون گزارش‌هایی از مطالعهٔ تنوع و تمایز ژنتیکی جمعیت‌های خزری به‌وسیلهٔ نشانگرهای مختلف مشاهده شده است (Salehi shanjani *et al.*, 2002, 2004, 2008). به‌دلیل توجه روزافزون به حفاظت و احیاء این گونه به‌وسیلهٔ مراجع ذیربط، در این پژوهش سعی شد با مقایسهٔ سطوح و مقادیر مختلف نمونه‌برداری و بذرگیری به‌وسیلهٔ میکروساتلایت‌ها، استراتژی‌های مناسب بذرگیری از راش مورد بررسی و بحث قرار گیرد. این پژوهش به‌ویژه به سؤالات زیر پاسخ می‌دهد: ۱) نمونه‌برداری از چند درخت بالغ نشان‌دهندهٔ تنوع ژنتیکی واقعی یک جمعیت راش است؟، ۲) حداقل تعداد درخت مادری و حداقل تعداد بذر به ازاء هر درخت مادری، در نمونه‌برداری برای حفاظت و احیاء یک جمعیت چقدر است؟

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثر اندازهٔ جمعیت یا تعداد نمونهٔ مورد بررسی روی تنوع ژنتیکی، نمونه‌برداری از ۲۵ درخت (با قطر متوسط ۳۰-۴۰ سانتی‌متر) در یک جمعیت (در جنگل خیرود واقع در استان مازندران) به‌عنوان گروه پایه انجام شد، سپس با افزایش تعداد درختان به ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۳۵۰ درخت، ویژگی‌های ژنتیکی در هر گروه بررسی و مقایسه شد.

بررسی اثر مقدار بذرگیری در ساختار نسل آینده، از دو جهت مورد نظر قرار گرفت: الف) اثر تعداد درخت، ب) اثر تعداد بذر از هر درخت. برای مورد الف، در ابتدا بذرهای ۱۰ درخت مادری به‌عنوان گروه پایه جمع‌آوری شد، سپس با افزایش تعداد درختان مادری به ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درخت ویژگی‌های ژنتیکی بذرهای جمع‌آوری‌شده بررسی شد. برای بررسی مورد ب، تعداد ۴ بذر (۴S) و ۸ بذر (۸S) به ازاء هر درخت مادری در هر یک از گروه‌های درختان مادری ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ درختی، جمع‌آوری شد. در همهٔ نمونه‌برداری‌ها برای اینکه سطح احتمال تلاقی درون‌گروهی به حداقل رسانده شود، انتخاب درختان به‌طور تصادفی و با درنظر گرفتن حداقل فاصلهٔ ۳۰ متر بین درختان، صورت گرفت.

DNA کل از بذرها و جوانه‌های خواب درختان (۱۰۰ میلی‌گرم به‌عنوان مادهٔ اولیه) با استفاده از کیت Nucleospin plant (Germany, Macherey Negel) جداسازی شد. عصاره‌ها (یک میکرولیتر به ازای هر چاهک) به‌وسیلهٔ دستگاه الکتروفورز روی ژل آگارز ۱٪ (W/V) با نیروی برق ۱۰ ولت در سانتی‌متر به‌مدت یک ساعت و بافر ۵۰ x TEA حاوی ۰/۵ $mgml^{-1}$ (W/V) اتیدیوم‌برماید کنترل‌شده و ژل‌ها پس از عکس‌برداری با یک اسکنر UVP تجزیه شدند. میکروساتلایت‌های FS1-15، FS1-03، FS1-11 و FS3-04 (جدول ۱) ارائه‌شده توسط Pastorelli et al. (2003) به‌دلیل پلی‌مورفیسم بالا، مناسب تشخیص داده شدند و از طریق PCR تکثیر شدند.

برای تکثیر با PCR، ۱۰۰mM محلول Tris-HCl با pH=۹، محلول KCL ۵۰۰ mM؛ محلول $MgCl_2$ ۱۵mM؛ از هر اکسی‌نوکلئوزیدتری فسفات ۲۰۰µM؛ از هر پرایمر ۰/۴µM و Taq DNA polymeras (یک واحد) با حجم نهایی ۲۵ µl تهیه شد. پس از نگهداری محلول واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای 95^{o} C، این محلول در معرض چرخه‌های دمایی ۳۰ چرخه: 95^{o} C به مدت یک دقیقه، دمای اتصال (جدول ۱) به مدت یک دقیقه و 72^{o} C به‌مدت ۱ دقیقه قرار گرفت. سپس فرآورده‌های تکثیر در 72^{o} C به‌مدت ۸ دقیقه نگهداری شدند. در این کار از دستگاه PCR ساخت شرکت Perkin Elmer 9700 استفاده شد. طول قطعات تکثیرشده به‌وسیلهٔ توالی‌یاب خودکار (Alf Express, Pharmacia) اندازه‌گیری شد و نتیجه به‌وسیلهٔ برنامهٔ نرم‌افزاری (Fragment Manager 1.2 Pharmacia) بررسی شد.

- تجزیه و تحلیل آماری

پس از اینکه برای هر فرد، ژنوتیپ‌های دیپلوئید شماره‌گذاری و فراوانی‌های آللی محاسبه شد، مطالعهٔ تنوع ژنتیکی درختان خوش‌فرم و بدفرم راش با استفاده از نرم‌افزار GenALEx 6 (Peakal & Smouse, 2006) با معیارهایی چون میانگین تعداد آلل بر لوکوس *Na*، میانگین تعداد آلل‌های نادر بر لوکوس *Nr*، تعداد آلل‌های مؤثر *Ne*، هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده *Ho*، هتروزیگوسیتی مورد انتظار از معادلهٔ هاردی-وینبرگ *He*، ضریب خویش‌آمیزی یا اندیکس ثبوت *Fis* (Fixation Index) و مقدار انحراف جمعیت‌ها از معادلهٔ هاردی-وینبرگ، انجام گرفت.

جدول ۱- ویژگی‌های ۴ نشانگر میکروساتلایت هسته‌ای (Pastorelli *et al.*, 2003) به‌کاررفته برای بررسی تمایز درختان و بذرهای حاصل

لوکوس	توالی پرایمر 5'-3'	دمای اتصال (°C)	غلظت $MgCl_2$ (mM)	تکرار	اندازه آلل‌های مشاهده شده	تعداد آلل‌ها	Gene Bank Accession no.
FS1-15	TCAAACCCAGTAAATTTCTCA GCCTCAATGAACTCAAAAAC	۶۰	۲۵	$(GA)_{26}$	۱۳۳-۸۳	۱۲	AF528095
FS1-03	CACAGCTTGACACATTCCAAC TGGTAAAGCACTTTTTCCCACT	۶۰	۱۵	$(GA)_{18}$	۱۱۲-۸۶	۱۲	AF528090
FS1-11	TGAATTCAATCATTTGACCATTC GGAAGGGTGCTTCAATTTGG	۶۳	۲۵	$(GA)_{15}$	۱۲۰-۹۸	۹	AF528091
FS3-04	AGATGCACCACTTCAAATTC TCTCCTCAGCAACATACCTC	۶۰	۱۵	$(GCT)_5(GTT)_3(GCT)_6$	۲۰۴-۱۹۲	۴	AF528092

نتایج

- غنای آللی

تمام نمونه‌های درختی و بذری در کل ۶۴ آلل در ۴ لوکوس مورد بررسی نشان دادند که ۶۲ آلل در نمونه‌های درختی (۳۵۰ درخت) و ۵۶ آلل در نمونه‌های بذری (۴۸۰ بذر) مشاهده شد. به این ترتیب حدود ۹۳ درصد از آلل‌های موجود در خزانهٔ ژنی درختان توده در نمونه‌های بذری وجود داشت. ۲ آلل از دو لوکوس FS1-11 و FS3-04 تنها در نمونه‌های بذری وجود داشته و در نمونه‌های درختی مشاهده نشدند که احتمالاً در اثر انتقال گرده از جمعیت‌های مجاور به ذخیرهٔ ژنی بذرهای مورد بررسی نفوذ کردند. ۸ آلل از ۴ لوکوس مختلف در ذخیرهٔ ژنی درختان وجود داشتند که در هیچ‌کدام از بذرها مشاهده نشدند. مقایسهٔ فراوانی آلل‌ها حاکی از وجود شباهت بین آلل‌های فراوان مجموعهٔ درختی و بذر است (جدول ۲).

از ۶۲ آللی که در گروه نهایی درختان بالغ (با ۳۵۰ درخت) مشاهده شد، ۳۴ آلل در گروه پایه با ۲۵ درخت وجود داشتند (جدول ۲). افزایش قابل توجه تعداد آلل در گروه ۳۰۰ درختی نسبت به گروه پایهٔ ۲۵ درختی (۸۲ درصد) بسیار محسوس بود. همان‌گونه که در جدول ۳ و شکل ۱ مشاهده می‌شود با افزایش تعداد نمونه، میانگین تعداد آلل در لوکوس (*Na*) نیز افزایش می‌یابد. بیشترین میزان افزایش *Na* با افزایش تعداد نمونه از ۲۵ به ۵۰ درخت (*Na* از ۸/۵ آلل به ۱۰/۲۵ آلل افزایش یافت) و از ۵۰ به ۱۰۰ درخت (*Na* از ۱۰/۲۵ آلل به ۱۲/۲۵ آلل افزایش یافت) ثبت شد. درحالی که افزایش‌های بعدی روند

ثابتی داشتند و با افزایش هر ۵۰ درخت به جمعیت، *Na* فقط به اندازهٔ یک آلل افزایش یافت و در جمعیت ۳۵۰ درختی افزایشی مشاهده نشد. میزان تقریباً ثابت تعداد آلل و فراوانی آنها در دو گروه ۳۰۰ و ۳۵۰ درختی نشان داد که در جمعیتی با ۳۰۰ درخت، تمام آلل‌های موجود در جمعیت نمونه‌برداری شدند.

در گروه نهایی بذرها، که از ۶۰ درخت مادری جمع‌آوری شد (چهار بذر (4s) از هر درخت)، ۵۲ آلل مشاهده شد. هنگامی که تعداد بذر به ازای هر درخت مادری به ۸ بذر (8s) افزایش یافت (در ۴۸۰ بذر) تعداد آلل به ۵۶ رسید. تعداد آلل در لوکوس در گروه پایهٔ حاصل از ۱۰ درخت مادری برای گروه 4s، ۷ آلل و برای گروه 8s، ۸ آلل بود. با افزایش تعداد درخت مادری به ۲۰ درخت، تعداد آلل در لوکوس در گروه‌های 4s و 8s به‌ترتیب ۱۰ و ۱۱ آلل بود. این نتیجه نشان داد برای افزایش حضور تعداد آلل در گروه نتاج، نه‌تنها بذرها باید از درختان مادری بیشتری جمع‌آوری شود، بلکه تعداد بذر جمع‌آوری‌شده به ازای هر درخت نیز اثر محسوسی بر غنای آللی دارد (جدول ۳ و شکل ۱).

مقایسهٔ کل آلل‌های مشاهده‌شده در درختان توده‌های طبیعی و گروه‌های نتاج نشان داد که در دستهٔ بذر حاصل از ۵۰ درخت مادری (8s)، ۹۰ درصد از آلل‌های موجود در خزانه ژنی درختان توده وجود داشتند. به‌علاوه باید به این نکته توجه کرد که اگرچه تعداد آلل‌هایی که با جمع‌آوری بذر از ۶۰ درخت مادری برای 4s (۲۴۰ بذر) و یا ۳۰ درخت مادری برای 8s (۲۴۰ بذر) حفاظت می‌شود به‌طور تقریبی یکسان است ولی میانگین تعداد آلل‌های نادر در دستهٔ بذر 4s (۶۰ درخت × ۴ بذر) به طور محسوسی بیش از دستهٔ بذر 8s (۳۰ درخت × ۸ بذر) است به‌طوری‌که در اولی ۹/۵ آلل و در دومی ۷/۲۵ آلل وجود دارد (جدول ۳). این نتیجه بر اهمیت جمع‌آوری بذر از درختان بیشتر تأکید دارد. با این حال بررسی این نتایج نشان داد که حتی با افزایش تعداد درختان مادری و تعداد بذرها از هر درخت مادری، برخی آلل‌ها هرگز در نتاج مشاهده نمی‌شوند.

- تنوع ژنتیکی

برخلاف غنای آللی، روند تغییرات تعداد آلل موثر (*Ne*) و هتروزیگوتی (*He*) به‌عنوان معیارهای تنوع ژنتیکی در توده‌های طبیعی متفاوت است. در درختان بالغ مقدار آنها با افزایش اندازهٔ جمعیت تا ۱۵۰درخت کاهش می‌یابد و سپس روند تغییرات ثابت می‌ماند (جدول ۳ و شکل ۱). بنابراین در مطالعهٔ تنوع ژنتیکی، چنانچه تعداد نمونه کمتر از ۱۵۰ درخت باشد، باید به همگنی تعداد نمونهٔ جمعیت‌های مختلف اهمیت زیادی داد. در غیر این صورت مقایسهٔ جمعیت‌های مختلف با تعداد نمونهٔ متفاوت نتایج گمراه‌کننده‌ای به‌دست خواهد داد.

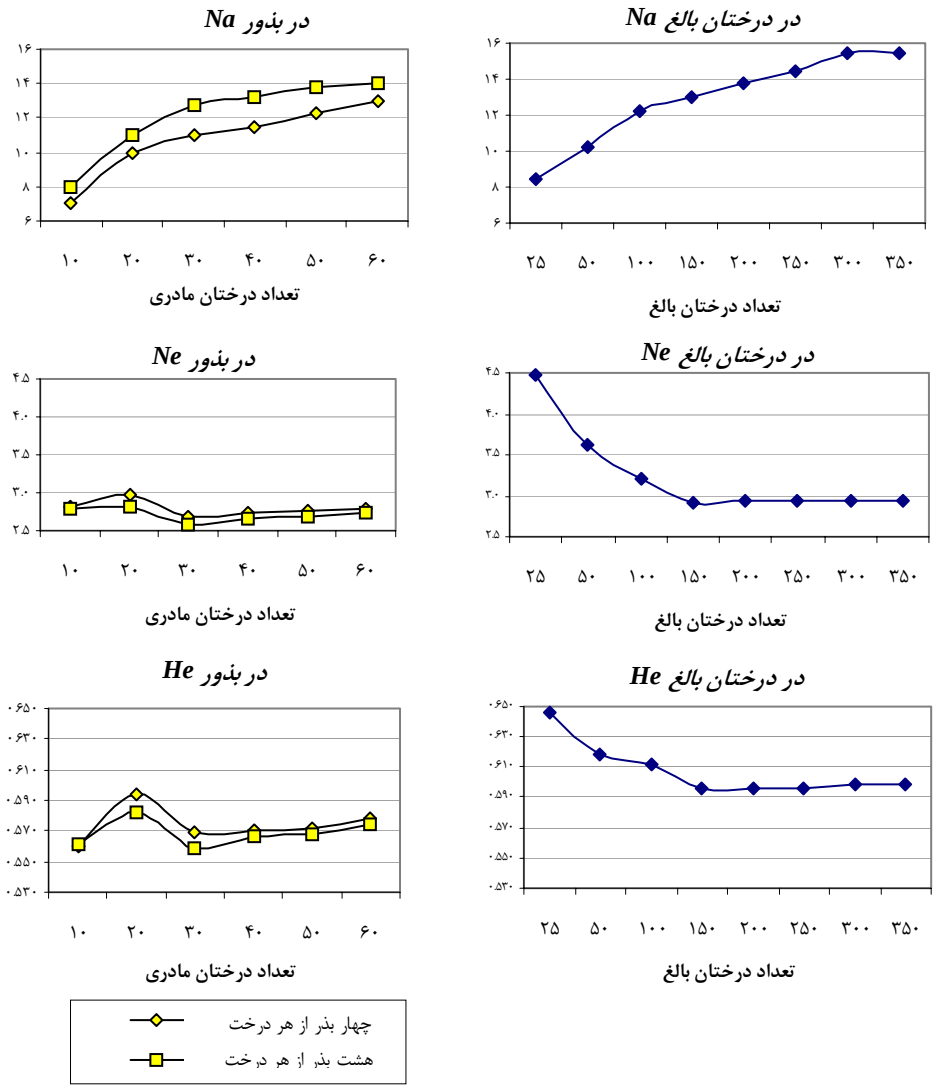
در گروه‌های نتاج، روند تغییرات *Ne* و *He* نیز همانند *Na*، با افزایش تعداد درخت مادری از ۱۰ به ۲۰ درخت، افزایشی بود، در حالی که با افزایش از ۲۰ درخت به ۳۰ درخت، کاهش شدیدی در *Ne* و *He* نتایج دیده شد. بعد از آن افزایش تعداد درختان مادری به افزایش نامحسوسی در *Ne* و *He* نتایج منجر شد. همانند نتایج حاصل از درختان، مقایسهٔ دستهٔ بذرهای مختلف با تعداد بذر متفاوت، نتایج نادرستی به‌دست خواهد داد.

مقدار خویش‌آمیزی یا شاخص ثبوت با افزایش تعداد نمونه در گروه‌های درختی به‌طور محسوسی کاهش می‌یابد (جدول ۳). درحالی که مقدار این ضریب در دستهٔ بذرهای مختلف با تعداد متفاوتی از درخت و بذر از روند خاصی پیروی نمی‌کند که حاکی از تصادفی بودن نمونه‌برداری و صحت آزمایش است.

جدول ۲- فراوانی آللی گروه‌های مختلف درختی و بذری در چهار لوکوس ماکروساتلایتی مورد بررسی

لوکوس	آلل	تعداد درختان بالغ								درخت × بذر*								درخت × بذر*							
		۲۵	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	۲۵۰	۳۰۰	۳۵۰	۴×۱۰	۴×۲۰	۴×۳۰	۴×۴۰	۴×۵۰	۴×۶۰	۸×۱۰	۸×۲۰	۸×۳۰	۸×۴۰	۸×۵۰	۸×۶۰
FS1-03	۶۹	–	–	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	۸۳	۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۱۵	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	۸۵	۰/۲۶۹	۰/۳۹۶	۰/۴۲۶	۰/۴۷۷	۰/۴۵۶	۰/۴۴۶	۰/۴۶۳	۰/۴۶۳	۰/۴۵۰	۰/۴۲۴	۰/۵۱۳	۰/۴۹۷	۰/۴۶۶	۰/۴۷۴	۰/۴۴۳	۰/۴۴۸	۰/۵۲۰	۰/۵۰۹	۰/۴۷۵	۰/۴۷۶
	۸۷	۰/۱۱۵	۰/۰۹۴	۰/۱۰۴	۰/۱۰۶	۰/۱۰۲	۰/۱۳۶	۰/۱۳۷	۰/۱۳۷	۰/۱۰۰	۰/۰۸۳	۰/۰۷۱	۰/۱۰۵	۰/۱۲۵	۰/۱۱۹	۰/۱۵۰	۰/۱۰۳	۰/۰۸۴	۰/۱۱۱	۰/۱۳۱	۰/۱۲۹
	۸۹	–	۰/۰۰۹	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	–	–	–	۰/۰۰۲	–	۰/۰۰۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴
	۹۱	۰/۰۵۸	۰/۰۷۵	۰/۰۶۰	۰/۰۴۵	۰/۰۳۳	۰/۰۲۸	۰/۰۲۳	۰/۰۲۳	۰/۱۲۵	۰/۱۰۴	۰/۰۸۵	۰/۰۶۳	۰/۰۵۵	۰/۰۵۱	۰/۱۱۴	۰/۰۸۷	۰/۰۷۷	۰/۰۵۶	۰/۰۴۸	۰/۰۴۲
	۹۳	–	–	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	–	۰/۰۲۱	۰/۰۱۳	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۹	–	۰/۰۱۶	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶
	۹۵	۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۲۲	۰/۰۱۵	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	–	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	–	۰/۰۱۲	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴
	۹۷	۰/۱۱۵	۰/۰۷۵	۰/۰۴۹	۰/۰۳۴	۰/۰۴۷	۰/۰۳۷	۰/۰۳۰	۰/۰۳۰	۰/۰۱۳	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۱۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
	۹۹	–	–	–	–	–	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	۱۰۱	۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۱۶	۰/۰۱۱	۰/۰۱۷	۰/۰۱۵	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	–	۰/۰۱۴	۰/۰۱۳	۰/۰۲۶	۰/۰۲۳	۰/۰۲۱	–	۰/۰۱۲	۰/۰۱۰	۰/۰۱۹	۰/۰۱۶	۰/۰۱۶
	۱۰۳	۰/۰۷۷	۰/۰۸۵	۰/۰۷۱	۰/۰۵۶	۰/۰۴۷	۰/۰۶۳	۰/۰۶۶	۰/۰۶۶	۰/۰۶۳	۰/۰۶۹	۰/۰۶۳	۰/۰۴۶	۰/۰۵۵	۰/۰۵۷	۰/۰۶۴	۰/۰۶۳	۰/۰۶۱	۰/۰۴۵	۰/۰۶۰	۰/۰۶۳
	۱۰۵	۰/۰۹۶	۰/۰۸۵	۰/۰۶۰	۰/۰۶۴	۰/۰۸۸	۰/۰۷۶	۰/۰۸۰	۰/۰۸۰	۰/۱۲۵	۰/۰۷۶	۰/۰۷۶	۰/۰۸۲	۰/۰۷۰	۰/۰۸۵	۰/۱۰۷	۰/۰۶۳	۰/۰۶۶	۰/۰۷۱	۰/۰۶۴	۰/۰۸۰
	۱۰۷	–	۰/۰۰۹	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۱۳	۰/۰۲۱	۰/۰۱۸	۰/۰۱۳	۰/۰۱۰	۰/۰۰۹	۰/۰۱۴	۰/۰۱۶	۰/۰۱۳	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۱۱
	۱۰۹	۰/۰۱۹	۰/۰۱۹	۰/۰۲۷	۰/۰۳۰	۰/۰۲۵	۰/۰۴۳	۰/۰۲۳	۰/۰۲۳	۰/۰۸۸	۰/۰۵۶	۰/۰۴۰	۰/۰۳۰	۰/۰۲۳	۰/۰۱۹	۰/۰۵۷	۰/۰۴۴	۰/۰۳۸	۰/۰۳۰	۰/۰۲۵	۰/۰۲۱
	۱۱۱	۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۳۸	۰/۰۴۹	۰/۰۵۵	۰/۰۴۳	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵	–	۰/۰۶۳	۰/۰۴۹	۰/۰۴۳	۰/۰۳۴	۰/۰۲۸	–	۰/۰۷۱	۰/۰۵۹	۰/۰۵۳	۰/۰۴۳	۰/۰۳۶
	۱۱۳	۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۰۵	۰/۰۱۹	۰/۰۱۴	۰/۰۱۱	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	۰/۰۱۳	۰/۰۰۷	۰/۰۰۹	۰/۰۱۰	۰/۰۱۰	۰/۰۰۹	۰/۰۱۴	۰/۰۰۸	۰/۰۱۳	۰/۰۱۱	۰/۰۱۰	۰/۰۰۹
	۱۱۵	–	–	–	۰/۰۰۸	۰/۰۳۳	۰/۰۳۹	۰/۰۳۷	۰/۰۳۷	۰/۰۱۳	۰/۰۰۷	۰/۰۰۹	۰/۰۳۹	۰/۰۷۰	۰/۰۷۴	۰/۰۱۴	۰/۰۱۲	۰/۰۱۰	۰/۰۴۳	۰/۰۷۴	۰/۰۷۶
	۱۱۷	–	۰/۰۰۹	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۶	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	–	۰/۰۳۵	۰/۰۲۲	۰/۰۲۰	۰/۰۳۴	۰/۰۳۲	۰/۰۰۷	۰/۰۲۸	۰/۰۱۸	۰/۰۱۵	۰/۰۲۲	۰/۰۲۲
	۱۱۹	۰/۱۳۵	۰/۰۸۵	۰/۰۴۹	۰/۰۳۴	۰/۰۲۸	۰/۰۲۲	۰/۰۲۰	۰/۰۲۰	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
	۱۲۱	–	–	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	–	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
	۱۲۳	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	۱۲۵	۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	–	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	–	–	–	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
	۱۲۹	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	۱۳۱	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
FS1-15	۱۹۲	–	۰/۰۱۰	۰/۰۰۶	۰/۰۱۵	۰/۰۱۱	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	–	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
	۱۹۵	–	–	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴
	۱۹۸	–	–	–	–	–	–	۰/۰۱۱	۰/۰۱۱	–	–	–	–	–	۰/۰۰۲	–	–	–	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۴
	۲۰۱	۰/۹۲۳	۰/۹۱۷	۰/۸۵۵	۰/۸۴۲	۰/۸۳۸	۰/۸۳۴	۰/۸۲۷	۰/۸۲۷	۰/۸۸۸	۰/۸۱۹	۰/۸۴۲	۰/۸۵۱	۰/۸۴۸	۰/۸۴۵	۰/۸۷۹	۰/۸۱۷	۰/۸۴۱	۰/۸۴۲	۰/۸۴۸	۰/۸۴۸
	۲۰۴	۰/۰۷۷	۰/۰۷۳	۰/۱۴۰	۰/۱۴۲	۰/۱۴۸	۰/۱۵۱	۱۵۰	۱۵۰	۰/۱۰۰	۰/۱۶۰	۰/۱۴۴	۰/۱۳۹	۰/۱۲۶	۰/۱۳۲	۰/۱۱۴	۰/۱۷۱	۰/۱۵۱	۰/۱۵۱	۰/۱۳۶	۰/۱۳۶
	۲۰۷	–	–	–	–	–	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	–	–	۰/۰۱۳	۰/۱۱	–	–	–	–	۰/۰۰۷	۰/۰۰۶
FS1-11	۹۲	–	–	۰/۰۲۹	۰/۰۲۰	۰/۰۱۴	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	۹۴	–	۰/۰۱۱	۰/۰۱۲	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
	۹۶	۰/۱۲۵	۰/۰۹۸	۰/۰۵۳	۰/۰۶۳	۰/۰۵۴	۰/۰۵۸	۰/۰۶۹	۰/۰۶۹	۰/۰۲۶	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۱۷	۰/۰۲۴	۰/۰۱۹	۰/۰۲۹	۰/۰۱۶	۰/۰۱۶	۰/۰۲۳	۰/۰۳۰	۰/۰۲۵
	۹۸	۰/۲۲۹	۰/۳۵۹	۰/۴۱۸	۰/۴۶۹	۰/۴۸۳	۰/۴۹۶	۰/۴۸۷	۰/۴۸۷	۰/۶۱۵	۰/۶۱۳	۰/۵۸۹	۰/۵۸۲	۰/۵۷۰	۰/۵۳۲	۰/۶۰۹	۰/۶۲۰	۰/۵۹۸	۰/۵۸۹	۰/۵۷۰	۰/۵۳۸
	۱۰۰	۰/۳۷۵	۰/۳۱۵	۰/۳۶۵	۰/۳۴۸	۰/۳۶۱	۰/۳۴۹	۰/۳۵۵	۰/۳۵۵	۰/۲۴۴	۰/۲۱۸	۰/۲۶۶	۰/۲۸۹	۰/۳۱۳	۰/۳۳۶	۰/۲۴۶	۰/۲۱۶	۰/۲۴۵	۰/۲۷۳	۰/۳۰۲	۰/۳۱۶
	۱۰۲	۰/۰۸۳	۰/۰۵۴	۰/۰۲۹	۰/۰۲۳	۰/۰۲۶	۰/۰۲۷	۰/۰۲۵	۰/۰۲۵	–	–	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۲۲	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۵	۰/۰۲۰
	۱۰۴	–	–	–	–	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵	۰/۰۲۶	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۱۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵
	۱۰۶	۰/۰۶۳	۰/۰۵۴	۰/۰۲۹	۰/۰۲۰	۰/۰۱۴	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	–	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۷	۰/۰۱۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷
	۱۰۸	۰/۰۴۲	۰/۰۲۲	۰/۰۱۲	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰۰۴	۰/۰۰۴	–	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۱۱	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۱۰
	۱۱۰	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲
	۱۱۲	–	۰/۰۲۲	۰/۰۱۲	۰/۰۱۲	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۶۴	۰/۰۴۲	۰/۰۳۳	۰/۰۲۷	۰/۰۲۱	۰/۰۲۴	۰/۰۷۲	۰/۰۵۲	۰/۰۴۳	۰/۰۳۵	۰/۰۲۷	۰/۰۳۱
	۱۱۴	۰/۰۴۲	۰/۰۳۳	۰/۰۱۸	۰/۰۱۶	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	۰/۰۰۹	–	۰/۰۱۴	۰/۰۱۹	۰/۰۱۴	۰/۰۱۳	۰/۰۱۱	–	۰/۰۱۶	۰/۰۱۹	۰/۰۱۴	۰/۰۱۲	۰/۰۱۰
	۱۱۶	–	–	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۳۵	۰/۰۲۳	۰/۰۲۰	۰/۰۱۶	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۰۳۲	۰/۰۲۴	۰/۰۱۹	۰/۰۱۵	۰/۰۱۷
	۱۱۸	۰/۰۱۱	–	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۱۳	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۱۴	۰/۰۱۲	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶
	۱۲۰	۰/۰۴۲	۰/۰۲۲	۰/۰۱۲	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	–	۰/۰۰۷	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴
	۱۲۲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	–	–	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
	۱۲۴	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	۰/۰۰۷	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴
FS3-04	۶۸	–	–	–	–	–	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	۸۴	۰/۰۹۶	۰/۰۶۶	۰/۰۴۹	۰/۰۳۳	۰/۰۳۰	۰/۰۲۴	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
	۸۶	۰/۳۶۵	۰/۴۲۵	۰/۴۸۴	۰/۴۹۶	۰/۵۰۰	۰/۴۹۶	۰/۴۲۸	۰/۴۲۸	۰/۴۵۰	۰/۴۸۶	۰/۴۸۶	۰/۴۷۳	۰/۵۰۰	۰/۵۰۰	۰/۴۷۹	۰/۵۱۲	۰/۵۲۹	۰/۴۹۴	۰/۵۱۸	۰/۵۱۵
	۸۸	۰/۰۱۹	۰/۰۳۸	۰/۰۴۳	۰/۰۵۹	۰/۰۴۳	۰/۰۳۸	۰/۰۴۲	۰/۰۴۲	۰/۱۳۸	۰/۰۹۷	۰/۰۸۱	۰/۰۶۳	۰/۰۵۳	۰/۰۵۰	۰/۱۱۴	۰/۰۹۱	۰/۰۷۳	۰/۰۵۵	۰/۰۵۴	۰/۰۴۳
	۹۰	۰/۰۱۹	۰/۰۰۹	۰/۰۲۲	۰/۰۱۵	۰/۰۱۶	۰/۰۱۳	۰/۰۱۱	۰/۰۱۱	–	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	–	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
	۹۲	۰/۱۱۵	۰/۱۰۴	۰/۱۱۴	۰/۱۲۹	۰/۱۴۱	۰/۱۷۵	۰/۱۶۸	۰/۱۶۸	۰/۰۷۵	۰/۱۱۱	۰/۱۴۷	۰/۱۲۲	۰/۱۳۷	۰/۱۲۵	۰/۱۰۷	۰/۱۲۷	۰/۱۲۴	۰/۱۵۳	۰/۱۳۷	۰/۱۲۶
	۹۴	۰/۰۹۶	۰/۰۸۵	۰/۰۷۱	۰/۰۵۵	۰/۰۷۳	۰/۰۶۸	۰/۰۶۱	۰/۰۶۱	۰/۱۱۳	۰/۰۹۷	۰/۰۶۳	۰/۰۵۰	۰/۰۵۳	۰/۰۵۶	۰/۱۰۰	۰/۰۸۷	۰/۰۶۰	۰/۰۵۳	۰/۰۵۱	۰/۰۵۴
	۹۶	۰/۰۳۸	۰/۰۱۹	۰/۰۱۱	۰/۰۰۷	۰/۰۲۲	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	–	۰/۰۹۷	۰/۰۹۰	۰/۰۳۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	–	–	۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۹
	۹۸	۰/۱۵۴	۰/۱۶۰	۰/۱۱۴	۰/۰۹۶	۰/۰۸۴	۰/۰۸۳	۰/۰۹۳	۰/۰۹۳	۰/۱۲۵	۰/۰۹۷	۰/۰۹۵	۰/۱۳۳	۰/۱۴۵	۰/۱۳۸	۰/۱۰۷	۰/۰۸۳	۰/۰۸۰	۰/۱۲۰	۰/۱۳۷	۰/۱۳۸
	۱۰۰	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۲۶	۰/۰۲۷	۰/۰۲۶	۰/۰۳۹	۰/۰۳۹	۰/۰۱۳	۰/۰۱۴	۰/۰۲۷	۰/۰۳۳	۰/۰۲۹	۰/۰۳۷	۰/۱۴	۰/۰۱۶	۰/۰۳۱	۰/۰۴۲	۰/۰۳۹	۰/۰۴۳
	۱۰۲	۰/۰۳۸	۰/۰۵۷	۰/۰۴۹	۰/۰۵۱	۰/۰۳۸	۰/۰۳۲	۰/۰۴۰	۰/۰۴۰	۰/۰۶۳	۰/۰۵۶	۰/۰۶۳	۰/۰۸۶	۰/۰۵۳	۰/۰۵۰	۰/۰۵۰	۰/۰۴۴	۰/۰۶۲	۰/۰۴۶	۰/۰۳۹	۰/۰۳۹
	۱۰۴	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	۰/۰۰۴	–	۰/۰۱۴	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۱۶	۰/۰۱۰	۰/۰۰۸	۰/۰۱۰	۰/۰۰۶
	۱۰۶	–	–	۰/۰۱۱	۰/۰۱۱	۰/۰۰۸	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	۰/۰۲۵	۰/۰۲۸	۰/۰۲۷	۰/۰۲۳	۰/۰۱۸	۰/۰۱۵	۰/۰۱۴	۰/۰۱۶	۰/۰۱۶	۰/۰۱۳	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹
	۱۱۰	–	–	–	–	–	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	–	–	–	–	۰/۰۱۱	–	–	–	–	–	۰/۰۰۷
	۱۱۲	–	–	–	–	–	–	–	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	–	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲
	۱۱۴	۰/۰۵۸	۰/۰۳۸	۰/۰۲۲	۰/۰۱۵	۰/۰۱۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۷	–	۰/۰۰۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۷	۰/۰۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۲	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱

*: تعداد درختان مادری × تعداد بذر از هر درخت



شکل ۱- مقدار *Na*، *Ne* و *He* در گروه‌هایی با تعداد متفاوت درخت و بذر بر اساس چهار لوکوس مورد بررسی

جدول ۳- برخی ویژگی‌های ژنتیکی گروه‌های مختلف درختی و بذری در چهار لوکوس ماکروساتلایتی مورد بررسی

تعداد درختان بالغ	۲۵	۵۰	۱۰۰	۱۵۰	۲۰۰	۲۵۰	۳۰۰	۳۵۰
Na	۸/۵	۱۰/۲۵۰	۱۲/۲۵۰	۱۲/۷۵۰	۱۳/۷۵۰	۱۴/۵۰۰	۱۵/۵۰۰	۱۵/۵۰۰
Ne	۴/۴۸۶	۳/۶۲۵	۳/۲۰۶	۲/۹۲۳	۲/۹۴۳	۲/۹۴۲	۲/۹۲۸	۲/۹۲۹
Nr	۳/۰۰	۵/۲۵۰	۸/۷۵۰	۸/۰۰	۱۰/۵۰۰	۱۱/۲۵۰	۱۲/۲۵۰	۱۲/۲۵۰
Ho	۰/۵۲۰	۰/۵۵۳	۰/۵۴۵	۰/۵۵۵	۰/۵۶۱	۰/۵۸۳	۰/۵۹۶	۰/۵۹۸
He	۰/۶۴۶	۰/۶۱۸	۰/۶۱۲	۰/۵۹۶	۰/۵۹۵	۰/۵۹۶	۰/۵۹۹	۰/۵۹۹
Fis	۰/۲۵۳**	۰/۱۲۴**	۰/۱۲۶**	۰/۰۷۰**	۰/۰۴۶	۰/۰۱۰	-۰/۰۰۸	-۰/۰۰۷
درخت × بذر*	۴ ×۱۰	۴ ×۲۰	۴ ×۳۰	۴ ×۴۰	۴ ×۵۰	۴ ×۶۰		
Na	۷/۰۰	۱۰/۰۰	۱۱/۰۰	۱۱/۵۰۰	۱۲/۲۵۰	۱۳/۰۰		
Ne	۲/۸۱۵	۲/۹۸۲	۲/۶۹۰	۲/۷۳۸	۲/۷۵۵	۲/۷۷۷		
Nr	۲/۷۵۰	۵/۷۵۰	۶/۲۵۰	۸/۰۰	۷/۷۵۰	۹/۵۰۰		
Ho	۰/۵۶۷	۰/۶۱۰	۰/۵۹۳	۰/۵۷۸	۰/۵۷۳	۰/۵۶۸		
He	۰/۵۶۱	۰/۵۹۴	۰/۵۷۰	۰/۵۷۰	۰/۵۷۲	۰/۵۷۹		
Fis	۰/۰۴۶	-۰/۰۲۳	-۰/۰۴۲	۰/۰۱۶	-۰/۰۰۹	۰/۰۱۲		
درخت × بذر*	۸ ×۱۰	۸ ×۲۰	۸ ×۳۰	۸ ×۴۰	۸ ×۵۰	۸ ×۶۰		
Na	۸/۰۰	۱۱/۰۰	۱۲/۷۵۰	۱۳/۲۵۰	۱۳/۷۵۰	۱۴/۰۰		
Ne	۲/۷۸۳	۲/۸۱۳	۲/۵۶۸	۲/۶۵۳	۲/۶۸۹	۲/۷۳۵		
Nr	۳/۷۵۰	۷/۰۰	۷/۲۵۰	۹/۷۵۰	۱۰/۵۰۰	۱۰/۷۵۰		
Ho	۰/۵۶۳	۰/۶۰۱	۰/۵۷۵	۰/۵۶۷	۰/۵۶۷	۰/۵۶۷		
He	۰/۵۶۲	۰/۵۸۲	۰/۵۵۹	۰/۵۶۶	۰/۵۶۷	۰/۵۷۴		
Fis	۰/۰۰۵	۰/۰۴۱	۰/۰۳۳	۰/۰۱۳	-۰/۰۱۲	۰/۰۰۲		

*: تعداد درختان مادری × تعداد بذر از هر درخت **و** **: انحراف از ساختار ژنوتیپی مورد انتظار از قانون هاردی-وینبرگ با سطح بالای ۹۵ درصد

بحث

- اثر تعداد نمونه بر محاسبهٔ مقدار تنوع ژنتیکی جمعیت و ضرورت بررسی تنوع ژنتیکی خنثی برای بررسی فرایندهای تاریخچه‌ای و دموگرافی[1] در تحقیقات بسیاری تأکید شده است (Holderegger *et al.*, 2006). از میان پارامترهای ژنتیکی مختلف که در ژنتیک حفاظتی برای بررسی اختلاف میان جمعیت‌ها و تعیین جمعیت‌هایی که حفاظت از آنها ضروری است، استفاده می‌شود، غنای آللی و تنوع ژنتیکی (هتروزیگوسیتی مورد انتظار) اهمیت کلیدی دارند، به‌ویژه غنای آللی که امکان مقایسهٔ بین جمعیتی را فراهم می‌کند (Van Loon *et al.*, 2007). نتایج این پژوهش نشان داد که مقدار برآورد غنای آللی ارتباط مستقیمی با تعداد نمونه دارد. در بیشتر مطالعات تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی، تعداد نمونهٔ استاندارد، ۵۰ فرد در جمعیت است (Nybom, 2004). درصورتی‌که نتایج این پژوهش با مطالعهٔ میکروساتلایت‌های هسته‌ای راش شرقی (*F. orientalis*) به‌روشنی نشان می‌دهد که مقدار غنای ژنتیکی جمعیت با چنین تعداد نمونهٔ استانداردی (۵۰ فرد) بسیار کم محاسبه خواهد شد. به‌طوری‌که با مطالعهٔ ۳۰۰ درخت به‌عنوان نمایندهٔ درختان در جمعیت بزرگی از درختان، ۶۲ آلل ثبت شد، درحالی که با بررسی ۵۰ درخت در همان جمعیت، تعداد آلل مشاهده‌شده به ۴۲ آلل کاهش پیدا کرد. نتایج این پژوهش با نتایج مطالعهٔ میکروساتلایتی جمعیت‌های ماهی سالمون و درخت زبان‌گنجشک به‌ترتیب توسط Banks *et al.* (2000) و Miyamato *et al.* (2008) مطابقت دارد. در این پژوهش‌ها بهترین اندازهٔ جمعیت برای حفاظت اکثریت آلل‌ها، ۳۰۰-۲۰۰ فرد، بیان شد.

برآورد آلل‌های مؤثر و هتروزیگوتی (که مقیاس‌های مطالعهٔ تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها هستند) نشان می‌دهد تعداد نمونه عامل مهمی در محاسبه است. مقایسهٔ برآورد تعداد آلل‌های موثر و هتروزیگوتی نشان داد که بیشترین مقدار این دو عامل در جمعیت ۲۵ فردی وجود دارد. بنابراین به‌نظر می‌رسد در برآورد تنوع ژنتیکی، برای اینکه قوانین آماری نیز رعایت شوند، نمونه‌برداری محدود ۳۰ فرد کفایت می‌کند. این نتایج منطبق با نتایج Miyamato *et al.* (2008) است که با هدف تعیین تعداد نمونه استاندارد زبان‌گنجشک برای مطالعه تنوع ژنتیکی انجام شده بود. اما آنچه بسیار قابل توجه است رابطه پارامترهای فوق با تعداد نمونه است. به این دلیل در هنگام مقایسهٔ جمعیت‌های مختلف باید تعداد ثابتی نمونه در تمام جمعیت‌های مورد مطالعه بررسی شود.

- اثر هم‌زمان تعداد درخت مادری و تعداد بذر از هر درخت بر تنوع ژنتیکی نسل آینده

جمع‌آوری بذر از تعداد محدودی درخت به دلایل مختلفی مانند کاهش اندازهٔ جمعیت، ترجیح جمع‌آوری بذر از برخی ژنوتیپ‌های خوش‌فرم و جمع‌آوری نکردن بذر از درختان بدفرم یا کم بازده، در یک تودهٔ جنگلی که با هدف حفاظت *ex situ* یا جنگلکاری انجام می‌شود، می‌تواند ساختار ژنتیکی جمعیت آینده را تغییر دهد (Kätzel *et al.*, 2001). داده‌های این پژوهش نیز نشان داد که با وجود دقت در جمع‌آوری بذر، مقدار پارامترهای تنوع ژنتیکی بذرها نسبت به درختان بالغ جمعیت کمتر است. Hosius (1993) در پژوهش‌های خود نشان داد که تعداد کل آلل‌ها و آلل‌های نادر جمعیت آینده در گونهٔ *Picea abies* کاهش و ساختار ژنتیکی آن تغییر می‌یابد. بنابراین مجریان طرح‌های حفاظتی باید سعی کنند که جمع‌آوری بذر برای نسل آینده به‌گونه‌ای باشد که کمترین تغییر ساختار ژنتیکی در آنها ایجاد شود. بر اساس نتایج این پژوهش، جمع‌آوری بذر از حداقل ۵۰ درخت در هر توده برای برنامه‌های حفاظتی توصیه می‌شود. این نتایج با یافته‌های Miyamato *et al.* (2008) مطابقت دارد. آنها با مطالعه روی درخت زبان‌گنجشک پیشنهاد کردند که برای حفاظت از ۹۰ درصد از غنای آللی می‌بایست از ۶۰-۵۰ درخت بذر جمع‌آوری کرد. در این پژوهش بررسی تعداد درخت و تعداد بذر از هر درخت نشان داد که اگرچه تعداد آلل در دستهٔ بذرهای ۲۴۰ عددی 4s (با ۶۰ درخت) و 8s (با ۳۰ درخت) به طورتقریبی یکسان است. ولی تعداد آلل‌های نادر در دستهٔ بذر 8s کمتر از دستهٔ بذر 4s است. این موضوع نشان می‌دهد هرچه تعداد درختی که بذر آنها جمع‌آوری می‌شود بیشتر باشد، خطر حذف آلل‌های نادر نیز کمتر می‌شود. به‌علت مزیت تکاملی بلندمدت فرم‌های ژنی

۱- مطالعهٔ ویژگی‌های جمعیت‌های گیاهی مثل اندازه، سن، رشد، تراکم، توزیع و سلامت

نادر، وجود نداشتن آلل‌های نادر می‌تواند به کاهش پتانسیل جمعیت‌ها برای سازگاری و نیز کاهش استمرار بقاء در برابر تغییرات محیطی منجر شود (Namkoog *et al.*, 2000; Kalinowski, 2004, 2005). بنابراین جمع‌آوری بذر از درختان بیشتر، تضمین‌کنندهٔ حفاظت ژنتیکی برنامه‌های جمع‌آوری بذرخواهد بود.

داده‌های این پژوهش به وضوح نشان می‌دهد که جمع‌آوری بذر و جنگلکاری می‌تواند ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها را تغییر دهد که نشان‌دهندهٔ اهمیت حفاظت از توده‌های طبیعی و حفاظت *in situ* است. حذف ژن‌ها از سیستم‌های جنگلی طی برنامه‌های جمع‌آوری بذر یا تجدید حیات طبیعی گونهٔ راش، به‌وسیلهٔ تغییر ساختار ژنتیکی و سطح تنوع ژنتیکی روی حاصلخیزی، پایداری اکوسیستم، استمرار بلندمدت و تکامل جمعیت‌ها تأثیر می‌گذارد (Howley *et al.*, 2005). بنابراین انتخاب تعداد محدود درخت برای بذرگیری یا تجدید حیات در آینده، می‌تواند در درازمدت به فرسایش ژنتیکی جمعیت‌ها منجر شود. بر اساس نتایج این پژوهش جمع‌آوری بذر حداقل از ۵۰ درخت در هر توده برای برنامه‌های حفاظتی توصیه می‌شود.

سؤالی که پیش می‌آید این است که آیا می‌توان این نتایج را به دیگر گونه‌های درختی عمومیت داد؟ آنچه مسلم است، راش شرقی یک گونه بادگرده‌افشان با پراکنش گسترده است که با استفاده از میکروساتلایت‌ها، ساختار میان‌جمعیتی محدودی (Fst <۰/۰۵) نشان داده است. بنابراین این نتایج قابل استفاده برای دیگر گونه‌های درختی بادگرده‌افشان که دارای بذرهای سنگین و تراکم (حدود ۴۰۰-۲۰۰ پایه در هکتار) و ساختار ژنتیکی مشابهی هستند، می‌تواند استفاده شود.

سؤال دیگر این است که آیا با استفاده از دیگر نشانگرهای ژنتیکی نیز می‌توان به نتایج مشابهی دست یافت؟ روشن است که اگر تأکید بر غنای آللی باشد، با استفاده از دیگر نشانگرهای ژنتیکی، نتایج متفاوت خواهد بود. در حقیقت، انتخاب نشانگر موضوعی بسیار پیچیده است. Scotti *et al.* (2006) در پژوهشی روی گونهٔ *P. abies* نشان دادند که برآورد تنوع ژنتیکی تنها با تعداد نمونهٔ مورد بررسی رابطه ندارد، بلکه به نوع نشانگر مورد استفاده نیز وابسته است. در مورد نشانگرهای آلوزیمی در زبان‌گنجشک در مقایسه با دیگر گونه‌ها که تعداد آلل‌های بسیار کمتری از میکروساتلایت‌ها نشان داده‌اند، تعداد نمونهٔ مورد نیاز بسیار کمتر از تعدادی است که به‌وسیلهٔ میکروساتلایت‌ها (۳۰۰ پایه) پیشنهاد شده است (Miyamoto *et al.*, 2008). بنابراین در بررسی‌های مقایسه‌ای توجه به نوع نشانگر بسیار اهمیت دارد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر با کمک‌های مالی مؤسسهٔ بین‌المللی منابع ژنتیک گیاهی با کد پروژه D06C Fellowships و مؤسسهٔ ژنتیک گیاهی، فلورنس ایتالیا ممکن شده است که به این وسیله مراتب قدردانی خود را اعلام می‌داریم.

منابع

Amaral, W., A. Yanchuk & E. Kjaer, 2004. Methodologies for *ex situ* conservation. Forest Genetic Resources Conservation and Management: in plantation and genebank, Volme 3, Chapter 2. IPGRI.

Austerlitz, F., C.W. Dick, C. Dutech, E.K. Klein, S. Oddou-Muratorio, P.E. Smouse & V.L. Sork, 2004. Using genetic markers to estimate the pollen dispersal curve, *Molecular Ecology*, 13: 937-954.

Banks, M.A., V.K. Rashbrook, M.J. Calavetta, C.A. Dean & D. Hedgecock, 2000. Analysis of microsatellite DNA resolves genetic structure and diversity of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) in California's Central Valley, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57: 915-927.

Cavers, S., B. Degen, H. Caron, M.R. Lemes, R. Margis, F. Salgueiro & A.J. Lowe, 2005. Optimal sampling strategy for estimation of spatial genetic structure in tree populations, *Heredity*, 95: 281-289.

FAO, 2001. Global Forest Resources Assessment, FAO Forestry Paper 140. Rome, Food and Agriculture Organization.
http://www.fao.org/forestry/fo/fra/ [Geo-2-416].

Hawley, G.J., P.G. Schaberg, D.H. DeHayes & J.C. Brissette, 2005. Silviculture alters the genetic structure of an eastern hemlock forest in Maine, USA. *Canadian Journal of Forest Research*, 35:143-150.

Holderegger, R., U. Kamm & F. Gugerli, 2006. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics, *Landscape Ecology*, 21: 797-807.

Hosius, B., 1993. Wird die genetische Struktur eines Fichtenbestandes von Durchforstungseingriffen beeinflußt? *Forst und Holz*, 48: 306-308.

Kalinowski, S.T., 2004. Counting alleles with rarefaction: Private alleles and hierarchical sampling designs, *Conservation Genetics*, 5: 539-543.

Kalinowski, S.T., 2005. HP-RARE 1.0: A computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness, *Molecular Ecology Notes*, 5: 187-189.

Kalinowski, S.T., M.L. Taper & T.C. Marshall, 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment, *Molecular Ecology*, 16: 1099-1106.

Kätzel, R., B. Nordt & J. Schmitt, 2001. Untersuchungen zum Einfluß der Durchforstungsintensitaät auf die genetische Struktur von Kiefernbeständen in den Berliner Forsten auf der Grundlage von Isoenzym- und DNA-Markern. In: Wolf, H., (Ed.). Nachhaltige Nutzung forstgenetischer Ressourcen. Tagungsbericht zur 24. Internationalen Tagung der Arbeitsgem. f. Forstgenetik u. Forstpflanzenzüchtung. Sächsische Landesanstalt für Forsten, Pirna, Germany, pp. 159-170.

Miyamoto, N., J.F. Fern´andez-Manjarr´es, M.E. Morand-prieur, P. Bertolino & N. Frascaria-Lacoste, 2008. What sampling is needed for reliable estimations of genetic diversity in *Fraxinus excelsior* L. (Oleaceae), *Annals of Forestry Science*, 65: 403-413

Namkoong, G., M.P. Koshy & S. Aitken, 2000. Selection. In: Young, A., Boshier, D. and Boyle, T., (Eds.). Forest Conservation Genetics: Principles and Practice. CSIRO and CABI, Collingwood, pp. 101-111.

Nybom, H., 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants, *Molecular Ecology*, 13: 1143-1155.

Ohsawa, T., Y. Tsuda, Y. Saito, H. Sawada & Y. Ide, 2007. Steep slopes promote downhill dispersal of *Quercus crispula* seeds and weaken the fine-scale genetic structure of seedling populations, *Annals of Forestry Science*, 64: 405-412.

Pastorelli, R., M.J.M. Smulders, W.P.C. Van't Westende, B. Vosman, R. Giannini, C. Vettori & G.G. Vendramin, 2003. Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky, *Molecular Ecology Notes*, 3: 76-78.

Peakal, R. & P.E. Smouse, 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research, *Molecular Ecology Notes*, 6:288-295.

Petit, R.J., A. El Mousadik & O. Pons, 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers, *Conservation Biology*, 12: 844-855.

Ritland K., 2002. Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci, *Heredity*, 88: 221-228.

Salehi Shanjani, P., C. Vettori, R. Giannini & R.A. Khavari-nejad, 2004. Intraspecific variation and geographic patterns of Fagus orientalis Lipsky chloroplast DNA, *Silveae Genetica*, 53: 193-197.

Salehi Shanjani, P., G.G. Vendramin & M. Calagari, 2008. Assessment of genetic structure within and among Iranian populations of beech (*Fagus orientalis* Lipsky): Implications for in situ gene conservation, The 8th IUFRO International Beech Symposium, Japon.

Salehi Shanjani, P., L. Paule, R.A. Khavari-Nejad, D. Gömöry & K. Sagheb-Talebi, 2002. Allozymic variability in beech (Fagus orientalis Lipsky) forests over Hyrcanian zone, Journal of Forest Genetics, 9(4): 297-297.

Scotti, I., G. Paglia, F. Magni & M. Morgante, 2006. Population genetics of Norway spruce (Picea abies Karst.) at regional scale: sensitivity of different microsatellite motif classes in detecting differentiation, Annals of Forestry Science, 63: 485-491.

Sjogren, P. & P.I. Wyoni, 1994. Conservation Genetics and Detection of Rare Alleles in Finite Populations, Conservation Biology, 8: 267-270.

Van Loon, E.E., D.F.R. Cleary & C. Fauvelot, 2007. ARES: software to compare allelic richness between uneven samples, *Molecular Ecology Notes*, 7: 579-582.

Zane, L., L. Bargelloni & T. Patarnello, 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology*, 11: 1-16.

Relationship between sample size and genetic diversity in oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky)

P. Salehi Shanjani[1*], G.G. Vendramin[2] and M. Calagari[3]
[1]Assistant Prof., Natural Resource Gene Bank, Research Institute of Forests and Rangelands, I. R. Iran
[2]Prof, Institute of Plant Genetic, CNR, Florence, Italy
[3]Assistant Prof., Depatement of Populus and Fast Grouing Trees, Research Institute of Forests and Rangelands, I. R. Iran
(Received: 6 July 2010, Accepted: 2 August 2011)

Abstract
Sample size is a critical issue for genetic diversity studies and conservation programs. However, sample size evaluation requires previous knowledge of genetic diversity. Here, we evaluated sample size requirements for accurate genetic diversity in adult trees and family arrays in a *Fagus orientalis Lipsky* population in central Hyrcanian forests of Iran. Data consisted of 350 adult trees and 480 offspring's from 60 mother tree genotyped at four nuclear microsatellites. Results indicated that several adult individuals (about 300) are necessary for accurate measures of allele richness. However, expected heterozygosity requires smaller samples (30). Seeds from 50 trees captured about 90% of adult allelic diversity suggesting that seed sampling is heavily finalized for allele counts, and this should be considered in conservation programs. Nevertheless, gene diversity of seeds was lower than that of the adult population, which emphasizes on conservation of natural stands and in situ conservation programs. Extrapolation of these results to other tree species with similar distribution (widespread), way of propagation (wind-pollinated, dispersion of the fruits by gravity), density (about 200-400 individuals in ha), and genetic structure as oriental beech could be possible.

Key words: *Fagus orientalis Lipsky*, Genetic variation, Microsatellite, Seed sampling.

*Corresponding author Tel: +98 21 44580280 Email: psalehi@rifr-ac.ir