

تمایز ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) بر اساس نشانگرهای بین‌ریزماهواره‌ای ژنومی

نقی شهبانیان^{۱*}، افروز هواسی^۲ و علی‌اشرف مهربابی^۳

*۱- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

پست الکترونیک: n.shabanian@uok.ac.ir

۲- کارشناس ارشد، جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

۳- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۰۶

چکیده

بلوط‌ها اصلی‌ترین گونه‌های درختی تشکیل‌دهنده جنگل‌های زاگرس هستند. اطلاعات درباره الگوهای طبیعی تنوع ژنتیکی از اهمیت کاربردی بالایی برای مدیریت و حفاظت پایدار جنگل‌ها برخوردار است. در این مطالعه برای ارزیابی تمایز و تنوع ژنتیکی بین و درون هشت جمعیت بلوط ایرانی متشکل از ۱۰۴ ژنوتیپ با شرایط رویشگاهی متفاوت از جنگل‌های ایلام، DNA ژنومی استخراج و قطعات تکثیر یافته با آغازگرهای مختلف بر روی زل ۱/۲ درصد مشاهده و نمره‌دهی شدند. از ۲۲ آغازگر نشانگر مولکولی ISSR، ۱۵ آغازگر نوارهای تکرارپذیر و قابل امتیازدهی تکثیر کردند. ماتریس تشابه دایس و جاکارد تجزیه و تحلیل شده و داده‌های حاصل تجزیه واریانس مولکولی شدند. از آغازگرهای مورد استفاده ۱۸۹ نوار با ۱۰۰ درصد چندشکلی تکثیر شدند. تعداد آلل‌های تکثیر شده از این آغازگرها از ۷ تا ۲۰ با میانگین ۱۲/۶ آلل متفاوت بود. همچنین دامنه اندازه قطعات تکثیر یافته بین ۱۰۰ تا ۱۸۰۰ جفت‌باز بود. تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که از تنوع مولکولی آشکار شده ۷۹ درصد مربوط به تنوع درون جمعیت‌ها و ۲۱ درصد باقیمانده ناشی از تنوع بین جمعیت‌ها بود. یافته‌های این تحقیق بیانگر وجود تنوع ژنتیکی بالا در درون جمعیت‌های بلوط ایرانی در رویشگاه‌های ایلام است.

واژه‌های کلیدی: بلوط ایرانی، شاخص تنوع ژنی، ژنتیک جمعیت، نشانگر بین‌ریزماهواره‌ای.

مقدمه

(2007, *et al.*) در شرایطی که جمعیت‌های یک گونه مانند بلوط ایرانی در جنگل‌های زاگرس، برای جوامع محلی اهمیت اقتصادی و یا برای اکوسیستم اهمیت اکولوژیکی داشته باشند، این ضرورت از اهمیت بیشتری برخوردار است (Redkina *et al.*, 2008). از لحاظ اکولوژیکی، به‌خاطر پوشش گیاهی نه چندان متراکم جنگل‌های بلوط زاگرس،

یکی از اولویت‌های اصلی برنامه‌های مدیریت اکوسیستم‌های طبیعی در دهه‌های اخیر حفاظت از تنوع ژنتیکی است. مدیریت پایدار جنگل‌ها به‌عنوان یکی از این اکوسیستم‌های طبیعی مستلزم آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی و شناسایی مراکز این تنوع برای حفاظت از آن‌هاست (White

در ژنتیک و زیست‌شناسی سلولی منجر به ابداع تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) از جمله DNA چندشکل تکثیر یافته تصادفی (RAPD) و توالی‌های تکراری ساده بینایی (ISSR) برای تعیین تفاوت افراد در سطح مولکولی شده است. این نشانگرها به دلیل داشتن توارث بالا و عدم تأثیرپذیری از محیط نسبت به نشانگرهای مورفولوژیکی از مزایای متعددی برخوردارند (Duran *et al.*, 2009). در میان نشانگرهای مختلف مبتنی بر DNA از نشانگر ISSR در مطالعات ژنتیک جمعیت (Alikhani *et al.*, 2014; Rahmani *et al.*, 2015a, b) و همچنین مطالعات اکولوژیکی، تکاملی و فیلوژنی گونه‌ها (Abdel-Mawgood *et al.*, 2007) زیاد استفاده شده است. از مزایای این نشانگر می‌توان به آشکارسازی سطوح بالای چندشکلی، بالا بودن تکرارپذیری، سهولت کاربری، و عدم نیاز به اطلاعات قبلی برای طراحی آغازگر اشاره کرد (Alikhani *et al.*, 2014; Rahmani *et al.*, 2015a).

با ارزیابی تنوع ژنتیکی در ۱۲۵ ژنوتیپ نمونه برداری شده از نه جمعیت از توده‌های بلوط ایرانی در زاگرس شمالی با استفاده از نشانگرهای مولکولی ISSR، چندشکلی تکثیر یافته بین رتروترانسپوزونی (IRAP) و چندشکلی رمزینه شروع (SCoT) توسط علیخانی و همکاران (۲۰۱۵) تنوع ژنتیکی درون جمعیتی بالایی در جمعیت‌های یاد شده آشکار شد. بر اساس گزارش این محققین از ۱۸ آغازگر ISSR، ۱۰ آغازگر IRAP و ۱۰ آغازگر نشانگر SCoT به ترتیب ۲۳۳، ۱۲۹ و ۱۱۸ نوار با ۲۲۴ (۹۶/۱ درصد)، ۱۲۶ (۹۷/۶ درصد) و ۱۱۳ (۹۵/۷ درصد) نوار چندشکل تکثیر شد. همچنین بر اساس یافته‌های به دست آمده مطالعه یاد شده از تنوع ژنتیکی کل آشکار شده به ترتیب ۷۷، ۸۳ و ۷۷ درصد مربوط به تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها بود که خود بیانگر وجود جریان ژنی مطلوب بین جمعیت‌های مورد مطالعه بود (Alikhani *et al.*, 2014). با هدف بررسی تمایز ژنتیکی و انگشت‌نگاری ۱۵۰ ژنوتیپ از ۱۰ جمعیت انتخاب شده از توده‌های مازودار جنگل‌های زاگرس شمالی از ۱۸ آغازگر ISSR، ۱۰ آغازگر IRAP و ۱۰ آغازگر SCoT استفاده شد که در مجموع ۴۶۶

اهمیت این جنگل‌ها در وجود رودهایی همچون زاینده رود و سیمره بر کسی پوشیده نیست (Namiranian *et al.*, 2007). فشارهای کنونی انسانی و اقلیمی حاکم بر این جنگل‌ها، که غالباً از بلوط تشکیل شده‌اند، نگرانی‌ها را در رابطه با پایداری ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی بلوط‌ها، به عنوان مولفه‌های اصلی و ارزشمند این اکوسیستم‌های طبیعی افزایش داده است. برای مثال بهره‌برداری جنگل‌نشینان زاگرس (برای تأمین هیزم، محصولات غیرچوبی و همچنین به منظور استفاده از زمین جنگل تخریب شده برای فعالیت‌های کشاورزی) این جنگل‌ها را دستخوش تغییرات نامطلوب شدیدی کرده است. این فشارهای گوناگون بر اندوخته ژنتیکی اکوسیستم زاگرس که خود به دلیل عدم وجود زادآوری جنسی پایدار، حساس و آسیب‌پذیر شده است (Ghazanfari *et al.*, 2004)، در آینده به شکل‌گیری تغییرات چشم‌گیری منجر خواهد شد (White *et al.*, 2007). ضعف بودن ظرفیت پراکنده شدن بذر بلوط‌ها از یک طرف و عدم استقرار مطلوب و زادآوری جنسی آنها از طرف دیگر در جنگل‌های زاگرس (Shakeri *et al.*, 2009) باعث شده است تا تنوع ژنتیکی وابسته به مکان در جمعیت‌های بلوط این جنگل‌ها به طور عمده ناشی از پخش شدن دانه گرده آنها در فواصل طولانی به کمک باد باشد (Streiff *et al.*, 1999).

روش‌های مختلفی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های گیاهی وجود دارد. در روش‌های سنتی بر استفاده از مشخصه‌های ریخت‌شناختی تمرکز می‌شود (Furat & Uzun, 2010). ارزیابی این صفات همواره در برنامه‌های اصلاحی جهت برآورد تنوع و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها مورد استفاده بوده است. اگرچه مطالعه تنوع جمعیتی بر اساس صفات مورفولوژیکی در برخی گونه‌های درختی گزارش شده است (Celikel *et al.*, 2008; Valero *et al.*, 2012)، اما یافته‌های قابل بهره‌گیری از این صفات به تنهایی به دلیل تأثیرپذیری زیاد از شرایط محیطی و وابستگی بروز آن به مرحله نموی گیاه چندان قابل اعتماد نیستند (Kercher & Sytsma, 2000). پیشرفت‌های اخیر

همچنین بر اساس یافته‌های این مطالعه، همبستگی بین ماتریس ضرایب داده‌های به‌دست آمده از نشانگرهای یاد شده معنی‌دار بود (Rahmani et al., 2015b). بنابراین و با توجه به کارایی نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA در ارزیابی تمایز و تنوع ژنتیکی گونه‌های چوبی، هدف از این تحقیق بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مختلف بلوط ایرانی بخش ایلام جنگل زاگرس با استفاده از نشانگر ISSR به‌منظور دستیابی به اطلاعات پایه لازم برای حفاظت ژنتیکی و مدیریت بهتر جنگل‌های بلوط این منطقه از زاگرس بود.

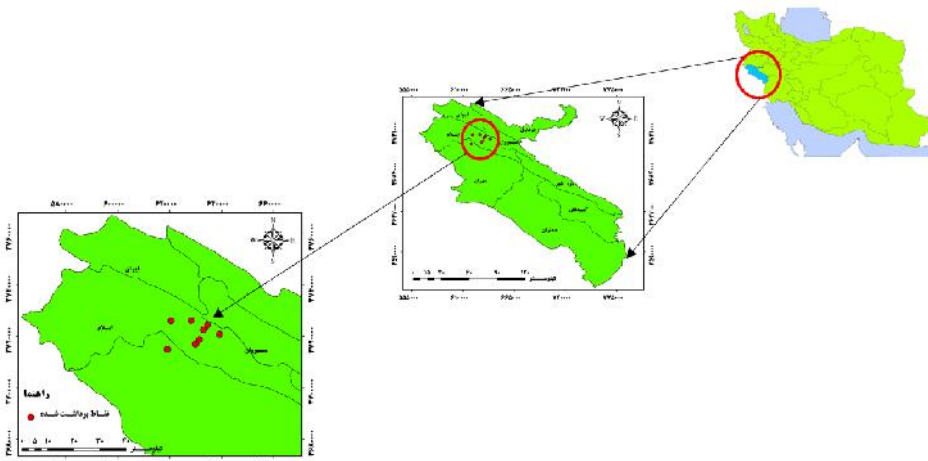
مواد و روش‌ها

مواد گیاهی، استخراج DNA و تجزیه و تحلیل ISSR به‌منظور انجام بررسی‌های مولکولی، در فروردین ماه سال ۱۳۹۲ از ۸ منطقه جنگلی ایلام با شرایط رویشگاهی متفاوت و از هر منطقه ۱۳ پایه بلوط ایرانی (*Q. brantii*) با فاصله حداقل ۲۰۰ متر از همدیگر (در مجموع ۱۰۴ ژنوتیپ)، نمونه‌های برگ جوان جمع‌آوری شدند (جدول ۱؛ شکل ۱). پس از ثبت مشخصات محل جمع‌آوری، نمونه‌های برگ به‌طور جداگانه در فویل آلومینیوم قرار گرفته و در نیتروژن مایع نگهداری شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه تا زمان استخراج DNA در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

نوار با ۴۴۸ نوار چندشکل (۹۶/۱۴ درصد) تکثیر شدند. یافته‌های مطالعه یادشده نشان داد که مقدار هتروزیگوسیتی مشاهده‌شده و تعداد مؤثر آلل‌ها با محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) جمعیت‌های مورد مطالعه همبستگی دارد. محققین این گزارش به این نتیجه رسیدند که بدون وجود هیچ گونه رابطه ژنتیکی مشخصی بین فواصل ژنتیکی و فواصل جغرافیایی جمعیت‌های نمونه‌برداری، تنوع ژنتیکی بالایی بین درختان مورد مطالعه وجود داشت (Rahmani et al., 2015a). در مطالعه یادشده سطح بالایی از تنوع و تغییرپذیری درون‌جمعیتی با استفاده از سه نوع نشانگر مورد استفاده گزارش شد. نویسندگان مذکور بر این باورند که این سطح بالای تنوع در گونه‌های بلوط احتمالاً به‌دلیل سیستم تلاقی خاص حاکم بر آنها بالاست که می‌تواند برای برنامه‌های حفاظت و اصلاح ساختار جنگل سودمند باشد. با هدف مطالعه ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Crataegus pontica* در جنگل‌های زاگرس، از نشانگرهای مولکولی ISSR، IRAP و SCoT استفاده و مشخص شد که کارایی نشانگر ISSR به‌دلیل برخورداری از شاخص نشانگر و قدرت تشخیص بیشتر، بالاتر از دو نشانگر دیگر بود. سه نشانگر مورد استفاده در این مطالعه به‌ترتیب ۲۵۴، ۱۲۶ و ۱۹۹ نوار قابل‌نمره‌دهی را با ۹۳، ۹۰ و ۸۳ درصد چندشکلی تکثیر کردند. دندروگرام ترسیم شده مبتنی بر داده‌های این مطالعه ۱۶۴ ژنوتیپ مورد مطالعه را در سه خوشه قرار داد.

جدول ۱- موقعیت جغرافیایی و اندازه نمونه در جمعیت‌های نمونه‌برداری شده *Q. brantii* در این مطالعه

| شماره | جمعیت | تعداد نمونه | ارتفاع از سطح دریا (متر) | طول جغرافیایی (E) | عرض جغرافیایی (N) |
|-------|----------|-------------|--------------------------|-------------------|-------------------|
| ۱ | شلم | ۱۳ | ۱۴۹۷-۱۲۲۳ | ۴۶°۲۶ | ۳۳°۳۸ |
| ۲ | ارغوان | ۱۳ | ۱۵۴۷-۱۳۳۴ | ۴۶°۳۰ | ۳۳°۳۷ |
| ۳ | کوثر | ۱۳ | ۱۴۵۴-۱۳۴۸ | ۴۶°۲۴ | ۳۳°۳۵ |
| ۴ | چغاسبز | ۱۳ | ۱۴۳۵-۱۲۸۲ | ۴۶°۲۵ | ۳۳°۳۶ |
| ۵ | بانگنجاب | ۱۳ | ۱۴۸۵-۱۲۸۲ | ۴۶°۲۳ | ۳۳°۴۰ |
| ۶ | قوچعلی | ۱۳ | ۱۵۲۷-۱۲۳۲ | ۴۶°۲۷ | ۳۳°۳۹ |
| ۷ | نخجیر | ۱۳ | ۱۱۹۴-۹۷۵ | ۴۶°۱۷ | ۳۳°۳۴ |
| ۸ | ششدار | ۱۳ | ۱۱۳۲-۱۰۳۷ | ۴۶°۱۸ | ۳۳°۴۰ |



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی مناطق مورد مطالعه

داده‌های ژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار Peakall & GenAIEx (Smouse, 2006) به منظور برآورد پارامترهای ژنتیکی شامل درصد نوارهای چندشکل (PPB%)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_E) یا شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1978)، شاخص اطلاعات شانون (I) (Lewontin, 1972) با استفاده از رابطه $H_O = -\sum p_i \log_2 p_i$ (فرآوانی یک قطعه خاص از ISSR است) و ضریب تمایز ژنتیکی (p_i) تجزیه و تحلیل شد. علاوه بر این، بر اساس آلل‌های تکثیر شده در هر مکان از نشانگرها، مقادیر محتوای اطلاعات چندشکل، و شاخص نشانگر نیز محاسبه شد (جدول ۲). فاصله ژنتیکی (D) بین جمعیت‌ها با استفاده از مدل ارائه شده توسط نی (Nei, 1978) محاسبه شد. سپس در هر گونه سهم تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها از تنوع ژنتیکی کل به صورت $(H_{Sp} - H_{Po}) / H_{Sp}$ محاسبه شد. بعد از تهیه ماتریس رتبه‌های یک و صفر، ماتریس عدم تشابه جمعیت‌ها با استفاده از نرم‌افزار DARwin 5.0 و استفاده از ضرایب مختلف عدم تشابه محاسبه گردید. از آزمون مانتل (Mantel, 1967) برای به دست آوردن بهترین الگوریتم ترسیم درخت ژنتیکی و ماتریس عدم تشابه، از نرم‌افزار XLSTAT استفاده شد. تجزیه واریانس مولکولی با استفاده از نرم‌افزار GenAIEx انجام و درصد نوارهای اختصاصی و متمایزکننده جمعیت‌های مختلف از همدیگر محاسبه و گزارش شد. به منظور آشکارسازی روابط ژنتیکی بین جمعیت‌ها، براساس فاصله ژنتیکی نی (Nei, 1978) و با استفاده از روش UPGMA تجزیه خوشه‌ای انجام

استخراج DNA ژنومی از برگ جوان *Q. brantii* بر اساس روش Doyle and Doyle (۱۹۹۰) با کمی تغییرات انجام شد. کیفیت و کمیت DNA ژنومی نمونه‌ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد کنترل شد. از میان ۲۲ آغازگر ISSR مورد ارزیابی اولیه، ۱۵ آغازگر برخوردار از نوارهای قابل‌نمره‌دهی انتخاب شدند (جدول ۲). واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر (شامل ۵ میکرولیتر کیت (سیناکلون؛ PR۸۲۵۱C)، ۱ میکرولیتر آغازگر، ۲ میکرولیتر DNA ژنومی و ۲ میکرولیتر آب دیونیزه) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر بر اساس برنامه زیر انجام شد: مرحله آغازین ۴ دقیقه‌ای در دمای ۹۴°C، سپس ۴۰ چرخه شامل ۹۴°C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۷°C-۵۰°C به مدت ۴۵ ثانیه (جدول ۲) و ۷۲°C به مدت ۱۲۰ ثانیه و سرانجام مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲°C برای مدت ۷ دقیقه. محصولات PCR در ژل آگارز ۱/۲ درصد تفکیک و پس از رنگ‌آمیزی نوارهای DNA با محلول ۰/۲ درصد اتیدیوم بروماید، با استفاده از دستگاه ژل‌داکیومننت از نوارهای تکثیر یافته عکس‌برداری شد. از خط‌کش ژنی یک‌کیلوبازی برای تعیین و تخمین اندازه آلل‌های تکثیر یافته استفاده شد.

تجزیه و تحلیل مولکولی

امتیازدهی نوارها به صورت ۱ (وجود نوار) و صفر (عدم وجود نوار) انجام گرفت. ماتریس نمره‌دهی به نوارها یا همان

دادند. تعداد نوار تکثیر شده از آغازگرهای مورد استفاده ISSR با میانگین ۱۲/۶ نوار بسته به آغازگر از ۷ (UBC840) تا ۲۰ (ISSR165) متفاوت بود. دامنه اندازه قطعات تولید شده از ۱۰۰ جفت باز تا ۱۸۰۰ جفت باز بود. بیشترین و کمترین مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) نیز با میانگین ۰/۱۷۲ به ترتیب در ISSR08 (۰/۲۲۹) و ISSR15 (۰/۱۳۶) ثبت شد (جدول ۲). همچنین بیشترین (۳/۷۸۰) و کمترین مقدار شاخص نشانگر (۱/۳۵۱) از آغازگرهای مورد استفاده به ترتیب در آغازگرهای ISSR165 و UBC840 مشاهده شد. میانگین این شاخص ۲/۱۴ محاسبه شد (جدول ۲).

گرفت. همبستگی بین ماتریس فواصل ژنتیکی (Nei, 1978) و فواصل جغرافیایی (کیلومتر) بین جفت جمعیت‌ها با استفاده از آزمون مانتل محاسبه شد. برای بررسی میزان شباهت بین ژنوتیپ‌های مختلف و گروه‌بندی آنها، با استفاده از داده‌های حاصل از ماتریس عدم تشابه دایس و الگوریتم NJ، دندروگرام ژنوتیپ‌های مختلف در برنامه MEGA ترسیم شد.

نتایج

از آزمایشات تکثیر ژنومی ۱۵ آغازگر ISSR در ۱۰۴ ژنوتیپ بلوط ایرانی در مجموع ۱۸۹ نوار قابل‌نمره‌دهی با ۱۰۰ درصد چندشکلی تکثیر شد. کلیه آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق چندشکلی کامل (۱۰۰ درصد) نشان

جدول ۲- آغازگرهای ISSR مورد استفاده و اطلاعات چندشکلی برآورد شده از آنها*

| MI | PIC | SR | PB | SB | T ^{oC} | توالی ۵' ۳' | آغازگر |
|--------|-------|----------|------|------|-----------------|-----------------------|----------|
| ۲/۰۶۱ | ۰/۲۲۹ | ۱۰۰-۸۰۰ | ۹ | ۹ | ۵۰ | GAGAGAGAGAGAGAT | ISSR 08 |
| ۲/۳۱۲ | ۰/۱۳۶ | ۱۰۰-۱۶۰۰ | ۱۷ | ۱۷ | ۵۴ | ACACACACACACACTG | ISSR 15 |
| ۲/۱۴۵ | ۰/۱۴۳ | ۱۵۰-۱۸۰۰ | ۱۵ | ۱۵ | ۵۲ | CACACACACACACACAG | ISSR 17 |
| ۲/۶۳۵ | ۰/۱۵۵ | ۱۰۰-۱۸۰۰ | ۱۷ | ۱۷ | ۵۴ | ACACACACACACACCA | ISSR 125 |
| ۱/۹۶۸ | ۰/۱۶۴ | ۱۵۰-۱۵۰۰ | ۱۲ | ۱۲ | ۵۶ | TGTGTGTGTGTGTGGG | ISSR 155 |
| ۳/۷۸۰ | ۰/۱۸۹ | ۲۰۰-۱۵۰۰ | ۲۰ | ۲۰ | ۵۶ | AGAGAGAGAGAGAGGCC | ISSR 165 |
| ۲/۲۶۸ | ۰/۱۸۹ | ۱۵۰-۱۰۰۰ | ۱۲ | ۱۲ | ۵۰ | AGAGAGAGAGAGAGGT | UBC 807 |
| ۲/۰۰۲ | ۰/۱۸۲ | ۱۵۰-۱۵۰۰ | ۱۱ | ۱۱ | ۵۲ | AGAGAGAGAGAGAGGG | UBC 809 |
| ۱/۸۳۶ | ۰/۱۵۳ | ۱۵۰-۱۲۰۰ | ۱۲ | ۱۲ | ۵۵ | AGAGAGAGAGAGAGACYC | UBC 835 |
| ۲/۲۹۶ | ۰/۱۶۴ | ۱۵۰-۱۴۰۰ | ۱۴ | ۱۴ | ۵۳ | AGAGAGAGAGAGAGACYA | UBC 836 |
| ۱/۳۵۱ | ۰/۱۹۳ | ۱۰۰-۸۰۰ | ۷ | ۷ | ۵۳ | GAGAGAGAGAGAGAYT | UBC 840 |
| ۱/۶۷۰ | ۰/۱۶۷ | ۱۵۰-۱۰۰۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۵۵ | GAGAGAGAGAGAGAYC | UBC 841 |
| ۱/۸۸۱ | ۰/۱۷۱ | ۱۵۰-۱۵۰۰ | ۱۱ | ۱۱ | ۵۵ | GAGAGAGAGAGAGAYG | UBC 842 |
| ۲/۵۵۶ | ۰/۲۱۳ | ۱۵۰-۱۵۰۰ | ۱۲ | ۱۲ | ۵۷ | TAGATCTGATATCTGAATTCC | UBC 892 |
| ۱/۴۵۰ | ۰/۱۴۵ | ۱۰۰-۱۰۰۰ | ۱۰ | ۱۰ | ۵۶ | AGAGTTGGTAGCTCTTGATC | UBC 895 |
| ۳۲/۲۱۱ | ۲/۵۹۳ | - | ۱۸۹ | ۱۸۹ | - | | کل |
| ۲/۱۴۷ | ۰/۱۷۲ | - | ۱۲/۶ | ۱۲/۶ | - | | میانگین |

*T^{oC}: دمای اتصال آغازگر؛ SB: تعداد نوار قابل‌نمره‌دهی؛ PB: تعداد نوار چندشکلی؛ SR: دامنه اندازه آل‌های تکثیر شده؛ PIC: محتوای اطلاعات چندشکلی؛ MI: شاخص نشانگر.

نیز در میان جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه متفاوت بود. میانگین این شاخص‌ها در سطح جمعیت‌های مورد مطالعه به ترتیب ۰/۲۲۷، ۱/۰۱ و ۱/۲۳ بود (جدول ۳). به این ترتیب براساس پارامترهای ژنتیکی مورد مطالعه بر مبنای آغازگرهای ISSR از میان جمعیت‌های مورد مطالعه بلوط ایرانی، دو جمعیت بانگنجا و شلم (PL% = ۵۵/۵۶ درصد؛ I = ۰/۲۴۸) از بیشترین تنوع ژنتیکی برخوردار بودند.

در سطح جمعیت، درصد نوارهای چندشکل با میانگین ۴۹/۸ درصد از ۳۹/۱۵ (چغاسبز) تا ۵۵/۵۶ درصد (بانگنجا و شلم) بسته به جمعیت متفاوت بود (جدول ۳). همچنین نتایج نشان داد که مقدار هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_E) نیز بسته به جمعیت از ۰/۱۲۱ در جمعیت چغاسبز تا ۰/۱۶۶ در جمعیت کوثر متفاوت بود. میانگین این شاخص در سطح جمعیت ۰/۱۴۷ بود. شاخص اطلاعات شانون، تعداد آل مشاهده شده و تعداد آل مؤثر

جدول ۳- شاخص‌های ژنتیکی محاسبه شده در جمعیت‌های مختلف *Q. brantii*

| جمعیت | PL (درصد) | H_E (انحراف معیار ± میانگین) | I (انحراف معیار ± میانگین) | تعداد آل مشاهده شده | تعداد آل مؤثر |
|---------|-----------|--------------------------------|----------------------------|---------------------|---------------|
| بانگنجا | ۵۵/۵۶ | ۰/۱۶۰ ± ۰/۰۱۳ | ۰/۲۴۸ ± ۰/۰۱۹ | ۱/۱۳۲ ± ۰/۰۷۲ | ۱/۲۶۴ ± ۰/۰۲۵ |
| کوثر | ۵۴/۵۰ | ۰/۱۶۶ ± ۰/۰۱۴ | ۰/۲۵۴ ± ۰/۰۲۰ | ۱/۱۱۱ ± ۰/۰۷۲ | ۱/۲۷۵ ± ۰/۰۲۵ |
| چغاسبز | ۳۹/۱۵ | ۰/۱۲۱ ± ۰/۰۱۳ | ۰/۱۸۷ ± ۰/۰۱۸ | ۰/۷۹۴ ± ۰/۰۷۱ | ۱/۱۹۸ ± ۰/۰۲۳ |
| ارغوان | ۴۷/۰۹ | ۰/۱۳۹ ± ۰/۰۱۳ | ۰/۲۱۶ ± ۰/۰۱۹ | ۰/۹۵۸ ± ۰/۰۷۲ | ۱/۲۲۵ ± ۰/۰۲۳ |
| قوچعلی | ۵۳/۹۶ | ۰/۱۴۴ ± ۰/۰۱۲ | ۰/۲۲۹ ± ۰/۰۱۸ | ۱/۰۹۰ ± ۰/۰۷۲ | ۱/۲۲۵ ± ۰/۰۲۲ |
| شلم | ۵۵/۵۶ | ۰/۱۶۱ ± ۰/۰۱۳ | ۰/۲۴۸ ± ۰/۰۱۹ | ۱/۱۳۲ ± ۰/۰۷۲ | ۱/۲۶۲ ± ۰/۰۲۴ |
| ششدار | ۴۴/۹۷ | ۰/۱۴۴ ± ۰/۰۱۴ | ۰/۲۲۰ ± ۰/۰۲۰ | ۰/۹۱۵ ± ۰/۰۷۲ | ۱/۲۴۱ ± ۰/۰۲۵ |
| نخجیر | ۴۷/۶۲ | ۰/۱۳۹ ± ۰/۰۱۳ | ۰/۲۱۷ ± ۰/۰۱۸ | ۰/۹۷۴ ± ۰/۰۷۲ | ۱/۲۲۱ ± ۰/۰۲۲ |
| میانگین | ۴۹/۸۰ | ۰/۱۴۷ ± ۰/۰۰۵ | ۰/۲۲۷ ± ۰/۰۰۷ | ۱/۰۱۳ ± ۰/۰۲۶ | ۱/۲۳۹ ± ۰/۰۰۸ |

*PL: درصد مکان‌های ژنی چندشکل؛ H_E : هتروزیگوسیتی مورد انتظار؛ I: شاخص اطلاعات شانون

ژنتیکی بین جمعیت‌ها و مابقی آن (۷۹ درصد) به تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های این گونه مربوط می‌شود (جدول ۴).

همچنین ضریب تمایز ژنتیکی (p_t) به دست آمده از نشانگر ISSR بین جمعیت‌ها ۰/۲۳ بود (جدول ۴). تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که ۲۱ درصد از تنوع ژنتیکی کل در جمعیت‌های این مطالعه ناشی از تنوع

جدول ۴- تجزیه AMOVA در جمعیت‌های *Q. brantii* با استفاده از آغازگرهای نشانگر ISSR

| منبع تغییرات | df | SS | MS | VC | PV% | pt |
|--------------|-----|----------|--------|--------|-----|------|
| بین جمعیتی | ۷ | ۵۶۰/۳۵۶ | ۸۰/۰۵۱ | ۴/۷۹۶ | ۲۱ | ۰/۲۳ |
| درون جمعیتی | ۹۶ | ۱۶۹۹/۸۴۶ | ۱۷/۷۰۷ | ۱۷/۷۰۷ | ۷۹ | |
| کل | ۱۰۳ | ۲۲۶۰/۲۰۲ | | ۲۲/۵۰۲ | | |

df: درجه آزادی؛ SS: مجموع مربعات؛ MS: میانگین مربعات؛ VC: اجزاء واریانس؛ PV%: درصد اجزاء واریانس؛ p_t : تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها

متفاوت بود (جدول ۵). براساس آزمون مانتل همبستگی بین فاصله ژنتیکی جفت‌جمعیت‌ها با فاصله جغرافیایی آن‌ها براساس داده‌های ISSR ($r = 0.137$) معنی‌دار نبود.

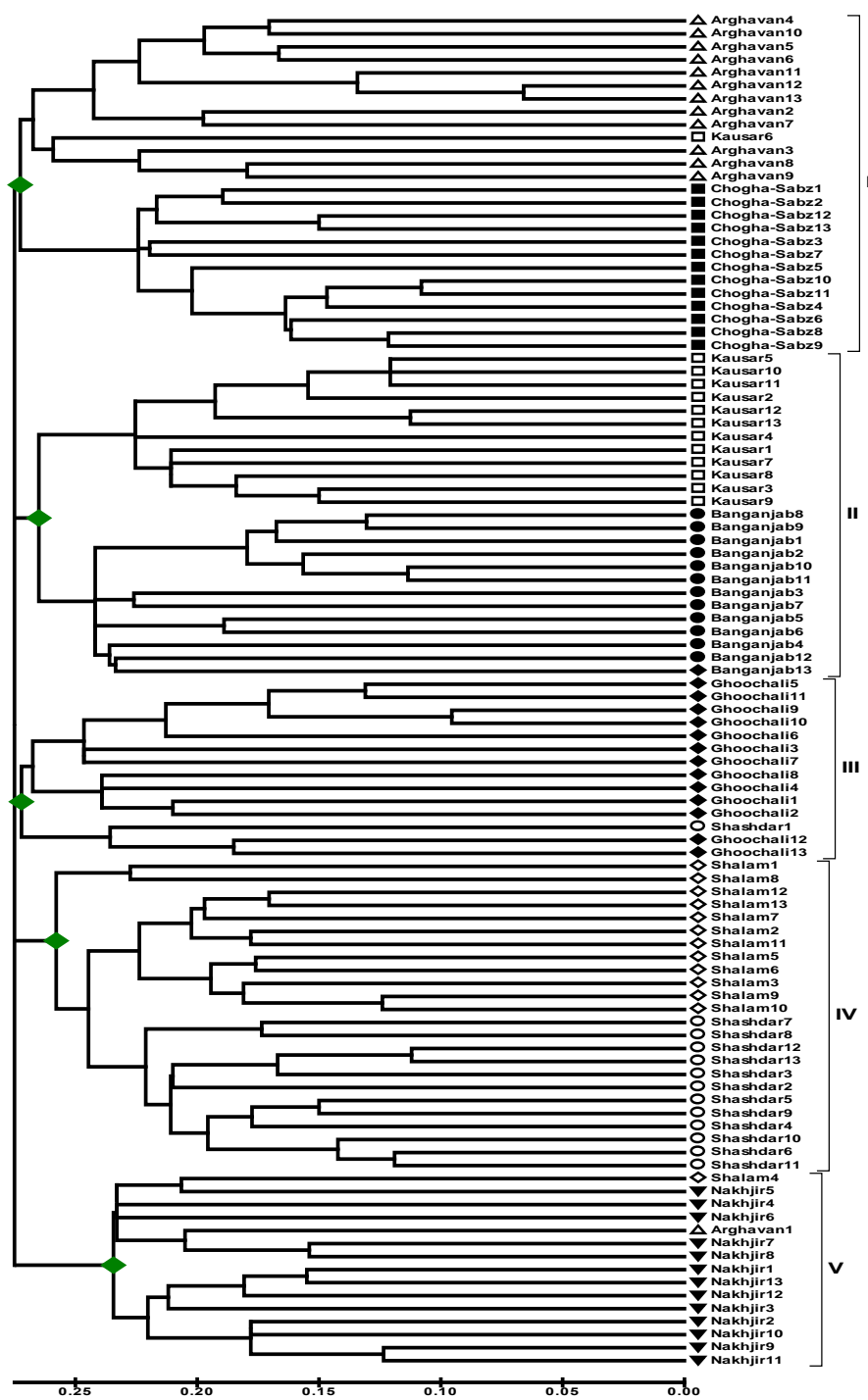
جدول ۵ فاصله ژنتیکی بین جفت‌جمعیت‌ها براساس نشانگر ISSR را نشان می‌دهد. مقادیر برآورد شده این آماره از ۰/۰۳۰ به‌عنوان کمترین (بین جمعیت‌های شلم و ششدار) تا ۰/۰۵۹ به‌عنوان بیشترین (بین جمعیت‌های شلم و کوثر)

جدول ۵- فواصل ژنتیکی ناریب نی میان جفت جمعیت‌های *Q. brantii* با استفاده از نشانگرهای ISSR

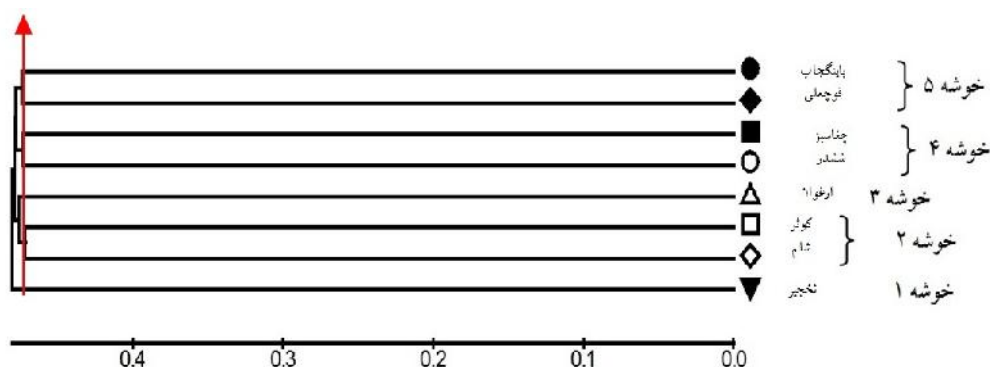
| فاصله ژنتیکی | کوثر | چغاسبز | ارغوان | قوچعلی | شلم | ششدار | نخجیر |
|--------------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|-------|
| بانگنجا | ۰/۰۳۵ | ۰/۰۳۹ | ۰/۰۴۰ | ۰/۰۵۴ | ۰/۰۴۹ | ۰/۰۴۳ | ۰/۰۳۹ |
| کوثر | | ۰/۰۴۸ | ۰/۰۵۲ | ۰/۰۵۱ | ۰/۰۵۹ | ۰/۰۵۲ | ۰/۰۴۴ |
| چغاسبز | | | ۰/۰۳۲ | ۰/۰۵۸ | ۰/۰۵۰ | ۰/۰۵۴ | ۰/۰۴۲ |
| ارغوان | | | | ۰/۰۴۲ | ۰/۰۴۷ | ۰/۰۵۰ | ۰/۰۴۱ |
| قوچعلی | | | | | ۰/۰۴۵ | ۰/۰۳۹ | ۰/۰۴۳ |
| شلم | | | | | | ۰/۰۳۰ | ۰/۰۳۷ |
| ششدار | | | | | | | ۰/۰۳۴ |

تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های مورد مطالعه براساس روش UPGMA و با استفاده از ماتریس فواصل ژنتیکی نی (Nei, 1978) به‌منظور ترسیم روابط ژنتیکی بین جمعیت‌ها انجام گرفت. بر همین اساس، تجزیه خوشه‌ای داده‌های این نشانگر هشت جمعیت مورد مطالعه را در پنج خوشه گروه‌بندی کرد. در خوشه یک جمعیت نخجیر به‌تنهایی قرار گرفت. جمعیت‌های کوثر و شلم به‌عنوان هم‌گروه در خوشه دو، جمعیت ارغوان به‌تنهایی در خوشه سه، جمعیت‌های چغاسبز و ششدار در خوشه چهار، و در خوشه پنجم جمعیت بانگنجا و قوچعلی قرار گرفتند (شکل ۳).

بر اساس ضریب تشابه دایس و الگوریتم همجواری ژنوتیپ‌های بلوط ایرانی این مطالعه در پنج گروه دسته‌بندی شدند (شکل ۲). ژنوتیپ‌های جمعیت‌های ارغوان و چغاسبز و یک نمونه از جمعیت کوثر در گروه اول قرار گرفتند. گروه دوم سایر ژنوتیپ‌های جمعیت کوثر و ژنوتیپ‌های جمعیت بانگنجا را شامل شد. در گروه سوم ژنوتیپ‌های جمعیت قوچعلی و یک نمونه از جمعیت ششدار قرار گرفتند. در گروه چهارم ژنوتیپ‌های جمعیت‌های شلم و ششدار و در گروه پنجم ژنوتیپ‌های جمعیت نخجیر، یک ژنوتیپ از جمعیت ارغوان و یک ژنوتیپ از جمعیت شلم هم‌گروه شدند (شکل ۲).



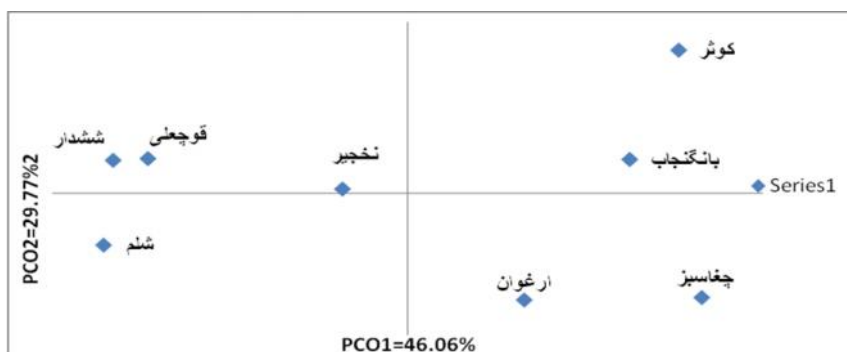
شکل ۲- گروه‌بندی مبتنی بر الگوریتم همجواری ۱۰۴ ژنوتیپ *Q. brantii* از ۸ جمعیت شهر ایلام بر اساس ۱۸۹ آلل تکثیر شده در ۱۵ مکان نشانگری ISSR



شکل ۳- دندروگرام UPGMA روابط ژنتیکی جمعیت‌های *Q. libani* براساس فواصل ژنتیکی نی برآورد شده از نشانگر ISSR

همانطور که شکل ۴ نشان می‌دهد جمعیت نجیر نسبت به سایر جمعیت‌ها فاصله کمتری با مرکز محور مختصات داشت که نشان از تنوع آلی و شاخص تنوع ژنتیکی بالای این جمعیت در مقایسه با سایر جمعیت‌هاست.

به منظور تجزیه و تحلیل بیشتر اطلاعات حاصل از نشانگر ISSR، داده‌های به دست آمده از نوارهای نمرده‌ی شده از طریق تجزیه به مختصات اصلی بررسی شد. نتایج آماری این تجزیه و تحلیل نشان داد که مولفه‌های اول و دوم به ترتیب ۴۶/۰۶ و ۲۹/۷۷ درصد اطلاعات را در بر داشتند.



شکل ۴- تجزیه به مختصات اصلی جمعیت‌های مختلف این مطالعه بر اساس اطلاعات ۱۸۹ آلل تکثیر شده در ۱۵ جایگاه ISSR

ISSR، حداقل ۱۰ و حداکثر ۱۷ نوار تکثیر شده است (Rahmani et al., 2015b).

از مجموع ۱۵ آغازگر ISSR ۱۸۹ نوار با ۱۰۰ درصد چندشکلی تکثیر شدند (جدول ۳). در *Q. brantii* با بهره‌گیری از ۱۵ آغازگر از نشانگر ISSR، ۹۶/۱ درصد نوارهای تکثیر شده در ۱۲۵ پایه مربوط به ۱۰ جمعیت مختلف چندشکل بود (Alikhani et al., 2014). در سطح جمعیت نیز درصد نوارهای چندشکل حاصل از آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه متفاوت بود (از ۴۹/۳ تا ۷۳/۸

بحث

در این مطالعه تعداد نوار تکثیر شده از آغازگرها بسته به آغازگر متفاوت بود (۷ تا ۲۰ نوار؛ جدول ۲). در *Q. infectoria* از ۱۵ آغازگر ISSR تکثیر حداکثر ۱۸ نوار (آغازگر UBC868) و حداقل ۷ نوار (آغازگر nISSR3) با میانگین ۱۱/۲ نوار گزارش شده است (Rahmani et al. 2015a). همچنین در بررسی ساختار جمعیت و تنوع ژنتیکی در ۱۶۴ ژنوتیپ برگرفته از ۱۴ جمعیت *Crataegus pontica* با استفاده از ۱۸ آغازگر

مبتنی بر انواع مختلف نشانگرهای مولکولی در جنس *Quercus* به دست آمده است (González-Rodríguez *et al.*, 2005). برای مثال، Rahmani و همکاران (۲۰۱۵a) در مطالعه تمایز ژنتیکی *Quercus infectoria* با استفاده از آغازگرهای ISSR گزارش کردند که ۷۶ درصد از تنوع ژنتیکی کل آشکار شده مربوط به تنوع ژنتیکی پایه‌های داخل جمعیت‌ها و ۲۴ درصد باقیمانده ناشی از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه بود. مقدار تمایز ژنتیکی به دست آمده میان جمعیت‌های این مطالعه ۰/۲۳ بود (جدول ۴)؛ به نظر می‌رسد این مقدار تا حدودی بیشتر از مقدار معمول برای گونه‌های دگرگرده‌افشان است که می‌تواند به دلیل رانش ژنتیکی ناشی از تکه‌شدگی زیستگاه و بهره‌برداری‌های بیش از حد ساکنان محلی در سال‌های اخیر باشد. بر اساس داده‌های به دست آمده فاصله ژنتیکی بین جفت جمعیت‌های مورد مطالعه از ۰/۳۰ تا ۰/۵۹ متفاوت بود. همبستگی بین این فاصله با فاصله جغرافیایی آنها بر اساس آزمون ماتل معنی‌دار نبود. عدم وجود رابطه مشخص بین فاصله ژنتیکی جمعیت‌ها و منشأ جغرافیایی آنها با هم در دیگر گونه‌های چوبی مانند *Quercus suber*، *Q. petraea* و *Populus sp.* به ترتیب توسط López-Aljorna و همکاران (۲۰۰۷)، Bacilieri و همکاران (۱۹۹۴) و Jianming و همکاران (۲۰۰۶) نیز مشاهده و گزارش شد.

اطلاع از ساختار ژنتیکی و الگوی تنوع آن به منظور تعریف و پایه‌ریزی هر گونه فعالیت حفاظتی مؤثر و کارآمد ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی گونه‌های اکوسیستم‌های طبیعی لازم و ضروری است (Shah *et al.*, 2008). چنین اقدامات و فعالیت‌ها، اطمینان از تداوم بقای جمعیت‌های یک گونه و حفظ توان و ظرفیت تکاملی آن‌ها را به دنبال دارد (Hamrick & Godt, 1996). بر اساس یافته‌های این مطالعه در ارتباط با ساختار ژنتیکی جمعیت‌های بلوط ایرانی انتخاب شده برای این کار می‌توان گفت که بخش عمده تنوع ژنتیکی در درون جمعیت‌ها وجود دارد. افزون بر این، تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت پایین و در سطح گونه بالاست.

درصد). چنین تفاوتی در بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Q. laurina* و *Q. affinis* با استفاده از نشانگر RAPD و جمعیت‌های *Q. infectoria* با استفاده از آغازگرهای نشانگر ISSR نیز مشاهده شده است (González-Rodríguez *et al.*, 2005; Rahmani *et al.*, 2015a).

در این مطالعه میانگین تنوع ژنی نی (H_E) در ژنوتیپ‌های *Q. brantii* در سطح جمعیت ۰/۱۴۷ برآورد شد. به طور مشابه این شاخص در بررسی گونه‌های *Q. brantii* و *Q. infectoriai* به ترتیب توسط Alikhani و همکاران (۲۰۱۴) و Rahmani و همکاران (۲۰۱۵) (۰/۱۸) و ۰/۲۱ برآورد شد. همچنین میانگین شاخص اطلاعات شانون (I) براساس آغازگرهای ISSR مورد استفاده در این تحقیق ۰/۲۲۷ بود. در مطالعه Feyissa و همکاران (۲۰۰۷) از بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین ۱۲ جمعیت از یک گونه گرمسیری به نام *Hagenia abyssinica* شاخص اطلاعات شانون (I) ۰/۳۰ تا ۰/۵۰ و تنوع ژنتیکی نی ۰/۲۱ تا ۰/۳۵ برآورد شد. به این ترتیب آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه تنوع ژنتیکی بالایی را نشان دادند که به نظر می‌رسد این وضعیت در بلوط‌ها احتمالاً به دلیل سیستم تلاقی آنها، فاصله کم میان توده‌ها و اینتروگرسیون میان گونه‌های یک توده طبیعی است (López-Aljorna *et al.*, 2007).

ساختار ژنتیکی جوامع گیاهی یک گونه را می‌توان انعکاسی از برهم‌کنش فرایندها و سازوکارهای تکاملی از جمله جهش، رانش ژنتیکی، سیستم تلاقی، جریان ژنی و انتخاب دانست (White *et al.*, 2007; Schaal *et al.*, 1998). به طور معمول، گونه‌های دگرگشن مانند بلوط‌ها از تنوع ژنتیکی درون جمعیتی بالا و تنوع بین جمعیتی پایینی برخوردارند (Zawko *et al.*, 2001). براساس تجزیه واریانس مولکولی ماتریس داده‌های ژنتیکی حاصل از ISSR، ۷۹ و ۲۱ درصد از تنوع ژنتیکی کل به ترتیب مربوط به تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مورد مطالعه بود (جدول ۴). نتایج مشابهی مبنی بر بیشتر بودن تنوع درون جمعیتی از تنوع بین جمعیتی از تجزیه AMOVA

Chinese elite accessions from the genus *Populus*. *Annals of Forest Science*, 63: 499–506.

- Kercher, S.M. and Sytsma, K.J., 2000. Genetic and morphological variation in populations of the rare prairie annual *Agalinis skinneriana* (Wood) Britton (Scrophulariaceae). *Natural Areas Journal*, 20: 166–175.
- Lewontin, R.C., 1972. Testing the theory of natural selection. *Nature*, 236: 181–182.
- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209–220.
- Namiranian, M.A., Henareh Khalyani, Gh., Zahedi Amiri Gh. and Ghazanfari, H., 2007. Study of different restoration and regeneration techniques in northern Zagros (Case study: Armardah oak forest, Baneh). *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 15: 386–397.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 101: 139–155.
- Peakall, R. and Smouse, P. E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288–295.
- Rahmani M.S., Alikhani L., Shabani N. and Khadivi-Khub A., 2015a Genetic differentiation in *Quercus infectoria* from northwest of Iran revealed by different nuclear markers. *Tree Genetics & Genomes* 11: 800–811.
- Rahmani M.S., Shabani N., Khadivi-Khub A., Woeste K.E., Badakhshan H. and Alikhani L. 2015b Population structure and genotypic variation of *Crataegus pontica* inferred by molecular markers. *Gene* (In Press); DOI:10.1016/j.gene.2015.07.001
- Redkina, N.N., Mullagulov, R.Y., Yanbaev, Y.A. and Degen, B., 2008. Fine spatial structure of allozyme genotypes in isolated population of pedunculate oak *Quercus robur* L. (Fagaceae). *Russian Journal of Genetics*, 44: 997–999.
- Schaal, B.A., Hayworth, D.A., Olsen, K.M., Rauscher, J.T. and Smith, W.A., 1998. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*, 7: 465–474.
- Shah, A., Li, D.Z., Gao, L.M., Li, H.T. and Moller, M., 2008. Genetic diversity within and among populations of the endangered species *Taxus fuana* (Taxaceae) from Pakistan and implications for its conservation. *Biochemical and Systematic Ecology*, 36: 183–193.
- Shakeri, Z., Marvi Mohajer, M.R., Namiranin, M. and Etemad, V., 2009. Comparison of seedling and coppice regeneration in pruned and undisturbed oak

منابع مورد استفاده

- Abdel-Mawgood, A.L., 2007. DNA fingerprinting studies of some bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using RAPD and ISSR techniques. *Alex. Journal of Agricultural Research*, 52: 57–61.
- Alikhani L., Rahmani M.S., Shabani N., Badakhshan H. and Khadivi-Khub A., 2014 Genetic variability and structure of *Quercus brantii* assessed by ISSR, IRAP and SCoT markers. *Gene*; 552: 176–183.
- Bacilieri, R., Labbe, T. and Kremer, A., 1994. Intraspecific genetic structure in a mixed population of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Q. robur* L. *Heredity*, 73: 130–141.
- Celikel, G., Demirsoy, L. and Demirsoy, H., 2008. The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulture*, 118: 115–119.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13–15.
- Duran, C.N., Appleby, T., Clark, D., Wood, M., Batley, I.J. and Edwards, D., 2009. AutoSNPdb: an annotated single nucleotide polymorphism database for crop plants. *Nucleic Acids Research*, 37: 951–953.
- Feyissa, T., Nybom, H., Bartish, I.V. and Welander, M., 2007. Analysis of genetic diversity in the endangered tropical tree species *Hagenia abyssinica* using ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54:947–958.
- Furat, S. and Uzun, B., 2010. The use of agromorphological characters for the assessment of genetic diversity in sesame (*Sesamum indicum* L.). *Plant Omics Journal*, 3: 85–91.
- Ghazanfari, H., Namiranian, M., Sobhani, H. and Marvi Mohajer, M.R., 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.
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W., 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 351:1291–1298.
- Jianming, G., Shougong, Z., Liwang, Q., Yong, Z., Chunguo, W. and Wenqin, S., 2006. ISSR and AFLP identification and genetic relationships of

- and chemical composition of the acorn in Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota* [Desf.] Samp.). *European Journal of Forest Research*, 131: 893–904.
- White, T.L., Adams, W.T. and Neale, D.B., 2007. *Forest Genetics*. CABI Publishing, Cambridge, Massachusetts, USA.
 - Zawko, G., Krauss, S.L., Dixon, K.W. and Sivasithamparam, K., 2001. Conservation genetics of the rare and endangered *Leucopogon obtectus* (Ericaceae). *Molecular Ecology*, 10: 2389–2396.
 - forests of Northern Zagros (Case study: Baneh, Kurdistan province). *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 17: 72-84.
 - Streiff, R., Ducouso, A., Lexer, C., Steinkellner, H., Gloessl, J. and Kremer, A., 1999. Pollen dispersal inferred from paternity analysis in a mixed oak stand of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl. *Molecular Ecology*, 8: 831–841.
 - Valero, G.J., Jorrín-Novo, J., Gómez, C., Ariza, D., García-Olmo, J. and Navarro-Cerrillo, R.M., 2012. Population variability based on the morphometry

Genetic differentiation in Persian oak (*Quercus brantii*) populations using genomic inter-microsatellite markers

N. Shabani^{1*}, A. Havasi² and A.A. Mehrabi³

1*- Corresponding author, Assoc. Prof., Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I.R.Iran. E-mail: n.shabani@uok.ac.ir

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

3- Assoc. Prof., Department of Agronomy and Plant Breeding; Faculty of Agriculture, University of Ilam, I.R.Iran

Received: 13.08.2015

Accepted: 28.10.2015

Abstract

Woody vegetative coverage of Zagros forests is mainly composed by oaks. Information on natural patterns of genetic variation is of fundamental practical importance for sustainable forest conservation and management. In the present study, to assess the genetic differentiation and population diversity of eight *Quercus brantii* populations with 104 genotypes from Ilam forests, genomic DNA was extracted and then amplified fragments from different primers were visualized and scored on 1.2% agarose gel. Of 22 screened ISSR primers, 15 primers produced repeatable and scorable bands. Dice and Jaccard similarity matrix were analysed. Then the data were molecularly analyzed using molecular analysis software, GenAlEx. The selected primers amplified 189 bands, from which all were polymorphic. The number of amplified fragments varied from 7 to 20 with an average of 12.6 bands per primer, and with size range of 100 to 1800 bp. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that major proportion of total genetic variation (79%) was attributed to within populations, and the remaining 21% was resulted from among population variation. High level of genetic variation was observed within *Q. brantii* natural populations from Ilam forests.

Keywords: gene diversity index, inter-microsatellite marker, Persian oak, population genetics.