دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ijrfpbgr.2017.109177.1233
جلد ۲۶، شماره ۲، صفحه ۲۹۱-۲۷۹ (۱۳۹۷)

تغییرات تنوع اکوتیپی جمعیت‌های گونه بلندمازو (*Quercus castaneifolia*) در طبقات ارتفاعی مختلف جنگل (مطالعه موردی: جنگلهای شرق استان گلستان)

اعظم احمدی مزرعچه[۱]، داوود آزادفر[۲*] و زهره سعیدی[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲*- نویسنده و مسئول مکاتبات، دانشیار، بیوتکنولوژی جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

پست الکترونیکی: azadfar.d@gmail.com

۳- دانش‌آموخته دکترای علوم جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۱۲

چکیده

آگاهی و شناخت تنوع ژنتیکی گونه‌ها برای سازگاری با تغییرات محیطی و بقای طولانی مدت آنها و همچنین مدیریت حفاظت منابع ژنتیکی جنگل بسیار مهم و حیاتی است و باید برای گونه‌های مهم صنعتی یا اکولوژیکی در اولویت مطالعه قرار گیرد. هدف از این پژوهش بررسی تغییرات تنوع اکوتیپی جمعیت‌های بلندمازو در طبقه‌های ارتفاعی (ارتفاع پایینی، میانی و بالایی) شرق استان گلستان، با استفاده از فعالیت کیفی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز شاخه‌های دوساله در شش جمعیت مختلف بود. مطالعه کیفی نشانگر پراکسیداز با استفاده از الکتروفورز عمودی و به‌روش الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید (PAGE) انجام شد. نتایج نشان داد که جمعیت‌های طبقه‌های ارتفاعی از نظر میزان تنوع در هر دو رویشگاه متفاوت بوده و جمعیت بالایی رویشگاه علی‌آباد کتول دارای بیشترین تنوع بودند. بنابراین برای افزایش تنوع باید ضمن تعیین پایه‌های شاخص اکوتیپی در محوطه‌های بذرگیری هر منطقه و کمک به تجدید حیات طبیعی آنها، نسبت به جریان ژنی از طریق بذر پایه‌های شاخص جمعیت‌های همجوار با شرایط اکولوژیک مشابه همراه با کنترل تعداد پایه‌های شاخص انتخابی با توجه به نیاز افزایش تنوع در هر رویشگاه اقدام نمود.

واژه‌های کلیدی: استان گلستان، بلندمازو، تنوع اکوتیپی، طبقه ارتفاعی، نشانگر پراکسیداز.

مقدمه

درختان بلوط در جنگل‌های شمال پس از راشستان‌ها با ارزش‌ترین توده‌های جنگلی به‌شمار می‌روند و گونه بلندمازو ۶/۶ درصد از سطح جنگل‌های شمال و از لحاظ حجم تقریباً ۸/۰۱ درصد از حجم چوبی و از لحاظ تعداد، ۷/۶۵ درصد درختان جنگل‌های شمال را به خود اختصاص می‌دهد (Ruhimoghadam *et al.*, 2008). این جنگل‌ها به‌علت وجود مصارف مختلف صنعتی و سنتی چوب بلوط و واقع شدن آنها در جلگه و ارتفاعات پایین‌بند از دیرباز مورد بهره‌برداری شدید قرار گرفته‌اند (Sabeti, 2004). استان گلستان واقع در بخش شرقی جنگل‌های شمال ایران دارای پراکنش وسیع جغرافیایی گونه بلندمازو از نظر میزان بارندگی، درجه حرارت و نوع خاک است. این تنوع در نتیجه سازگاری این گونه با شرایط اقلیمی، توپوگرافی و خاکی بوده و اغلب می‌توان آن را به یک سری از گرادیان-های محیطی ارتباط داد (Kiyani, 2005). بلندمازو با نام

علمی *Quercus castaneifolia* C. A . Mey در جنگل‌های هیرکانی از سایر گونه‌های جنس بلوط فراوان‌تر است و در ارتفاعات ساحلی پایین‌بند تا ارتفاعات میان‌بند و فوقانی این جنگل‌ها دیده می‌شود (Sabeti, 2004). این گونه از مهمترین گونه‌های صنعتی است و تا ارتفاع ۵۰ متر و قطر ۲ تا ۲/۵ متر می‌رسد (Sabeti, 2004). بلندمازو به‌دلیل داشتن دامنه اکولوژیک گسترده و سازگاری مناسب با شرایط اقلیمی و خاکی بسیاری از مناطق هیرکانی (Sabeti, 2004) و همچنین با توجه به ارزش بالای اقتصادی و زیست محیطی آن به‌عنوان یکی از بهترین گونه-های بومی برای جنگل‌کاری و احیای مناطق مخروبه در جنگل‌های هیرکانی محسوب می‌گردد (Ghelichkhani *et al*., 2006). گوناگونی ژنتیکی پیش‌شرط استمرار بقاء در شرایط ناهمگن زمانی و مکانی پیش‌رو و توانایی حفظ سازگاری برای نسل‌های آینده است (Ningre & Colin, 2007). همچنین با بالا رفتن تنوع ژنتیکی در جامعه حدود انتخاب هم در طبیعت و هم به‌طور مصنوعی وسیع‌تر می‌شود (Ghandehari *et al*., 2013). اطلاع از ساختار ژنتیکی و الگوی تنوع آن به‌منظور تعریف و پایه‌ریزی هر گونه فعالیت حفاظتی مؤثر و کارآمد ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی گونه‌های اکوسیستم‌های طبیعی لازم و ضروریست (Shabanian *et al*., 2015). طبق مطالعات انجام شده، نشانگرهای بیوشیمیایی همانند پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز در تعداد زیادی از گونه‌های جنگلی مثل بارانک، صنوبر، راش، افرا، بلوط و مانند این‌ها به‌منظورهای مختلفی همانند بررسی تنوع و انتخاب پایه‌ها یا اکوتیپ‌های مقاوم به تنش در درون یا بین جمعیت‌ها مورد استفاده قرار گرفته و کارایی آنها مطلوب ارزیابی شده است (Babaie *et al*., 2010; Reisi *et al*., 2011). بر اساس این مطالعات، نشانگر پراکسیداز دارای بیشترین میزان چند شکلی بوده و تنوع را بسیار بهتر از سایر نشانگرها در درون یا بین جمعیت‌ها نشان می‌دهد. پراکسیدازها در بسیاری از فرایندهای سلولی از قبیل متابولیسم اکسین، تشکیل چوب، اتصالات عرضی در دیواره سلول گیاهی، پاسخ به تنش‌های محیطی و مانند آن شرکت می‌کنند (Rahmani *et al*., 2014). فعالیت این آنزیم در فصول مختلف سال یکسان نیست، به‌طوری‌که حداکثر فعالیت را در فصول سرد سال و حداقل فعالیت را در تابستان دارد (Monerri & Guardiola, 2001). این آنزیم از مهمترین آنزیم‌ها در سیر تحولات فیزیولوژیک گیاهان می‌باشد و به‌دلیل فراوانی باندها و نیز امکان وضوح باند برای مطالعات ایزوآنزیمی همواره از جایگاه خاصی برخوردار است (Fallah *et al*., 2011). پژوهشگران بسیاری در مناطق مختلف دنیا تنوع درختان جنس بلوط را با استفاده از انواع نشانگرها بررسی کرده‌اند. با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۵۰ پایه درخت بلندمازو در پنج رویشگاه در جنگل‌های نکا و نور مازندران با استفاده از فعالیت آنزیمی پراکسیداز بیشترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه‌های میان‌بند و بالابند، کمترین فاصله ژنتیکی بین رویشگاه‌های میان‌بند و پایین‌بند مشاهده شد. همچنین تغییرات ارتفاعی به‌خوبی در گروه‌بندی رویشگاه‌ها ایفای نقش کرده است، به‌طوری‌که بیشترین فاصله ژنتیکی بین پایه‌های مرتفع‌ترین رویشگاه با پایه‌های کم ارتفاع‌ترین رویشگاه دیده شده است و علت تنوع و اختلاف بین رویشگاه‌ها اختلاف ارتفاع، اقلیم و اکولوژی رویشگاه‌ها بیان شده است. بررسی تکثر آللی، تعداد آلل مؤثر و هتروزیگوتی و مقایسه مقادیر فوق با مطالعات خارجی نشان داد که تنوع آللی و هتروزیگوتی در جمعیت بلوط‌های هیرکانی بیشتر از بلوط‌های اروپاست، امّا تنوع درون جمعیتی بلوط هیرکانی بیشتر از تنوع بین جمعیتی آن است (Reisi *et al*., 2011). در تحقیقی به‌منظور بررسی تأثیر ارتفاع و توپوگرافی بر تنوع ژنتیکی جمعیت-های *Q. serrata* در کوهستان‌های چی‌چی‌بو در مرکز ژاپن با استفاده از نشانگر ریزماهواره، هتروزیگوتی مشاهده شده بین ۰/۶۳۸ و ۰/۸۴۴ بود و این مقدار برای جمعیت‌های کنار آب نسبت به جمعیت‌های قله یا دامنه کوه بیشتر بود. نتایج این تحقیق به این اشاره دارد که احتمالاً فقدان خاک مرطوب، مانع توسعه و احیای *Q. serrata* است و تنوع ژنتیکی در مناطق خشک کاهش می‌یابد (Ohsawa *et al*., 2008). بنابراین با توجه به مطالب گفته شده و مهم بودن

آگاهی از تنوع ژنتیکی و تغییرات تنوع اکوتیپی در بحث مدیریت در مقابل تغییرات اقلیمی پیش‌رو و همچنین مدیریت بهره‌برداری توده و نیز از آنجایی که تنوع اکوتیپی برای گونه بلندمازو در استان گلستان تاکنون مطالعه نشده است، ازاین‌رو در این پژوهش تنوع اکوتیپی جمعیت‌های گونه بلندمازو در گرادیان ارتفاعی دو رویشگاه لوه و علی‌آباد کتول واقع در استان گلستان با استفاده از نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

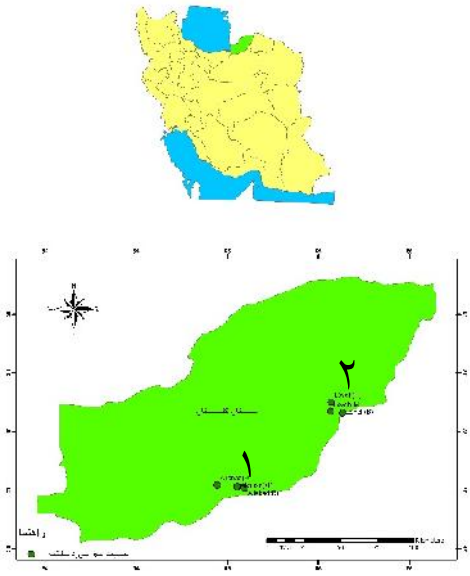
به‌منظور انجام این پژوهش، شش جمعیت در سه طبقه ارتفاعی (شامل ارتفاع پایینی، میانی و بالایی) شرق استان گلستان واقع در مناطق رویشگاهی علی‌آباد کتول و لوه در توده‌های مدیریت‌نشده انتخاب شدند (شکل ۱ و جدول ۱). ابتدا در هر جمعیت حدود ۱۰۰ پایه بلندمازو با قطر مشابه و سالم و با فاصله تقریبی ۵۰ تا ۱۰۰ متر از همدیگر برای اجتناب از قرابت‌های احتمالی انتخاب و از میان آنها حدود ۲۰ پایه بلندمازو (۶۰ پایه در رویشگاه لوه و ۴۲ پایه در رویشگاه علی‌آباد) به‌طور تصادفی انتخاب و علامت‌گذاری شدند. سپس در اواسط پاییز (بیشتر بودن چندشکلی ایزوآنزیمی پراکسیداز (Ali Ahmad Korori, 1999)) نمونه‌برداری اندام شاخه دو ساله، از ارتفاع میانه تاج و از جهت جنوبی (به دلیل تکمیل فرایند فیزیولوژیک) انجام شد (Hatziskakis *et al*., 2011). برای حفظ رطوبت، نمونه‌ها به‌صورت جداگانه درون کیسه نایلونی و در یخدان حاوی یخ خشک (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

مطالعات آزمایشگاهی

عصاره‌گیری از نیم گرم شاخه تر هر درخت که با قیچی باغبانی کاملاً خرد شده بود انجام و بلافاصله با نسبت ۳:۱ با محلول عصاره‌گیری توصیه شده توسط Ebermann و Stich (1982) مخلوط شد. این محلول شامل ۱/۲ گرم تریس، ۲ گرم اسید اسکوربیک، ۳/۸ گرم بوراکس، ۳/۶ گرم نمک طعام، ۲ گرم $EDTA\text{-}Na_2$ و ۵۰ گرم پلی‌اتیلن گلیکول به‌حجم یک لیتر بود. نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بعد با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و از قسمت شفاف رویی برای مطالعات کیفی آنزیم استفاده شد (Ali Ahmad Korori, 1999). مطالعه کیفی آنزیم با استفاده از الکتروفورز عمودی به‌روش PAGE (پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز) انجام شد که تاکنون در پژوهش‌های متعددی مورد استفاده قرار گرفته است (Hojjati *et al*., 2009؛ Iranmanesh *et al*., 2009؛ Fallah *et al*., 2011؛ Fallah *et al*., 2012؛ Mahmoodi Zarinabadi *et al*., 2014).

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌های الکتروفورتیکی از طریق امتیازدهی باندها به‌صورت صفر و یک به‌ترتیب برای عدم حضور و حضور باندها از روی ژل‌های تهیه شده در نرم‌افزار Excel انجام شد. سپس برای تجزیه خوشه‌ای براساس بهترین ضریب همبستگی کوفنتیک و تجزیه به مختصات اصلی از نرم‌افزار NTSYS ver. 2.02 استفاده شد (Rohlf, 1998). در این پژوهش خوشه‌بندی داده‌ها به‌روش جفت گروه‌های نامتوازن با استفاده از روش معدل گروهی (UPGMA) و براساس ضریب تشابه جاکارد انجام گردید. همچنین تجزیه‌وتحلیل داده‌ها در مورد ویژگی‌های آللی نشانگر مورد مطالعه، تعیین تنوع اکوتیپی درون و بین جمعیتی به کمک آزمون AMOVA (Jiang *et al*., 2012) و فاصله و شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها براساس رابطه نئی (Nei, 1978) در نرم‌افزار GenAlex Ver. 6.2 (Peakall & Smouse, 2006) انجام شد. لازم به‌ذکر است که نمونه‌ها با کدهای سه کاراکتری به‌ترتیب از چپ به راست شامل یک کاراکتر اول مربوط به طبقه ارتفاعی (ارتفاع پایینی=P، میانی=M و بالایی=B) و دو کاراکتر آخر مربوط به شماره هر نمونه مشخص شدند.



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه (۱- رویشگاه علی‌آباد کتول ۲- رویشگاه لوه)

جدول ۱- اطلاعات جغرافیایی جمعیت‌های مورد مطالعه

رویشگاه - جمعیت	طول جغرافیایی شرقی	عرض جغرافیایی شمالی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	متوسط دمای سالیانه (درجه سانتی‌گراد)	میانگین بارندگی سالیانه (میلی‌متر)
ارتفاع پایینی علی‌آباد کتول	۵۴° ۵۸' ۰۰	۳۶° ۵۰' ۵۳/۳"	۴۰۰	۱۷/۶	۵۸۶/۲
ارتفاع میانی علی‌آباد کتول	۵۵° ۰۵' ۲۶/۷"	۳۶° ۵۰'۲۰/۴"	۱۱۹۰	۱۲/۹	۵۸۳/۱
ارتفاع بالایی علی‌آباد کتول	۵۵° ۰۸' ۰۷/۲"	۳۶° ۴۹' ۴۸/۲"	۲۰۲۰	۱۲/۹	۵۸۳/۱
ارتفاع پایینی لوه	۵۵° ۳۹' ۵۳/۴"	۳۷° ۲۱' ۲۹/۴"	۵۸۳	۱۵/۰۵	۴۶۱
ارتفاع میانی لوه	۵۵° ۳۹' ۳۸/۵"	۳۷° ۱۸' ۰۴/۵"	۱۴۵۰	۱۵/۰۵	۴۶۱
ارتفاع بالایی لوه	۳۷° ۱۸' ۰۴/۵"	۳۷° ۱۷' ۲۸/۱۴"	۱۸۰۲	۱۵/۰۵	۴۶۱

نتایج

با توجه به نتایج حاصل از تنوع ژنتیکی بلندمازو در سه طبقه ارتفاعی دو رویشگاه علی‌آباد کتول و لوه، پارامترهای تنوع ژنتیکی در ارتفاعات مختلف هریک از این دو رویشگاه متفاوت هستند و به‌طورکلی در هر دو رویشگاه با حرکت از ارتفاع پایین به‌سمت بالا میزان تنوع ژنتیکی افزایش می‌یابد (جدول ۲ و ۳). طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA)، تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد خطا بین تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها در طبقات ارتفاعی هر دو رویشگاه علی‌آباد کتول و لوه وجود داشت (جدول ۴ و ۵). نتایج حاصل از ماتریس نئی در طبقات ارتفاعی رویشگاه‌های علی‌آباد کتول و لوه، بیشترین فاصله ژنتیکی و در نتیجه بیشترین تفاوت به‌لحاظ ساختار اکوتیپی بین دو ارتفاع میانی و بالایی و کمترین فاصله ژنتیکی و در نتیجه بیشترین شباهت به‌لحاظ ساختار اکوتیپی بین دو ارتفاع پایینی و میانی را نشان می‌دهد (جدول ۶ و ۷). این فواصل ژنتیکی به‌خوبی در گروه‌بندی دارنگار تجزیه خوشه‌ای طبقات

ارتفاعی هریک از این دو رویشگاه مشاهده می‌شود. به‌طوری‌که در دارنگار رویشگاه علی‌آباد جمعیت‌های ارتفاعات پایینی و میانی در یک خوشه و جدا از جمعیت ارتفاع بالایی قرار گرفته‌اند و در رویشگاه لوه هر سه جمعیت ارتفاعی در سه خوشه جدا از هم هستند (شکل ۲ و ۴). خط برش با توجه به میانگین ضرایب تشابه تعیین شد. با توجه به این نتایج و همچنین نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی طبقات ارتفاعی هریک از این دو رویشگاه، به‌نظر می‌رسد که جمعیت‌های هر سه ارتفاع رویشگاه لوه، اکوتیپ‌های جدا از هم هستند امّا در رویشگاه علی‌آباد فقط جمعیت ارتفاع بالایی اکوتیپ جدایی از دو جمعیت دیگر دارد (شکل۳ و ۵).

جدول ۲- ویژگی‌های آللی نشانگر پراکسیداز شاخه جمعیت‌های بلندمازو در طبقات ارتفاعی رویشگاه علی‌آباد کتول

پارامترهای تنوع ژنتیکی	جمعیت‌های مورد مطالعه							
	ارتفاع پایینی علی‌آباد کتول		ارتفاع میانی علی‌آباد کتول		ارتفاع بالایی علی‌آباد کتول		کل	
	میانگین	اشتباه معیار	میانگین	اشتباه معیار	میانگین	اشتباه معیار	میانگین	اشتباه معیار
تعداد کل آلل‌ها	۶		۶		۱۲		۱۴	
تعداد آلل مشاهده شده	۰/۷۱۴	۰/۲۴۴	۰/۶۴۳	۰/۲۲۵	۱/۶۴۳	۰/۱۹۹	۱/۰۰۰	۰/۱۴۵
تعداد آلل مؤثر	۱/۱۰۵	۰/۰۵۵	۱/۱۳۵	۰/۰۸۸	۱/۳۷۱	۰/۱۰۷	۱/۲۰۴	۰/۰۵۲
شاخص اطلاعات شانون	۰/۱۱۸	۰/۰۵۵	۰/۱۰۷	۰/۰۶۵	۰/۳۳۷	۰/۰۷۱	۰/۱۸۷	۰/۰۴۰
هتروزیگوتی	۰/۰۷۲	۰/۰۳۵	۰/۰۷۳	۰/۰۴۶	۰/۲۱۸	۰/۰۵۳	۰/۱۲۱	۰/۰۲۸
درصد چند شکلی	۲۸/۵۷		۲۱/۴۳		۷۸/۵۷		۴۲/۸۶	

جدول ۳- ویژگی‌های آللی نشانگر پراکسیداز شاخه جمعیت‌های بلندمازو در طبقات ارتفاعی رویشگاه لوه

پارامترهای تنوع ژنتیکی	جمعیت‌های مورد مطالعه							
	ارتفاع پایینی لوه		ارتفاع میانی لوه		ارتفاع بالایی لوه		کل	
	میانگین	اشتباه معیار	میانگین	اشتباه معیار	میانگین	اشتباه معیار	میانگین	اشتباه معیار
تعداد کل آلل‌ها	۶		۶		۸		۱۴	
تعداد آلل مشاهده شده	۰/۶۴۳	۰/۲۲۵	۰/۷۱۴	۰/۲۴۴	۱/۰۰۰	۰/۲۵۷	۰/۷۸۶	۰/۱۳۹
تعداد آلل مؤثر	۱/۱۳۰	۰/۰۷۸	۱/۲۰۸	۰/۰۹۶	۱/۳۲۸	۰/۱۱۸	۱/۲۲۲	۰/۰۵۷
شاخص اطلاعات شانون	۰/۱۱۵	۰/۰۶۳	۰/۱۷۲	۰/۰۷۶	۰/۲۵۵	۰/۰۸۶	۰/۱۸۱	۰/۰۴۴
هتروزیگوتی	۰/۰۷۷	۰/۰۴۳	۰/۱۱۸	۰/۰۵۳	۰/۱۷۷	۰/۰۶۱	۰/۱۲۴	۰/۰۳۰
درصد چند شکلی	۲۱/۴۳		۲۸/۵۷		۴۲/۸۶		۳۰/۹۵	

جدول ۴- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌های آنزیم پراکسیداز برای درختان بلندمازو در طبقات ارتفاعی رویشگاه علی‌آباد کتول

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس تخمینی	درصد تنوع ژنتیکی	ضریب تنوع (Phi)
بین جمعیت‌ها	۲	۳۰/۸۵۷	۱۵/۴۲۹	۱/۰۲۴	۴۸	
درون جمعیت‌ها	۳۹	۴۲/۷۸۶	۱/۰۹۷	۱/۰۹۷	۵۲	۰/۴۸۳**
کل	۴۱	۷۳/۶۴۳	–	۲/۱۲۱	۱۰۰	

**: در سطح ۱ درصد معنی‌دار.

جدول ۵- تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) داده‌های آنزیم پراکسیداز برای درختان بلندمازو در طبقات ارتفاعی رویشگاه لوه

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	واریانس تخمینی	درصد تنوع ژنتیکی	ضریب تنوع (Phi)
بین جمعیت‌ها	۲	۸۲/۱۳۳	۴۱/۰۶۷	۲/۰۱۳	۷۱	
درون جمعیت‌ها	۵۷	۴۶/۰۰۰	۰/۸۰۷	۰/۸۰۷	۲۹	۰/۷۱۴**
کل	۵۹	۱۲۸/۱۳۳	–	۲/۸۲۰	۱۰۰	

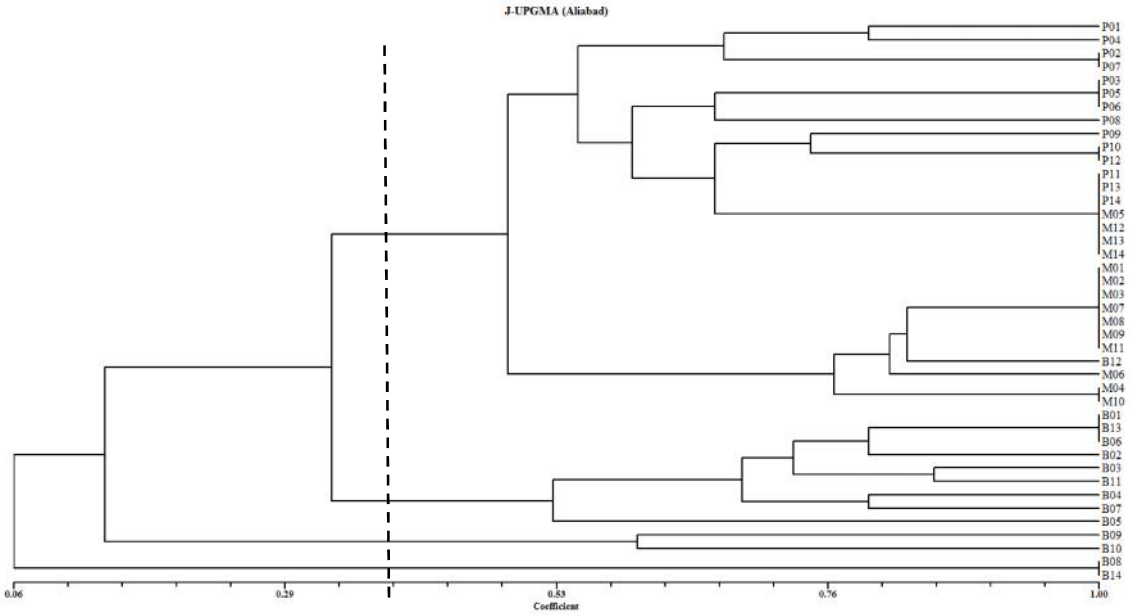
**: در سطح ۱ درصد معنی‌دار.

جدول ۶- ماتریس نئی شباهت ژنتیکی (بالای قطر اصلی) و فاصله ژنتیکی (پایین قطر اصلی) جمعیت‌های بلندمازو در طبقات رویشگاه علی‌آباد کتول

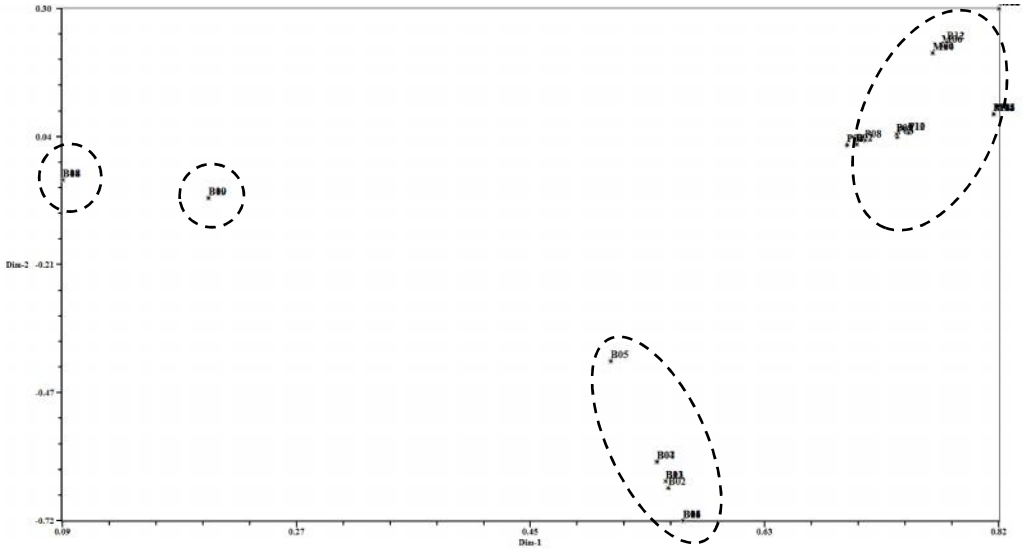
جمعیت	پایینی	میانی	بالایی
پایینی	۱	۰/۹۳۲	۰/۷۸۹
میانی	۰/۰۷۰	۱	۰/۷۷۸
بالایی	۰/۲۳۷	۰/۲۵۱	۱

جدول ۷- ماتریس نئی شباهت ژنتیکی (بالای قطر اصلی) و فاصله ژنتیکی (پایین قطر اصلی) جمعیت‌های بلندمازو در طبقات ارتفاعی رویشگاه لوه

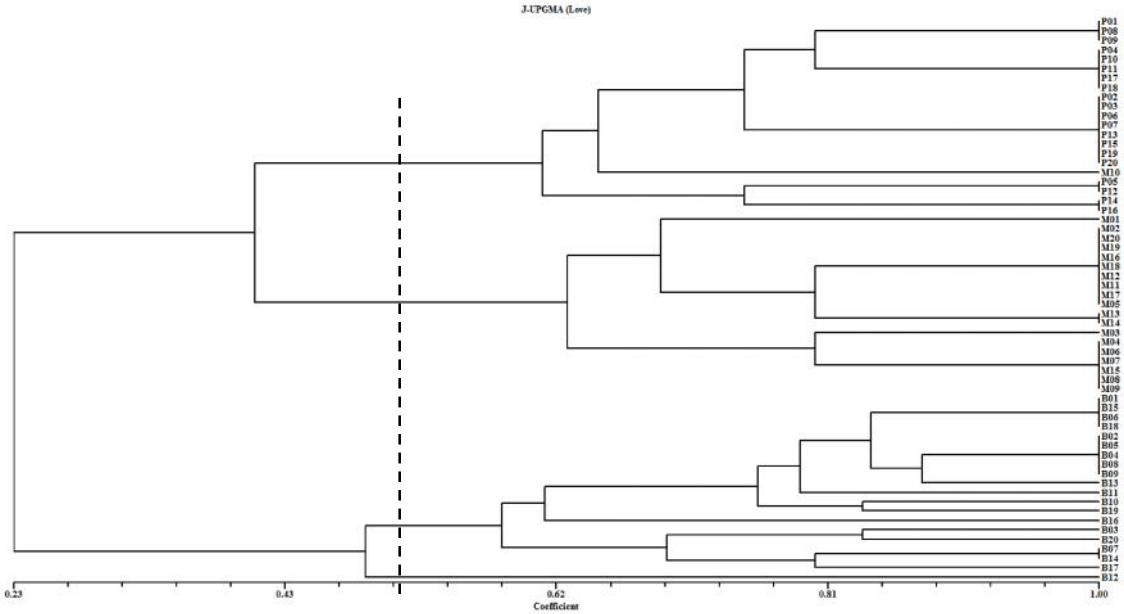
جمعیت	پایینی	میانی	بالایی
پایینی	۱	۰/۸۵۳	۰/۷۳۹
میانی	۰/۱۵۹	۱	۰/۷۰۶
بالایی	۰/۳۰۲	۰/۳۴۸	۱



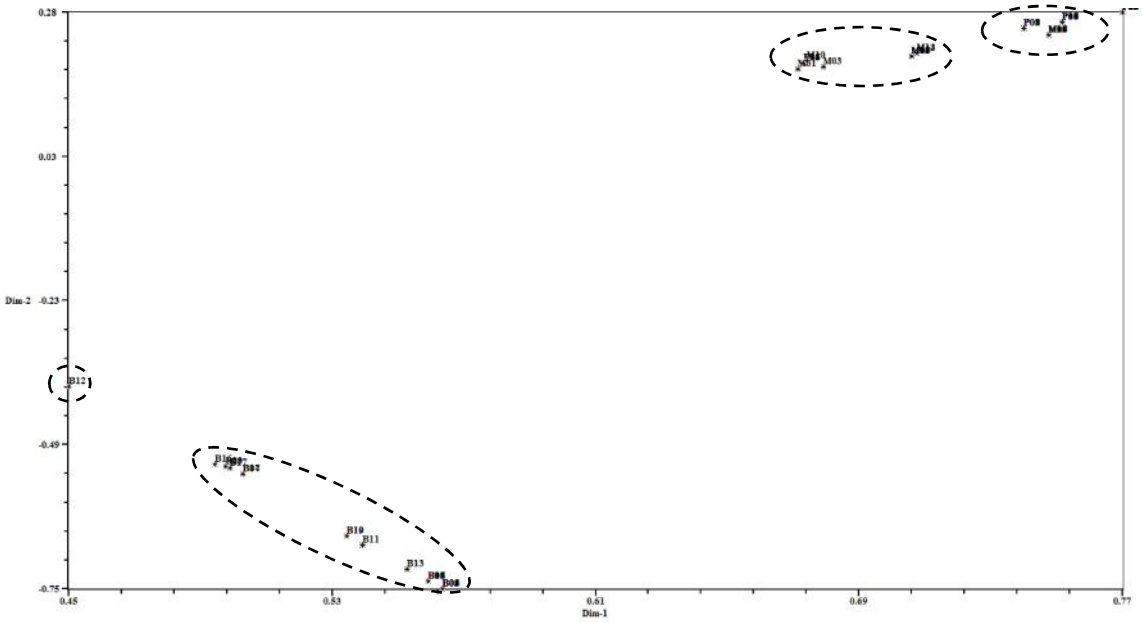
شکل ۲- دارنگار تجزیه خوشه‌ای نشانگر پراکسیداز شاخه جمعیت‌های بلندمازو در طبقات ارتفاعی رویشگاه علی‌آباد کتول (کاراکتر اول نماینده طبقه ارتفاعی شامل: ارتفاع پایینی=**P**، میانی=**M** و بالایی=**B** است).



شکل ۳- نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز اندام شاخه بین سه جمعیت رویشگاه علی‌آباد کتول (کاراکتر وسط نماینده طبقه ارتفاعی شامل: ارتفاع پایینی=**P**، میانی=**M** و بالایی= **B** است).



شکل ۴- دارنگار تجزیه خوشه‌ای نشانگر پراکسیداز شاخه جمعیت‌های بلندمازو در طبقات ارتفاعی رویشگاه لوه (کاراکتر اول نماینده طبقه ارتفاعی شامل: ارتفاع پایینی=**P**، میانی=**M** و بالایی=**B** است).



شکل ۵- نمودار دو بعدی حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز اندام شاخه بین سه جمعیت رویشگاه لوه (کاراکتر وسط نماینده طبقه ارتفاعی شامل: ارتفاع پایینی=**P**، میانی=**M** و بالایی= **B** است).

بحث

با توجه به نتایج حاصل از تنوع اکوتیپی بلندمازو در طبقات ارتفاعی دو رویشگاه علی‌آباد کتول و لوه، پارامترهای تنوع ژنتیکی در ارتفاعات مختلف هریک از این

دو رویشگاه متفاوت هستند و به‌طور کلی در هر دو رویشگاه با حرکت از ارتفاع پایین به سمت بالا میزان تنوع ژنتیکی افزایش می‌یابد. با توجه به نیازهای اکولوژیک گونه بلندمازو شامل نورپسندی، نیمه رطوبت‌پسندی، طالب خاک‌های عمیق و گرمادوست بودن، این امر می‌تواند به‌علت شرایط اقلیمی و جغرافیایی بدتر ارتفاعات بالا در این دو رویشگاه نسبت به ارتفاعات پایین باشد. این شرایط برای سایر گونه‌ها مناسب بوده که خود منجر به ایجاد رقابت و افزایش تنوع بلندمازو در ارتفاعات بالا شده است. البته لازم به‌ذکر است که با حرکت از جمعیت ارتفاع پایینی (۴۰۰ متر) رویشگاه علی‌آباد به‌سمت جمعیت ارتفاع میانی (۱۱۹۰ متر) این رویشگاه تنوع ژنتیکی مشابه است و به‌نظر می‌رسد انتخاب طبیعی هنوز در این دو ارتفاع باعث افزایش تنوع نشده امّا از این ارتفاع به بالا (۲۰۲۰ متر) تنوع به‌طور چشمگیری افزایش یافته است و این می‌تواند به معنای بحرانی شدن شرایط اکولوژیک برای بلندمازو باشد. امّا در طبقات ارتفاعی رویشگاه لوه تنوع اکوتیپی در هر سه ارتفاع با هم متفاوت بوده و با افزایش ارتفاع، میزان تنوع افزایش یافت. لازم به‌ذکر است که بین ارتفاعات میانی رویشگاه علی‌آباد با رویشگاه لوه حدود ۲۰۰ متر افزایش ارتفاع وجود دارد و اختلاف تنوع ارتفاع میانی با پایینی آن بر خلاف علی‌آباد می‌تواند نشان‌دهنده مرز بحرانی شرایط اکولوژیک برای گونه بلندمازو در این دامنه ارتفاعی از نظر تغییرات تنوع آللی باشد (۱۱۹۰–۱۴۵۰ متر). طبق نتایج حاصل از بررسی تنوع ژنتیکی بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) در جمعیت‌های مختلف ارتفاعی استان کهکیلویه و بویراحمد با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره، جوامع درختی طبقات ارتفاعی میانی تنوع ژنتیکی بالاتری را نسبت به جمعیت درختان طبقات ارتفاعی پایین و بالای خود نشان دادند (Zolfaghari *et al*., 2009).

طبق نتایج حاصل از ماتریس نئی در طبقات ارتفاعی رویشگاه‌های علی‌آباد و لوه، بیشترین فاصله ژنتیکی و در نتیجه بیشترین تفاوت به‌لحاظ ساختار اکوتیپی بین دو ارتفاع میانی و بالایی و کمترین فاصله ژنتیکی و در نتیجه بیشترین شباهت به‌لحاظ ساختار اکوتیپی بین دو ارتفاع پایینی و میانی مشاهده شد. این فواصل ژنتیکی به‌خوبی در گروه‌بندی دارنگار تجزیه خوشه‌ای طبقات ارتفاعی هریک از این دو رویشگاه مشاهده می‌شود. به‌طوری که در دارنگار رویشگاه علی‌آباد جمعیت‌های ارتفاعات پایینی و میانی در یک خوشه و جدا از جمعیت ارتفاع بالایی قرار گرفته‌اند و در رویشگاه لوه هر سه جمعیت ارتفاعی در سه خوشه جدا از هم هستند. با توجه به این نتایج و همچنین نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی طبقات ارتفاعی هریک از این دو رویشگاه، به‌نظر می‌رسد که جمعیت‌های هر سه ارتفاع رویشگاه لوه، اکوتیپ‌های جدا از هم هستند امّا در رویشگاه علی‌آباد فقط جمعیت ارتفاع بالایی اکوتیپ جدایی از دو جمعیت دیگر دارد. در بررسی تنوع ژنتیکی بلندمازو Reisi و همکاران (2011) با استفاده از پراکسیداز نتیجه‌ای مشابه نتیجه حاصل از این پژوهش را عنوان کردند.

طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای جمعیت‌های ارتفاعی مورد مطالعه رویشگاه علی‌آباد کتول، سهم تنوع درون جمعیت‌های بلندمازو (۵۲ درصد) بیشتر از تنوع بین جمعیت‌ها (۴۸ درصد) بود. در ضمن Reisi و همکاران (2011) در بررسی تنوع ژنتیکی بلندمازو با استفاده از پراکسیداز، Alikhani و همکاران (2014) در بررسی تنوع ژنتیکی مازودار و وی‌ول، Shabanian و همکاران (2015) در مطالعه تنوع درون و بین جمعیتی نه جمعیت بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) واقع در بخش شمالی جنگل‌های زاگرس و همچنین Shabanian و همکاران (2016) در مطالعه تمایز و تنوع ژنتیکی بین و درون هشت جمعیت مختلف بلوط ایرانی با شرایط رویشگاهی متفاوت از جنگل‌های ایلام و همچنین در مطالعات مشابه انجام شده توسط Berg & Hamrick (1993)، Samuel و همکاران (1995)، Craft & Ashley (2007) و Shiran و همکاران (2011) بر روی سایر گونه‌های جنس بلوط نتیجه‌ای مشابه نتیجه حاصل از این پژوهش را عنوان کردند. بنابراین به‌نظر می‌رسد علت تنوع بین جمعیتی بالا در رویشگاه علی‌آباد با توجه به سیستم

گرده‌افشانی با باد گونه بلندمازو (Craft & Ashley, 2007؛ Reisi *et al*., 2011؛ Naderi Shahab, 2013؛ Shabanian *et al*., 2015) و دره‌ای بودن شرایط رویشگاه علی‌آباد، امکان تبادل گرده بین دو جمعیت میانی و پایینی و عدم امکان تبادل گرده بین این دو جمعیت با جمعیت بالایی به‌علت جهت دامنه خیلی متفاوت آن (جنوب شرقی در مقابل شمال غربی تا غربی) باشد که باعث جدایی این جمعیت از سایر جمعیت‌ها شده است. همچنین باید توجه داشت که در این رویشگاه رقابت سایر گونه‌ها و برداشت‌های بی‌رویه از گذشته باعث عدم پیوستگی جمعیت‌های بلندمازو در این رویشگاه شده است. همچنین طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) برای جمعیت‌های ارتفاعی مورد مطالعه رویشگاه لوه، سهم تنوع بین جمعیت‌ها بیشتر از تنوع درون آنهاست (۷۱ درصد تنوع بین جمعیت‌ها و ۲۹ درصد تنوع درون جمعیت‌ها). ازاین‌رو به‌نظر می‌رسد که اختلاف فنولوژیک (Zolfaghari *et al*., 2015) به‌علت اختلاف زمانی در گرده‌افشانی طبقات ارتفاعی رویشگاه لوه باعث کاهش تبادلات ژنی بین سه جمعیت ارتفاعی این رویشگاه شده است. همچنین با قطع پایه‌های مادری تمام جمعیت‌های بینابین جمعیت‌های ارتفاعی رویشگاه لوه در اثر انتخاب شیوه جنگل‌شناسی پیشین، جریان ژنی بین این جوامع نیز در حال حاضر قطع می‌باشد. از سویی به‌نظر می‌رسد که جریان باد نیز در این طبقات به‌نحوی نیست که بتواند منجر به انتقال گرده بین جمعیت‌های ارتفاعی این رویشگاه شود. قطع شدن جریان ژنی در طبقات ارتفاعی این رویشگاه به‌خوبی در گروه‌بندی دارنگار تجزیه خوشه‌ای مشهود است، زیرا در این دارنگار هر سه جمعیت این رویشگاه کاملاً از هم تفکیک شده‌اند. این نتیجه (تنوع بین جمعیتی بیشتر از تنوع درون جمعیتی) با نتیجه حاصل از طبقات ارتفاعی رویشگاه علی‌آباد کتول و سایر مطالعات انجام شده متفاوت می‌باشد که البته Elena-Rossello و Cabrera (1996)، در بررسی تغییرات ژنتیکی بلوط چوب‌پنبه *Quercus suber* در هفت جمعیت مدیترانه‌ای آن در اسپانیا با استفاده از ۱۳ جایگاه در هفت سیستم آنزیمی نیز مقدار درصد تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیتی را به‌ترتیب ۸۳/۱ و ۱۶/۹ درصد برآورد کردند. در بررسی الگوی فیلوژئوگرافی و ساختار ژنتیکی ۳۰ جمعیت طبیعی گونه *Q. acutissima* نیز Zhang و همکاران (2015)، بر اساس توالی DNA کلروپلاست در چین و طبق نتایج تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) تنوع ژنتیکی بین جمعیتی و درون جمعیتی را به‌ترتیب ۵۹/۵۴ و ۴۰/۴۶ درصد گزارش و علت آن را تغییرات آب و هوایی، ناهمگنی جغرافیایی و نبود جریان ژنی عنوان کردند.

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که در طبقات ارتفاع از سطح دریا با افزایش ارتفاع تنوع افزایش یافته و به‌طور کلی اکوتیپ‌ها از هم قابل تفکیک هستند. با توجه به این نتایج و نیاز به برنامه‌های مدیریتی برای حفظ، بهبود و توسعه تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های طبقات ارتفاعی دو رویشگاه علی‌آباد کتول و لوه در استان گلستان، باید نسبت به تعیین پایه‌های شاخص در محوطه‌های بذرگیری و جریان ژن از طریق بذر پایه‌های شاخص توده‌های همجوار با شرایط اکولوژیک مشابه همراه با کنترل تعداد پایه‌های شاخص انتخابی با توجه به میزان افزایش تنوع در هر رویشگاه اقدام گردد.

منابع مورد استفاده

- Ali Ahmad Korori, S., 1999. Investigation on responses of forest trees enzymes to alteration of envirmental factors. Research Institute of Forests and Rangelands Press, 208: 368p.
- Alikhani, L., Rahmani, M.S., Shabanian, N. and Badakhshan, H., 2014. Genetic diversity assessment of *Quercus infectoria* and *Q. libani* populations in North-Zagros forests based on ISSR and IRAP markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 22(1): 79-90.
- Babaie, F., Jalali, S.G. and Azadfar, D., 2010. Genetic variation investigation on *Zelkova carpinifolia*, from three Iranian north lowland habitats using leaf peroxidase. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 18(1): 83-92.
- Berg, E.E. and Hamrick, J.L., 1993. Regional genetic variation in turkey oak, *Quercus laevis*. Canadian Journal of Forest Research, 23(7): 1270-1274.

- Craft, J. and Ashley, V., 2007. Landscape genetic structure of bur oak (*Quercus macrocarpa*) savannas in Illinois. Forest Ecology and Management, 239: 13-20.
- Ebermann, R. and Stich, K., 1982. Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees. Phytochemistry, 21: 2401-2402.
- Elena-Rossello, J.A. and Cabrera, E., 1996. Isozyme variation in natural populations of Cork-Oak (*Quercus suber* L.). Silvae Genetica, 45(4): 229-235.
- Fallah, H., Tabari, M. and Azadfar, D., 2011. Determination ecotypes of *Populus caspica* Bornm. In plain communities of Caspian forests using morphological markers of leaf and peroxidase isoenzymes. Taxonomy and Biosystematics, 3(6): 48-57.
- Fallah, H., Tabari, M., Azadfar, D. and Babaie, F., 2012. Investigation of genetic diversity in endangered stands of *Populus caspica* Bornm. of sub-mountain forests in north of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 19(2): 289-303.
- Ghandehari, V., Ahmadikhah, A. and Payamnoor, V., 2013. Genetic diversity of *Buxus hyrcana* populations in north of Iran using ISSR markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 21(1): 1-12.
- Ghelichkhani, M.M., Tabari, M., Akbarinia, M. and Espahbodi, K., 2006. Influence of light intensity and root pruning on growth. Pajouesh and Sazandegi, 66: 2-7.
- Hatziskakis, S., Tsiripidis, I. and Papageorgiou, A.C., 2011. Leaf morphological variation in beech (*Fagus sylvatica* L.) populations in Greece and its relation to their post-glacial origin. Botanical Journal of the Linnean Society, 165: 422-436.
- Hojjati, F., Zarre, Sh. and Assadi, M., 2009. Isoenzyme diversity and cryptic speciation in *Juniperus excelsa* (Cupressaceae) complex in Iran. Biochemical Systematics and Ecology, 37: 200-193.
- Iranmanesh, Y., Ali Ahmad Korori, S., Espahbodi, K. and Azadfar, D., 2009. Comparision of qualitative and quantitative of peroxidas in different organs of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 17(1): 155-165.
- Jiang, Zh., Yuxia, Ch. and Ying, B., 2012. Population genetic structure of *Tamarix chinensis* in the Yellow River Delta, China. Plant Systematics and Evolution, 298: 147-153.
- Kiyani, B., 2005. Forest genetic (Development of tree and forest). Haghshenas Press, Rasht, 212pp.
- Mahmoodi Zarinabadi, M.B., Azadfar, D. and Saeedi, Z., 2014. Comparison of the efficiency of leaf morphological and peroxidase isozyme markers in segregation of *Fagus orientalis* Lipsky plus and non-plus trees in Shastkalate forest-Gorgan. Journal of Wood and Forest Science and Technology, 20(4): 197-210.
- Monerri, C. and Guardiola, J., 2001. Peroxidase activity and isoenzyme profile in buds and leaves in relation to flowering in Satsuma mandarin (Cirtus un shiu). Scientia Horticulturae, 90: 1-2. 43-56.
- Naderi Shahab, M.A., 2013. Iran oaks. Azad Peyma Press, Tehran, 305 pp.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from asmall number of individuals. Genetics, 89: 583-590.
- Ningre, F. and Colin, F., 2007. Frost damage on the terminal shoot as a risk factor of fork incidence on common beech (*Fagus sylvatica* L.). Annals of Forest Science, 64: 79-86.
- Ohsawa, T., Saito, Y., Sawada, H. and Ide, Y., 2008. Impact of altitude and topography on genetic diversity of *Quercus serrata* populations in the Chichibu Mountains, central Japan. Flora–Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 203: 187-196.
- Peakall, R. and Smouse, P.E., 2006. GENALEX 6.2: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes. 6: 288-295.
- Rahmani, A., Seighali, N. and Ebrahimzadeh, H., 2014. Exploring the changes of Peroxidas activity in different concentrations of H2O2 and different amounts of pH in Saffron in sleep-wake. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal. 3(10): 79-84.
- Reisi, Sh., Jalali, S.Gh.A. and Espahbodi, K. 2011., An investigation of genetic variation of (*Quercus castaneifolia* C.M Mey) in Neka and Noor forest of Mazandaran using peroxides activities. Taxonomy and Biosystematics, 3(7): 11-22.
- Rohlf, F.J., 1998. NTSYS-pc ver. 2.02. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Publishing, Setauket.
- Ruhimoghadam, A., Hoseini, S.M., Ebrahimi, A., Rahmani, A. and Tabari, M., 2008. The effect of mixing rates on qualitative and quantitative characteristics of oak-Zelkova plantation. Pajouesh Va Sazandgi, 77: 155-168.
- Sabeti, H., 2004. Trees and shrubs of Iran. Yazd University Press, 876pp.
- Samuel, R., Pinsker, W. and Ehrendorfer, F., 1995. Electrophoretic analysis of genetic variation within and between populations of *Quercus cerris*, *Q. pubescens*, *Q. petraea* and *Q. robur* (Fagaceae) from Eastern Austria. Botanica Acta, 108 (4): 290-299.
- Shabanian, N., Alikhani, L. and Rahmani, M.S., 2015. Phenotypic and genotypic diversity in brant oak (*Quercus brantii*) populations of declining north-Zagros forests using biochemical characteristics and

Fang, Y., 2015. Phylogeography of the temperate tree species *Quercus acutissima* in China: Inferences from chloroplast DNA variations. Biochemical Systematic and Ecology, 63: 190-197.
- Zolfaghari, R., Akbarinia, M., Mardi, M. and Ghanati, F., 2009. 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.
- Zolfaghari, R., Derikvand, R., Naghiha, R. and Fayyaz, P., 2015. Comparison of genetic diversity of dieback and healthy Cypress (*Cupressus sempervirens* L. Var. *horizontalis*) at different altitudes using seed storage proteins. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 23(2): 277-287.
molecular SCoT marker. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 23(1): 13-29.
- Shabanian, N., Havasi, A. and Mehrabi, A.A., 2016. Genetic differentiation in Persian oak (*Quercus brantii*) populations using genomic inter-microsatellite markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 24(1): 66-78.
- Shiran, B., Mashayekhi, S., Jahanbazi, H,. Soltani, A. and Bruschi, P., 2011. Morphological and molecular diversity among populations of *Quercus brantii* Lindl. In western forest of Iran. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official Journal of the Societa Botanica Italiana, 145(2): 452-460.
- Zhang, X., Li, Y., Liu, C., Xia, T., Zhang, Q. and

Ecotypic diversity alteration of *Quercus castaneifolia* populations in different elevation classes of forest (case study: East of Golestan province)

A. Ahmadi[1], D. Azadfar[2*], Z. Saeedi[3]

1- M.Sc., Graduated Student of Silviculture and Forest Ecology, Forest Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R.Iran.
2*- Corresponding Author, Assoc. Prof., in Forest Biotechnology, Forest Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R.Iran, Email: azadfar.d@gmail.com
3- Ph.D. in Forest Sceince, Forest Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R.Iran.

Received: 16.03.2017 Accepted: 02.11.2017

Abstract

Knowledge and understanding the genetic diversity of species is very important for adaptation to environmental changes and their long-term survival and also for the management of forest genetic resources conservation. Therefore, study of industrial or ecologically important species should be done in order of priority. The aim of this research was exploring the ecotypic diversity changes of *Quercus castaneifolia* populations in elevation classes of Golestan province (low, middle, and upper elevation) by the qualitative study of peroxidase biochemical marker in the biennial branches of six different populations. Qualitative study of peroxidase marker was done by vertical electrophoresis and PAGE method (Poly Acrylamide Gel Electrophoresis). Based on the results, populations of altitudinal classes were different regarding amount of diversity and ecotypes were separable from each other. Therefore, index bases in the seed production areas should be determined and their natural regeneration should be increased and gene flow should be improved through the seeds of index bases of the adjacent populations with similar ecological conditions with controlling the number of selected index bases considering the increased diversity in each habitat.

Key words: Ecotype diversity, elevation classes, Golestan province, *Quercus castaneifolia*, peroxidase marker.