

## تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی جمعیت‌های بلوط ایرانی در جنگل‌های در حال کاهش زاگرس شمالی با استفاده از مشخصه‌های بیوشیمیایی و نشانگر مولکولی SCoT

نقی شعبانیان<sup>۱</sup>، لیلا علیخانی<sup>۲</sup> و محمدشفیع رحمانی<sup>۳\*</sup>

۱- دانشیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

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

۳- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس ارشد، بیوتکنولوژی گیاهی، آزمایشگاه بیولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

پست الکترونیک: m.rahmani@uok.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۲۹

### چکیده

در این مطالعه تنوع درون و بین جمعیتی نه جمعیت طبیعی بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) شامل ۱۲۵ ژنوتیپ واقع در بخش شمالی جنگل‌های زاگرس با استفاده از نشانگر مولکولی چندشکلی نواحی هدف کدون شروع (SCoT) و مشخصه‌های بیوشیمیایی بذر و برگ بررسی شد. تجزیه واریانس ۱۲ مشخصه بیوشیمیایی وجود تنوع بین جمعیتی معنی‌دار را در بیشتر صفات نشان داد. براساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، این مشخصه‌ها در سه مؤلفه اول در تبیین ۶۳ درصد (بذر) و ۷۱ درصد (برگ) از تنوع فنوتیپی کل نقش داشتند. تجزیه خوشه‌ای داده‌های فنوتیپی نه جمعیت مورد مطالعه را کاملاً از هم متمایز و در سه خوشه اصلی گروه‌بندی کرد. ۱۰ آغازگر SCoT ۱۱۸ نوار را در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تکثیر کردند که از این تعداد ۱۱۳ نوار (۹۵ درصد) چندشکل بودند. در سطح گونه این آغازگرها تنوع ژنتیکی بالایی را آشکار کردند [ $H_e = 0.23$ ، درصد لوکوس‌های چندشکل (PPL) =  $95/7$  درصد]. براساس تجزیه واریانس مولکولی فقط ۲۳ درصد از تنوع ژنتیکی کل آشکار شده که ناشی از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها بود. بنابراین به نظر می‌رسد پایین بودن تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها به دلیل جریان ژنی گسترده ناشی از گرده‌افشانی به کمک باد باشد که در بلوط‌ها به طور معمول اتفاق می‌افتد. تجزیه خوشه‌ای مبتنی بر نشانگرهای مولکولی، جمعیت‌های *Q. brantii* را در خوشه‌های متمایز گروه‌بندی کرد. به طوری که همبستگی بین روابط ژنتیکی با فواصل جغرافیایی جمعیت‌ها براساس آزمون مانتل معنی‌دار نبود. این تحقیق نشان داد که از نشانگرهای بیوشیمیایی می‌توان همراه با نشانگرهای مولکولی برای مطالعه تنوع ژنتیکی وابسته به مکان جمعیت‌های بلوط استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بلوط ایرانی، ژنتیک جمعیت، تجزیه خوشه‌ای، نشانگر مولکولی، چندشکلی.

### مقدمه

آذربایجان غربی تا استان فارس واقع شده‌اند. بلوط‌ها فراوانترین، و به لحاظ اقتصادی، اجتماعی و اکولوژیکی مهمترین گونه‌های این جنگل‌ها هستند. افزایش رشد جمعیت در دهه‌های اخیر و نیاز ساکنان محلی به سوخت،

جنگل‌های زاگرس با مساحت تقریبی ۵ میلیون هکتار و اختصاص بیشترین سهم از جنگل‌های ایران به خود، در امتداد رشته‌کوه‌های زاگرس، از جنوب استان

(Holsinger & Gottlieb, 1991). آگاهی از مقدار تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌های یک گونه می‌تواند برای برنامه‌ریزی اقداماتی همانند غنی‌سازی جمعیت‌های موجود، ورود مواد ژنتیکی و جمع‌آوری بذر سودمند باشد (Schemske *et al.*, 1994).

مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف بلوط با بهره‌گیری از ارزیابی محتوای پروتئوم بذر و برگ انجام شده است (Echevarria-Zomeno *et al.*, 2009; Jorge *et al.*, 2005; Martin *et al.*, 2009; Valero *et al.*, 2012). بهره‌گیری از ترکیبات بیوشیمیایی بذر نیز ابزاری سودمند و مفید برای ارزیابی تنوع جمعیتی جوامع طبیعی بلوط‌ها گزارش شده است (Dodd *et al.*, 1993; Ozcan, 2007; Rafii *et al.*, 1991, 1993; Valero *et al.*, 2012). به طوری که تنوع در ترکیب اسیدهای چرب بذر بین جوامع ایتالیایی و اسپانیایی *Q. ilex* و *Q. rotundifolia* توانسته است جمعیت‌های این دو گونه را از هم تفکیک کند (Rafii *et al.*, 1991). چنین تنوعی با استفاده از اسیدهای چرب بذر جمعیت‌های طبیعی و هیبرید *Q. agrifolia* و *Q. wislizenii* نیز مشاهده شده است (Dodd *et al.*, 1993). در مطالعه تنوع جمعیتی ۱۳ جامعه *Quercus ilex* بر اساس ویژگی‌های بیوشیمیایی بذر، گزارش شده است که جمعیت‌های مورد مطالعه به لحاظ خصوصیات بیوشیمیایی بذر تنوع معنی‌داری با هم داشتند (Valero *et al.*, 2012). تجزیه خوشه‌ای داده‌های این تحقیق، جمعیت‌های مربوط به پرووانس‌های شمالی را در یک خوشه و جمعیت‌های مربوط به پرووانس‌های جنوبی را در خوشه دیگری تفکیک کرد. اخیراً بررسی تنوع ژنتیکی هشت جمعیت مختلف بلوط ایرانی (*Q. brantii*) با بهره‌گیری از نشانگر مولکولی AFLP نشان داده است که تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها بیشتر از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌هاست. محققان مطالعه مذکور بر این باورند که جمعیت‌های مختلف بلوط ایرانی مورد مطالعه از تنوع ژنتیکی بالایی برخوردارند؛ و وجود احتمالی زیرگونه‌ها و یا حتی گونه‌های دیگری در توده‌های طبیعی را یکی از دلایل وجود تنوع ژنتیکی بالا در

منبع غذایی برای دام‌ها و زمین کشاورزی و بهره‌برداری بی‌رویه از محصولات غیرچوبی، چهره این جنگل‌ها را به طور کلی دگرگون کرده و بجز در نقاط محدودی همانند قبرستان‌ها، دیگر انبوهی سابق این جنگل‌ها مشاهده نمی‌شود (Shakeri *et al.*, 2009). شکل غالب جنگل‌شناسی این جنگل‌ها شاخه‌زاد بوده و این خود بیانگر تخریب ناشی از فعالیت‌های تخریبی طولانی‌مدت جوامع انسانی در این جنگل‌هاست. امروزه تجدید حیات و زادآوری در جنگل‌های زاگرس به یکی از نگرانی‌های حافظان منابع طبیعی تبدیل شده است. با وجود این اهمیت و این نگرانی‌ها، پایه‌ریزی برنامه‌های شناسایی و حفاظت از ذخیره‌گاه‌های ژرم‌پلاسم این گونه‌ها در اولویت قرار نگرفته است. در رابطه با تنوع ژنتیکی و دوری و نزدیکی ژنتیکی جمعیت‌های بلوط ایرانی (*Quercus brantii*) زاگرس شمالی اطلاعاتی در دسترس نیست، اگرچه چنین اطلاعاتی برای پایه‌ریزی راهکارهای حفاظت و بهره‌برداری از ژرم‌پلاسم هر گونه گیاهی بسیار مهم و ضروریست.

داده‌های به دست آمده از مطالعات انجام شده با استفاده از خصوصیات ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی، و نشانگرهای مبتنی بر DNA، چندشکلی بالا در جمعیت‌های طبیعی *Quercus* را نشان داده‌اند (Finkeldey & Matyas, 2003; Gandour *et al.*, 2007; Jimenez *et al.*, 1999; Lumaret *et al.*, 2002; Lumaret & Jabbour-Zahab, 2009; Martin *et al.*, 2009; Valero *et al.*, 2012). بالابودن تنوع درون‌گونه‌ای در بلوط‌ها را می‌توان ناشی از دورگه‌گیری مبتنی بر اینتروگرسیون بین گونه‌های نزدیک‌به‌هم (Rieseberg, 1997) و جریان گسترده ژنی بین جمعیت‌های بلوط‌ها دانست (Kleinschmit & Kleinschmit, 2000). تنوع ژنتیکی در پویایی و پایداری جمعیت‌های یک گونه نقشی تعیین‌کننده دارد (Allendorf & Ryman, 2000). از تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها اغلب به‌عنوان شاخصی غیرمستقیم برای نمایاندن خطر انقراض و از بین رفتن جمعیت‌های یک گونه استفاده می‌شود، زیرا ظرفیت تکاملی گونه گیاهی تحت تأثیر این تنوع است

می‌توان به آسان‌بودن و کم‌هزینه بودن بکارگیری آن، چندشکلی بالا، آشکارسازی اطلاعات ژنتیکی وسیع و فراگیر بودن آغازگرهای آن در ژنوم گیاهان اشاره کرد. افزون‌براین، در طراحی آغازگرهای این نشانگر به اطلاع از توالی نوکلئوتیدی ژنوم نیاز نیست (Collard & Mackill, 2009).

با وجود گزارش‌های متعدد منتشر شده در رابطه با مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی گونه‌های مختلف بلوط به‌ویژه گونه‌های اروپایی *Quercus ilex* و *Q. robur* با استفاده از نشانگرهای مختلف مولکولی، ریخت‌شناختی و بیوشیمیایی، تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی تنوع مولکولی درون و بین‌جمعیتی گونه‌های بلوط جنگل‌های زاگرس شمالی گزارش نشده است. این پژوهش برای اولین بار به بررسی تنوع ژنتیکی نه جمعیت مختلف بلوط ایرانی (*Q. brantii* Lindl.) در این ناحیه از زاگرس با استفاده از نشانگر مولکولی SCoT و مشخصه‌های فنوتیپی پرداخته است.

## مواد و روش‌ها

### مناطق مورد مطالعه و مواد گیاهی

در مجموع ۱۲۵ پایه از نه جمعیت توده‌های مختلف بلوط ایرانی (*Q. brantii*) شهرستان‌های مریوان و بانه انتخاب شد (جدول ۱). در هر جمعیت حداقل ۱۰ ژنوتیپ با فواصل حداقل ۱۰۰ متر از همدیگر (به‌منظور جلوگیری از تکرار نمونه‌گیری از ژنوتیپ‌های همسان) به‌صورت جنگل‌گردشی انتخاب و از آنها نمونه‌برداری انجام شد.

در اردیبهشت ۱۳۹۱ برگ تازه و جوان از پایه‌های انتخابی جدا شد و نمونه‌ها تا انتقال به آزمایشگاه در محفظه‌ای حاوی یخ و تا زمان استخراج DNA در  $4^{\circ}\text{C}$  - نگهداری شدند. موقعیت مکانی پایه‌های نمونه‌برداری شده با استفاده از سیستم موقعیت‌یاب جهانی (GPS) ثبت، و در مهرماه همان سال (پس از توقف کامل رشد برگ و بذرها) به‌صورت تصادفی حداقل ۲۰ برگ و ۲۰ بذر از هر پایه برای بررسی‌های بیوشیمیایی جدا و در داخل محفظه‌ای

جمعیت‌های مورد مطالعه می‌دانند (Mashayekhi *et al.*, 2010). با هدف ارائه چارچوب مدیریتی مبتنی بر حفظ ذخایر ژنتیکی در جنگل‌های بلوط استان کهگیلویه و بویراحمد، مطالعه تنوع ژنتیکی ۵۲ ژنوتیپ نمونه‌برداری شده از چهار طبقه ارتفاعی بلوط ایرانی (*Q. brantii*) با استفاده از ده نشانگر SSR نشان داده که ژنوتیپ‌های طبقه ارتفاعی میانی نسبت به ژنوتیپ‌های طبقات ارتفاعی بالاتر و پایین‌تر از خود تنوع ژنتیکی بیشتری دارند که بر این اساس باید به حفاظت از این ژنوتیپ‌ها توجه بیشتری شود (Zolfaghari *et al.*, 2009). مطالعه تمایز بین دو گونه *Quercus petraea* و *Q. robur* در ایرلند با استفاده از تجزیه و تحلیل ریخت‌شناختی برگ و نشانگر مولکولی AFLP نشان داد که تنوع مولکولی درون‌گونه‌ای جوامع بیشتر از تنوع بین‌گونه‌ای آنهاست (Kelleher *et al.*, 2005).

در این مقاله، علاوه بر مشخصه‌های بیوشیمیایی بذر و برگ، برای ارزیابی دقیق‌تر تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه از نشانگر مولکولی چندشکلی مبتنی بر رمز آغاز (SCoT) نیز استفاده شده است. این نشانگر به‌عنوان یکی از نشانگرهای نوین مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)، براساس نواحی کوتاه حفاظت‌شده اطراف رمز آغاز ATG در ژن‌های گیاهی طراحی شده است. نشانگرهای SCoT به‌طور کلی در مقایسه با ISSR و RAPD از تکرارپذیری بیشتری برخوردارند و عقیده بر این است که طول و دمای اتصال آغازگرها، تنها عواملی نیستند که در تکرارپذیری الگوی نواری آنها نقش دارند. این نشانگرها به‌مانند نشانگرهای ISSR و RAPD بارز هستند و می‌توانند در مطالعات تنوع ژنتیکی و نقشه‌یابی مکان‌های ژنی صفات کمی (QTLs) به‌کار گرفته شوند (Collard & Mackill, 2009). نشانگر SCoT به‌لحاظ اینکه هر آغازگر آن به‌عنوان آغازگر پیش‌رونده و پس‌رونده عمل می‌کند، به نشانگرهای RAPD و ISSR شبیه است. این نشانگر در PCR از تک-آغازگرهای ۱۸ نوکلئوتیدی استفاده، و آشکارسازی چندشکلی توالی نوکلئوتیدی بین رمزهای آغاز (ATG) در ژن‌های گیاهی را ممکن می‌کند. از مزایای این نشانگر

(TN) و پروتئین کل (Pr) نمونه‌ها با استفاده از ۰/۲ گرم از هر نمونه بر اساس روش کج‌دال (Baker & Thompson, 1992) اندازه‌گیری شد. از روش Yoshida و همکاران (۱۹۷۶) برای اندازه‌گیری نشاسته کل (S) و قندهای محلول (TC) استفاده شد. اندازه‌گیری پتاسیم (K)، کلسیم (Ca) و منیزیم (Mg) از طریق جذب اتمی بر پایه روش Hanlon (۱۹۹۲) انجام گردید. برای اندازه‌گیری آهن (Fe)، روی (Zn)، منگنز (Mn)، سدیم (Na) و مس (Cu) نیز از روش Hanlon (۱۹۹۲) با استفاده از دستگاه رنگ‌سنجی شعله‌ای (Flame Photometer) استفاده شد.

حاوی بسته‌های سیلیکاژل به آزمایشگاه منتقل و تا زمان اندازه‌گیری مشخصه‌های مورد نظر در ۴°C نگهداری شدند.

### تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی

به‌منظور تجزیه بیوشیمیایی، ابتدا پوسته پریکارپ بذر با چاقو برش داده شد و بعد کوتیلدون بذر (شامل جوانه) با استفاده از آسیاب برقی خرد شد. به‌همین ترتیب نمونه‌های برگ نیز پس از خشک شدن، به صورت پودر درآمدند. پودر خرد شده بذرها و برگ‌های مربوط به یک پایه با هم به صورت یکنواخت مخلوط و در قالب ۴ تکرار نمونه ترکیبی برای هر یک از آنها تهیه گردید. مقدار نیتروژن کل

جدول ۱- مناطق نمونه‌برداری و تعداد ژنوتیپ‌های نمونه‌برداری شده از هر جمعیت

تعداد ژنوتیپ	عرض جغرافیایی (N)	طول جغرافیایی (E)	ارتفاع (متر)	کد	جمعیت
۱۶	۲۷° ۲۵' ۳۵"	۴۳° ۱۰' ۴۶"	۱۳۵۰-۱۴۷۰	CA	کال
۱۶	۳۱° ۳۴' ۳۵"	۴۹° ۱۷' ۴۶"	۱۳۸۰-۱۶۰۰	GL	گمارلنگ
۱۰	۳۱° ۳۶' ۳۵"	۳۳° ۱۸' ۴۶"	۱۴۰۰-۱۶۰۰	DW	دویسه
۱۹	۲۸° ۴۰' ۳۵"	۴۵° ۱۵' ۴۶"	۱۵۰۰-۱۷۰۰	GM	قامیشله
۱۰	۳۲° ۵۰' ۳۵"	۴۶° ۴۸' ۴۵"	۱۳۶۰-۱۴۸۰	KD	کنده‌سوره
۱۲	۳۴° ۵۱' ۳۵"	۴۹° ۶۴' ۴۵"	۱۳۷۰-۱۵۰۰	BL	پلکه
۱۲	۳۴° ۵۶' ۳۵"	۴۹° ۰۰' ۴۶"	۱۶۰۰-۱۸۵۰	HA	هواره‌خول
۱۷	۳۶° ۵۶' ۳۵"	۴۸° ۴۶' ۴۵"	۱۴۱۰-۱۵۱۰	TJ	تاژان
۱۳	۳۵° ۵۸' ۳۵"	۴۹° ۴۸' ۴۵"	۱۳۵۰-۱۴۸۰	SL	سالوک
۱۲۵	کل				

یک از نمونه‌های DNA با استفاده از بافر TE بر روی ۲۰ نانوگرم/میکرولیتر برای تکثیر PCR رقیق شد. از ۱۵ آغازگر مورد غربالگری اولیه (Collard SCoT & Mackill, 2009) ۱۰ آغازگر براساس قابلیت نمره‌دهی به نوارهای تکثیرشده انتخاب شدند (جدول ۲). همه واکنش‌های تکثیر در حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر بافر مسترمیکس ۲X (۰/۱) واحد پلیمرز در هر

### استخراج DNA و تجزیه و تحلیل نشانگرها

استخراج DNA از ۱۲۵ ژنوتیپ نمونه‌برداری شده با استفاده از ۰/۱ گرم بافت برگ و بر پایه روش (1987) Doyle and Doyle با کمی تغییرات انجام شد. کیفیت و کمیت نمونه‌های DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر کنترل شد و نمونه‌های یاد شده تا زمان انجام PCR در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. غلظت نهایی هر

۷۲°C به ترتیب به مدت ۴۵، ۴۵ و ۹۰ ثانیه، و بسط نهایی در ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه. سپس محصول PCR در ژل آگارز ۱ درصد تفکیک و نوارهای تکثیر شده با استفاده از محلول اتیدیوم بروماید ۰/۱ درصد رنگ آمیزی شدند. آشکارسازی نوارهای رنگ آمیزی شده و عکس برداری از آنها با استفاده از دستگاه ژل داکيومنت (Gel Doc™ XR, Bio-Rad) و کمی سازی ژلها (نمره دهی نوارهای تکثیر شده) با استفاده از نرم افزار تجزیه و تحلیل تصاویر ژل داک (Image Lab Software v. 4.0) به کمک خط کش ژنی ۱ کیلوبازی DNA (شرکت سیناژن) انجام شد.

میکرولیتر، ۳ میلی مولار MgCl<sub>2</sub>، ۰/۴ میلی مولار از هر یک از dNTPها؛ سیناژن)، ۱ میکرولیتر آغازگر (۱۰ میکرومولار)، ۱ میکرولیتر DNA ژنومی (۲۰-۴۰ نانوگرم) و ۳ میکرولیتر آب استریل دیونیزه. به منظور جلوگیری از تبخیر مایعات واکنش، پس از افزودن اجزای واکنش ۵ میکرولیتر روغن معدنی به میکروتیوب واکنش افزوده شد. برای هر یک از آغازگرها، واکنش های تکثیر با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر (Bio-Rad) C-1000 در شرایط زیر انجام گردید: مرحله واسرشتگی اولیه ۵ دقیقه ای در دمای ۹۴°C، سپس ۴۵ چرخه ۹۴°C، ۵۹°C-۵۰ (جدول ۲) و

جدول ۲- ردیف نوکلئوتیدی آغازگرهای SCoT و دمای بهینه اتصال آنها (AT)

AT (°C)	ردیف نوکلئوتیدی (5'→3')	آغازگر	ردیف
۵۳/۳	CAACA <u>AT</u> GGCTACCACGA	SCoT5	۱
۵۲/۰	CAACA <u>AT</u> GGCTACCACGC	SCoT6	۲
۵۰/۷	CAACA <u>AT</u> GGCTACCAGCA	SCoT9	۳
۵۶/۳	ACGAC <u>AT</u> GGCGACCAACG	SCoT12	۴
۵۳/۸	ACGAC <u>AT</u> GGCGACCACGC	SCoT14	۵
۵۳/۹	AACCA <u>AT</u> GGCTACCACCAC	SCoT22	۶
۵۳/۹	ACCA <u>AT</u> GGCTACCACCGGG	SCoT25	۷
۵۹/۴	ACCA <u>AT</u> GGCTACCACCGTG	SCoT27	۸
۵۲/۰	CC <u>AT</u> GGCTACCACCGCG	SCoT30	۹
۵۶/۳	C <u>AT</u> GGCTACCACCGGCC	SCoT35	۱۰

## تجزیه و تحلیل داده ها

نرمال بودن توزیع فراوانی داده های بیوشیمیایی با استفاده از آزمون کلمینگروف-اسمیرنوف مورد آزمون قرار گرفت. داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SAS (SAS Institute, 2004) تجزیه و تحلیل شدند. ضریب تغییرات (CV) محاسبه و میانگین جمعیت ها برای هر یک از صفات براساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار فیشر (LSD) مقایسه شد. تجزیه خوشه ای جمعیت ها با استفاده از روش وارد (Ward, 1963) انجام گردید. تجزیه به مؤلفه های اصلی (PCA) داده های بیوشیمیایی با استفاده

از نرم افزار (R Package Rsaft; R Core Team, 2013) انجام شد.

به دلیل غالب بودن نشانگر SCoT (Collard & Mackill, 2009)، هر نوار تکثیر شده از آغازگرهای این نشانگر نمایانگر فنوتیپ یک لوکوس دوآلی است (Williams *et al.*, 1990). نیم رخ نوارهای تکثیر شده از آغازگرهای SCoT هر نمونه برای وجود نوارهای شفاف و واضح به صورت ۱ (وجود) و صفر (عدم وجود) نمره دهی شد. ماتریس دوتایی داده های وجود و عدم وجود نوارهای SCoT با استفاده از برنامه های (Peakall GenAEx 6.1)

## نتایج

### تجزیه فنوتیپی

تفاوت در بیشتر پارامترهای بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده بین جمعیت‌های این مطالعه، معنی‌دار بود (جدول ۳). تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که سه مؤلفه اول در بافت بذر ۶۳/۴ و در بافت برگ ۷۱ درصد از تنوع کل فنوتیپی را نشان دادند (جدول ۴). بر اساس اندازه‌گیری‌های بافت بذر، مؤلفه اول که ۳۰ درصد از تنوع را نشان داده است عمدتاً ناشی از تنوع صفات سدیم، آهن و کلسیم بود. البته صفات گوگرد و روی به‌عنوان مهمترین صفت دخیل در مؤلفه دوم، ۱۸ درصد تنوع فنوتیپی جمعیت‌ها را نشان داد. همچنین مؤلفه سوم که ۱۵ درصد از تنوع کل را نشان داد شامل پروتئین، کربوهیدرات و منگنز بود (جدول ۴). در بافت برگ، مؤلفه اول که عامل ۳۳ درصد از تنوع فنوتیپی است، اغلب برگرفته از تنوع در صفات آهن و روی بود. در مؤلفه دوم، صفت گوگرد و کربوهیدرات به‌عنوان مهمترین صفات اثرگذار، ۲۰ درصد تنوع فنوتیپی جمعیت‌ها را نشان داد. همچنین در مؤلفه سوم که ۱۸ درصد از تنوع کل فنوتیپی را تبیین کرد، پتاسیم، سدیم و کلسیم بیشترین نقش را داشتند (جدول ۴). بر اساس تجزیه خوشه‌ای، مجموع داده‌های فنوتیپی جمعیت‌های مورد مطالعه در سه شاخه هم‌گروه شدند. در گروه اول جمعیت‌های هه‌واره‌خول، دویسه، سالوک و تازان قرار گرفتند. جمعیت کنده‌سوره از بقیه جمعیت‌ها متمایز و خوشه دوم به‌تنهایی آن را در خود جای داد. جمعیت‌های کال، گمارلنگ، قامیشه و بلکه به‌عنوان هم‌گروه در خوشه سوم هم‌گروه شدند (شکل ۱).

(POPGENE و XLSTAT® & Smouse, 2006) فرض تعادل هاردی - وینبرگ برای برآورد پارامترهای ژنتیکی تجزیه و تحلیل شد. تعداد کل نوارهای تکثیر شده (TB)، تعداد مکان‌های ژنی چندشکل (PL)، شاخص اطلاعات شانون (I)، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و تنوع ژنی نی ( $H_e$ ) برای هر یک از آغازگرهای مورد استفاده به‌طور جداگانه در سطح گونه محاسبه شدند. همچنین درصد نوارهای چندشکل (PPB%) و تنوع ژنی نی با فرمول  $H_e = 1 - \sum p_i^2$  که در آن  $p_i$  فراوانی یک قطعه خاص از SCOT است، در سطح جمعیت محاسبه شدند. افزون‌براین، ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها با برآورد بزرگی نسبی تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها ( $G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$ ) و میزان جریان ژنی ( $N_m = (1 - G_{ST}) / 4G_{ST}$ ) (Nei, 1978) بیشتر مورد بررسی قرار گرفت. علاوه‌بر این، به‌منظور کمی‌کردن سهم تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها ( $H_{pop}$ ) و درون کل گونه ( $H_{sp}$ ) شاخص اطلاعات شانون ( $H_o$ ) (Lewontin, 1972) محاسبه شد. سپس سهم تنوع ژنتیکی میان جمعیت‌ها به‌صورت  $(H_{sp} - H_{pop}) / H_{pop}$  برآورد شد. به‌منظور تفکیک واریانس ژنتیکی کل به واریانس ژنتیکی درون جمعیتی و بین جمعیتی تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) (Excoffier et al., 1992) انجام گردید. واگرایی ژنتیکی بین جمعیت‌ها با استفاده از فواصل ژنتیکی (GD) نی پایه‌های هر جامعه مورد بررسی قرار گرفت. سپس فواصل ناریب ژنتیکی نی برای همه جفت جمعیت‌ها محاسبه و از آن برای ترسیم درخت فیلوژنتیکی استفاده شد (UPGMA). به‌منظور اعتباربخشی به دندروگرام به‌دست آمده، ضریب همبستگی کوفنتیک محاسبه شد. علاوه بر این، وجود همبستگی ماتریس فواصل ژنتیکی جمعیت‌ها با فواصل جغرافیایی آنها با استفاده از آزمون مانتل بررسی شد (Mantel, 1967).

جدول ۳- نتایج ANOVA ۱۲ صفت فنوتیپی اندازه گیری شده در جمعیت های مختلف بلوط ایرانی

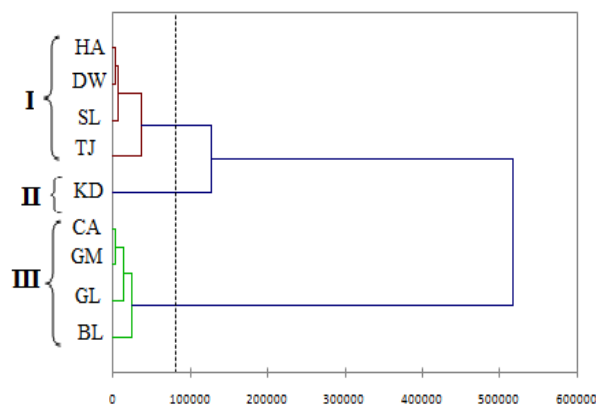
برگ		بذر		صفات
F	MS	F	MS	
۲/۴۲	۷/۳۷ <sup>*</sup>	۱/۹۸	۰/۱۷ <sup>ns</sup>	نیترژن کل
۲/۴۲	۲۸۸/۲۶ <sup>**</sup>	۱/۹۱	۴/۰۱ <sup>ns</sup>	پروتئین
۲/۶۴	۰/۹۲ <sup>*</sup>	۲/۶۲	۱/۳۳ <sup>*</sup>	قندهای محلول
۱/۶۸	۲۵۵/۸۶ <sup>ns</sup>	۲/۶۲	۱/۳۳ <sup>*</sup>	کربوهیدرات کل
۴/۶۶	۱۰۲۷۹/۵ <sup>**</sup>	۳/۲۲	۲۹۷۵/۸۵ <sup>**</sup>	پتاسیم
۳/۶۰	۲۶۱/۱۹ <sup>**</sup>	۱/۴۵	۴/۰۸ <sup>ns</sup>	منیزیم
۲/۵۷	۰/۳۷ <sup>*</sup>	۰/۶۳	۳/۲۱ <sup>ns</sup>	کلسیم
۲/۲۵	۰/۸۸ <sup>*</sup>	۲/۲۳	۱/۹۹ <sup>*</sup>	آهن
۱/۶۶	۰/۴۵ <sup>ns</sup>	۰/۵۳	۰/۰۲ <sup>ns</sup>	روی
۱/۸۹	۵/۷۳ <sup>ns</sup>	۲/۷۷	۰/۱۳ <sup>*</sup>	منگنز
۴/۱۳	۰/۰۹ <sup>**</sup>	۳/۸۷	۰/۳۹ <sup>**</sup>	سدیم
۱/۹۰	۵/۵۴ <sup>ns</sup>	۱/۱۲	۰/۶۶ <sup>ns</sup>	مس

\*\* : معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد؛ \* : معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد؛ ns : غیر معنی دار.

### تجزیه مولکولی

با میانگین ۱۱/۸ نوار در هر آغازگر تکثیر شد، که از این تعداد ۱۱۳ نوار چندشکل بودند (جدول ۵). در شکل ۲ پروفایل SCOT برخی ژنوتیپها با استفاده از آغازگر SCOT6 نشان داده شده است.

از آزمایشهای غربالگری اولیه بر روی ۱۵ آغازگر SCOT، ۱۰ آغازگر نوارهای شفاف و چندشکل تولید کردند و بدین ترتیب برای واکنشهای تکثیر در کل جمعیتها مورد استفاده قرار گرفتند. از این آغازگرها در مجموع ۱۱۸ نوار



شکل ۱- دندروگرام UPGMA روابط ژنتیکی (Ward, 1963) جمعیت های *Q. brantii* براساس فواصل اقلیدسی مبتنی بر مشخصه های فنوتیپی

جدول ۴- واریانس تجمعی سه فاکتور اصلی به دست آمده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی مشخصه‌های اندازه‌گیری شده در جمعیت‌های مختلف بلوط ایرانی

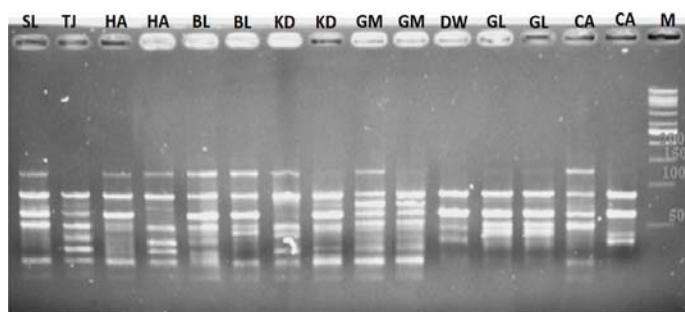
صفت	بذر			برگ		
	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳	مؤلفه ۱	مؤلفه ۲	مؤلفه ۳
TN	۰/۲۱	۰/۱۹	-۰/۰۷	-۰/۲۸	۰/۰۴	-۰/۳۰
Pr	-۰/۳۶	۰/۰۱	-۰/۳۶	-۰/۳۵	-۰/۲۴	-۰/۳۰
S	-۰/۲۹	-۰/۵۱	-۰/۰۹	-۰/۲۷	۰/۴۰	۰/۰۹
TC	-۰/۲۲	-۰/۲۰	-۰/۳۶	-۰/۳۰	-۰/۴۰	-۰/۲۹
K	-۰/۰۳	-۰/۰۲	-۰/۶۱	-۰/۲۷	-۰/۲۰	-۰/۴۲
Mg	-۰/۲۹	-۰/۵۱	-۰/۰۹	-۰/۲۱	۰/۵۰	-۰/۲۰
Ca	-۰/۴۰	۰/۲۰	۰/۳۰	۰/۰۲	۰/۱۸	۰/۳۸
Fe	۰/۴۰	-۰/۰۴	-۰/۳۱	-۰/۳۹	-۰/۰۵	۰/۰۸
Zn	-۰/۱۰	-۰/۳۳	۰/۱۰	-۰/۴۴	-۰/۰۵	۰/۲۳
Mn	۰/۰۱	-۰/۱۳	۰/۳۵	-۰/۱۵	-۰/۱۳	۰/۲۸
Na	۰/۴۰	-۰/۲۶	-۰/۰۵	۰/۲۸	۰/۰۰۵	-۰/۴۸
Cu	-۰/۲۹	۰/۳۷	۰/۰۱	-۰/۲۱	۰/۵۰	-۰/۲۰
بردار ویژه	۱/۹۲	۱/۴۶	۱/۳۵	۱/۹۹	۱/۵۴	۱/۴۶
واریانس	٪۳۰	٪۱۸	٪۱۵	٪۳۳	٪۲۰	٪۱۸
واریانس تجمعی	٪۳۰	٪۴۸	٪۶۳	٪۳۳	٪۵۳	٪۷۱

با توجه به آغازگر دامنه، اندازه نوارهای تکثیرشده از این آغازگرها از ۱۰۰ تا ۲۸۰۰ جفت‌باز متفاوت بود (جدول ۵). همچنین درصد چندشکلی (PPL%)، شاخص اطلاعات شانون (I)، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و تنوع ژنی نی ( $H_e$ ) آشکار شده از آغازگرها به ترتیب با میانگین ۹۵/۷۶ درصد، ۰/۳۵، ۰/۳۸ و ۰/۲۳ با توجه به آغازگر متفاوت بود (جدول ۵).

در جدول ۶ نتایج انگشت‌نگاری ۱۲۵ ژنوتیپ نماینده نه جمعیت از بلوط ایرانی با استفاده از آغازگرهای مورد استفاده نشان داده شده است. در سطح جمعیت درصد نوارهای چندشکل (PPB%) تکثیرشده از آغازگرهای SCOT از ۵۴/۲۴ درصد در دویسه تا ۸۴/۷۵ درصد در تازان متفاوت بود. همچنین تنوع ژنی نی ( $H_E$ ) از ۰/۱۷ در بلکه تا ۰/۲۸ در هه‌واره‌خول و تازان با توجه به جمعیت

متفاوت بود. با فرض تعادل هاردی وینبرگ، شاخص اطلاعات شانون ( $H_0$ ) در محدوده ۰/۲۷ (بلکه و دویسه) تا ۰/۴۳ (تازان) در میان جمعیت‌های مختلف متفاوت بود (جدول ۶). بدین ترتیب، در میان نه جمعیت مورد بررسی، بر اساس نشانگرهای SCOT مورد استفاده جمعیت تازان با  $PPB\% = ۸۴/۷۵$  درصد و  $H_0 = ۰/۴۳$  بیشترین و جمعیت دویسه با  $PPB\% = ۵۴/۲۴$  درصد و  $H_0 = ۰/۲۷$  کمترین تنوع ژنتیکی را نشان دادند (جدول ۶). ضریب تمایز ژنتیکی ( $G_{ST}$ ) برآوردشده میان جمعیت‌ها ۰/۲۴۵ بود. تجزیه شاخص اطلاعات شانون  $[(H_{Sp} - H_{Po})/H_{Sp}]$  نشان داد که فقط ۲۳/۵ درصد از تنوع ژنتیکی کل آشکارشده مربوط به تنوع ژنتیکی میان جمعیت‌هاست. به طوری که در هر نسل فراوانی جریان ژنی ( $N_m$ ) میان جمعیت‌ها ۱/۵۳۲ فرد برآورد شد (جدول ۶).





شکل ۲- نیم رخ SCoT ژنوتیپ‌های بلوط ایرانی با استفاده از آغازگر M.SCoT6: خط کش ژنی

(بجز چاهک اول، حروف هر یک از چاهک‌ها نمایانگر نام اختصاری جمعیت‌های جدول ۱ هستند)

فواصل ژنتیکی و جغرافیایی بین جفت جمعیت‌ها در جدول ۸ نشان داده شده است. البته فاصله ژنتیکی نی از ۰/۰۵۳ (جمعیت‌های کال و هه‌واره‌خول) تا ۰/۱۸۷ (جمعیت‌های دویسه و سالوک) متفاوت بود. آزمون مانتل همبستگی بین فواصل ژنتیکی جمعیت‌ها را با فواصل جغرافیایی آنها معنی‌دار نشان نداد ( $r = -0/121$ ؛ شکل ۳).

تجزیه مولکولی (AMOVA) داده‌های نشانگرهای SCoT براساس آماره‌های تنوع ژنی نی و شانون، تمایز ژنتیکی معنی‌دار اما متوسطی را بین جمعیت‌های مورد مطالعه نشان داد. به طوری که مقدار  $\Phi_{pt}$  برآورد شده، که بیانگر تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌هاست، ۰/۲۳۳ و مؤلفه اصلی واریانس (تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها) ۷۷ درصد بود (جدول ۷).

جدول ۵- تعداد کل نوار تکثیر شده (TB)، تعداد مکان ژنی چندشکل (PL)، درصد چندشکلی (PPL)، دامنه اندازه نوارهای تکثیر شده (FSR)، شاخص اطلاعات شانون (I)، محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) و تنوع ژنی نی ( $H_E$ ) آشکار شده از نشانگرهای SCoT در بلوط ایرانی

$H_e$	PIC	I	FSR (bp)	شاخص‌های تنوع ژنی			آغازگر
				PPL (%)	PL	TB	
۰/۲۶±۰/۰۱۶	۰/۳۹	۰/۳۹±۰/۰۲۳	۱۰۰-۲۴۵۰	۹۰	۹	۱۰	SCoT5
۰/۲۵±۰/۰۱۵	۰/۳۵	۰/۳۷±۰/۰۲	۱۰۰-۲۲۰۰	۱۰۰	۱۰	۱۰	SCoT6
۰/۲۲±۰/۰۱۴	۰/۳۳	۰/۳۴±۰/۰۱۹	۲۰۰-۲۷۰۰	۹۲/۸۵	۱۳	۱۴	SCoT9
۰/۳۵±۰/۰۱۳	۰/۴۱	۰/۴۵±۰/۰۱۸	۲۰۰-۲۳۵۰	۱۰۰	۱۲	۱۲	SCoT12
۰/۲۴±۰/۰۱۵	۰/۳۸	۰/۳۹±۰/۰۲	۵۰۰-۲۵۵۰	۹۱/۶۶	۱۱	۱۲	SCoT14
۰/۱۹±۰/۰۱۹	۰/۳۹	۰/۲۸±۰/۰۱۷	۱۰۰-۲۵۰۰	۱۰۰	۱۰	۱۰	SCoT22
۰/۱۸±۰/۰۱۴	۰/۳۸	۰/۲۹±۰/۰۱۹	۱۵۰-۲۵۰۰	۹۰/۹	۱۰	۱۱	SCoT25
۰/۲۷±۰/۰۱۶	۰/۴۲	۰/۴۰±۰/۰۲۲	۲۵۰-۲۶۵۰	۱۰۰	۱۳	۱۳	SCoT27
۰/۲۲±۰/۰۱۳	۰/۴۰	۰/۳۴±۰/۰۱۸	۳۰۰-۲۶۰۰	۹۱/۶۶	۱۱	۱۲	SCoT30
۰/۱۶±۰/۰۱۱	۰/۳۶	۰/۲۶±۰/۰۱۶	۳۰۰-۲۸۰۰	۱۰۰	۱۴	۱۴	SCoT35
-	-	-	-	-	۱۱۳	۱۱۸	جمع
۰/۲۳±۰/۰۰۶	۰/۳۸	۰/۳۵±۰/۰۰۸	-	۹۵/۷۶	۱۱/۳	۱۱/۸	میانگین

و هواره‌خول به‌عنوان هم‌گروه در خوشه چهارم قرار گرفتند و در خوشه پنجم جمعیت دویسه به‌تنهایی از بقیه جمعیت‌ها متمایز شد (شکل ۴). ضریب همبستگی کوفنتیک محاسبه شده همبستگی بالایی را بین ماتریس تشابه و دندروگرام ترسیم شده نشان داد ( $r = 0.914$ ) که خود نمایانگر مطلوب بودن روابط ژنتیکی میان جمعیت‌های مورد مطالعه است.

بر همین اساس، جمعیت‌های مورد مطالعه در دندروگرام مبتنی بر نتایج نشانگرها در پنج خوشه گروه‌بندی شدند (شکل ۴). در خوشه اول این دندروگرام جمعیت‌های تاژان و سالوک قرار گرفتند. جمعیت‌های گمارلنگ و قامیشله با هم در خوشه دوم، و جمعیت‌های کنده‌سوره و بلکه نیز با هم در خوشه سوم هم‌گروه شدند. به‌همین ترتیب، جمعیت‌های کال

جدول ۶- پارامترهای تنوع ژنتیکی\* نه جمعیت از بلوط ایرانی بر اساس نشانگر SCOT

جمعیت	PPB (%)	$H_E$	$H_O$	$G_{ST}$	$(H_{Sp} - H_{Po})/H_{Sp}$	$N_m$
CA	۶۶/۱۰	۰/۲۱±۰/۲۰	۰/۳۲±۰/۲۸			
GL	۷۸/۸۱	۰/۲۴±۰/۱۸	۰/۳۷±۰/۲۵			
DW	۵۴/۲۴	۰/۱۸±۰/۱۹	۰/۲۷±۰/۲۸			
GM	۷۰/۳۴	۰/۲۲±۰/۱۹	۰/۳۴±۰/۲۶			
KD	۶۶/۹۵	۰/۲۲±۰/۱۹	۰/۳۴±۰/۲۷			
BL	۵۵/۹۳	۰/۱۷±۰/۱۸	۰/۲۷±۰/۲۷			
HA	۷۸/۸۱	۰/۲۸±۰/۱۸	۰/۴۱±۰/۲۶			
TJ	۸۴/۷۵	۰/۲۸±۰/۱۸	۰/۴۳±۰/۲۴			
SL	۷۳/۷۳	۰/۲۳±۰/۱۸	۰/۳۶±۰/۲۶			
$H_{Po}$	۶۹/۹۶	۰/۲۳±۰/۱۷	۰/۳۴±۰/۲۰			
$H_{Sp}$	۹۵/۷۶	۰/۳۰±۰/۱۶	۰/۴۵±۰/۲۰	۰/۲۴۵	۰/۲۳۵	۱/۵۳۲

\*PPB: درصد نوارهای چندشکل؛  $H_E$ : تنوع ژنی نی؛  $H_O$ : شاخص اطلاعات شانون؛  $G_{ST}$ : ضریب تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌ها؛  $(H_{Sp} - H_{Po})/H_{Sp}$ : سهم تنوع بین جمعیت‌ها؛  $N_m$ : جریان ژنی

جدول ۷- تجزیه AMOVA\* تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های بلوط ایرانی با استفاده از نشانگر SCOT

منبع تغییرات	df	SS	MS	VC	PTV	$\Phi_{pt}$	P
بین جمعیتی	۸	۶۶۱/۳۴۱	۸۲/۶۶**	۴/۸۳	۲۳	۰/۲۳۳	<۰/۰۰۱
درون جمعیتی	۱۱۶	۱۸۵۰/۲۶	۱۵/۹۵	۱۵/۹۵	۷۷	-	-
کل	۱۲۴	۲۵۱۱/۶	-	۲۰/۷۸	۱۰۰	-	-

df: درجه آزادی؛ SS: مجموع مربعات؛ MS: میانگین مربعات؛ VC: اجزاء واریانس؛ TV%: درصد اجزاء واریانس؛  $\Phi_{pt}$ : تمایز ژنتیکی بین جمعیت‌ها.

جدول ۸- فواصل ژنتیکی نی و فواصل جغرافیایی میان جفت جمعیت‌های بلوط ایرانی براساس نشانگر \*SCoT

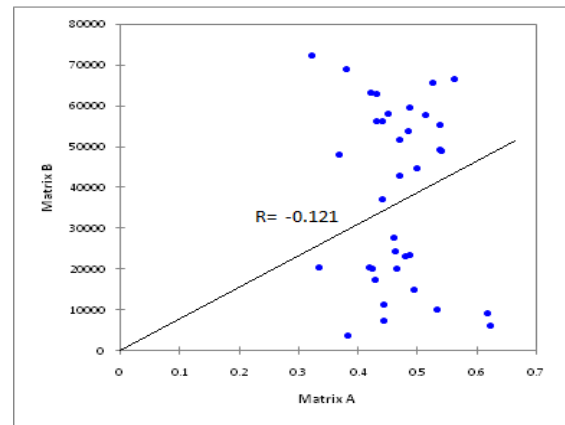
SL	TJ	HA	BL	KD	GM	DW	GL	CA	فاصله ژنتیکی
۰/۱۴۸	۰/۱۰۲	۰/۰۵۳	۰/۱۱۰	۰/۱۱۰	۰/۰۹۳	۰/۱۰۸	۰/۱۲۰	----	CA
۰/۰۹۶	۰/۰۹۱	۰/۱۲۵	۰/۱۱۷	۰/۰۹۵	۰/۰۶۶	۰/۱۳۱	----	۲۳/۷	GL
۰/۱۸۷	۰/۱۶۷	۰/۱۲۸	۰/۱۰۰	۰/۱۲۱	۰/۱۱۶	----	۲۵	۲۷/۲	DW
۰/۱۲۴	۰/۰۹۸	۰/۱۰۵	۰/۰۹۶	۰/۰۹۵	----	۱۴	۱۳	۲۴/۵	GM
۰/۱۳۳	۰/۱۳۲	۰/۱۲۱	۰/۰۵۸	----	۴۳/۳	۴۹	۴۰/۵	۵۵/۶	KD
۰/۱۷۲	۰/۱۷۰	۰/۱۳۳	----	۶/۲	۵۱/۱	۵۵/۸	۵۸/۸	۵۹/۶	BL
۰/۱۶۳	۰/۱۱۱	----	۲۴	۲۳/۲	۳۷/۷	۴۵/۵	۴۲	۲۳/۴	HA
۰/۰۷۴	----	۲۵	۱۰/۵	۱۴/۵	۵۶/۶	۶۳/۸	۴۸/۲	۱۰/۳	TJ
----	۱۰/۹	۲۲	۱۰/۹	۱۸/۹	۵۵/۷	۵۵/۷	۵۲/۷	۱۷/۷	SL

\*فواصل ژنتیکی نی جمعیت‌ها بر اساس نشانگر SCoT در بالا و فواصل جغرافیایی (کیلومتر) آنها در پایین محور قطری نشان داده شده‌اند.

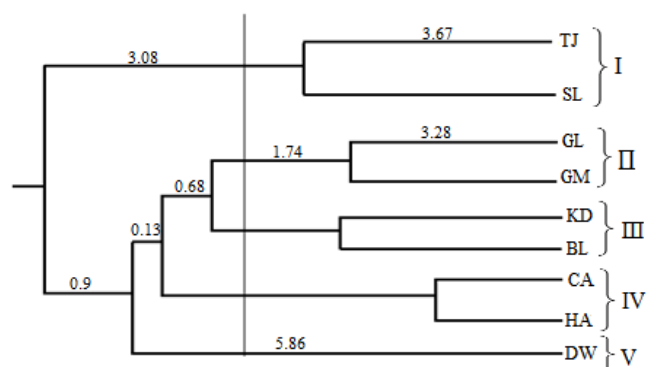
### بحث

آگاهی از تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی برای شناسایی و پایه‌ریزی راهکارهای حفاظتی آنها مهم و سودمند است (White *et al.*, 2007) و نشانگرهای مبتنی بر DNA مناسب‌ترین ابزار برای مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های گیاهی هستند. در این مطالعه ترکیب سامانه‌های نشانگری بیوشیمیایی و SCoT به‌طور کارآمد برای بررسی تنوع فنوتیپی و ژنوتیپی جمعیت‌های مختلف بلوط ایرانی به‌کار گرفته شدند. نشانگرهای مبتنی بر ۱۲ مشخصه بیوشیمیایی بذر و برگ در بیشتر صفات تنوع فنوتیپی معنی‌داری را بین نه جمعیت مورد مطالعه آشکار کردند. در مطالعه تنوع جمعیتی ۱۳ پروونانس *Q. ruber* در مناطقی از اسپانیا، همبستگی معنی‌دار بین شیب شرایط محیطی و مشخصه‌های شیمیایی بذر گزارش شد و براساس این مشخصه‌ها جمعیت‌های مورد مطالعه در دو خوشه اصلی (پروونانس‌های شمالی در گروه اول، و پروونانس‌های جنوبی در گروه دوم) متمایز شدند (Valero *et al.*, 2012).

ارزیابی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *Q. brantii* با استفاده از نشانگرهای AFLP (Shiran *et al.*, 2011) و SSR (Zolfaghari *et al.*, 2009) نیز گزارش شده است.



شکل ۳- همبستگی بین فواصل ژنتیکی و جغرافیایی جمعیت‌های بلوط ایرانی براساس نشانگر SCoT



شکل ۴- دندروگرام UPGMA روابط ژنتیکی میان جمعیت‌های بلوط ایرانی بر اساس فواصل ژنتیکی نی حاصل از نشانگر SCoT

در مطالعه Shiran و همکاران (۲۰۱۱) جمعیت‌های مورد مطالعه براساس نشانگرهای AFLP به‌طور معنی‌داری از همدیگر متمایز شدند. علاوه بر این، بخش عمده تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده در این گزارش مربوط به تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها بود. با وجود این، در این مطالعه برای ارزیابی تنوع ژنتیکی هشت جمعیت پوشش‌دهنده گستره باریکی از مناطق رویشگاهی این گونه فقط از ۴۵ ژنوتیپ استفاده شد، به طوری که در بیشتر جمعیت‌ها تعداد ژنوتیپ‌های نمونه‌برداری شده ۵ و یا کمتر از ۵ عدد بود. در گزارش Zolfaghari و همکاران (۲۰۰۹) نیز فقط با استفاده از ۵۲ ژنوتیپ با هدف حفاظت و مدیریت بهتر جنگل‌های بلوط استان کهگیلویه و بویراحمد، تنوع ژنتیکی جوامع مختلف بلوط ایرانی با تمرکز بر تأثیر عامل ارتفاع از سطح دریا به‌تنهایی بررسی شد. اما در تحقیق حاضر از ۱۲۵ ژنوتیپ نماینده ۹ جمعیت واقع در گستره وسیعی از جنگل‌های زاگرس شمالی، برای مطالعه تنوع ژنتیکی بلوط ایرانی جنگل‌های زاگرس شمالی با بهره‌گیری از نشانگرهای مبتنی بر DNA در ترکیب با نشانگرهای بیوشیمیایی نمونه‌برداری شده است. در ۱۲۵ ژنوتیپ جمعیت‌های این مطالعه، آغازگرهای SCoT با تکثیر ۱۱۳ نوار چندشکل از مجموع ۱۱۸ نوار تکثیرشده چندشکلی بالایی را نشان دادند (۹۵ درصد؛ جدول ۵). در مطالعه تنوع ژنتیکی ۵۰ ژنوتیپ برگرفته از شش جمعیت از گونه *Q. suber* با استفاده از شش آغازگر ISSR، از ۸۵ نوار قابل نمره‌دهی ۷۲ نوار چندشکل بودند (López-Aljorna *et al.*, 2007).

در مطالعه Shiran و همکاران (۲۰۱۱) جمعیت‌های مورد مطالعه براساس نشانگرهای AFLP به‌طور معنی‌داری از همدیگر متمایز شدند. علاوه بر این، بخش عمده تنوع ژنتیکی مشاهده‌شده در این گزارش مربوط به تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها بود. با وجود این، در این مطالعه برای ارزیابی تنوع ژنتیکی هشت جمعیت پوشش‌دهنده گستره باریکی از مناطق رویشگاهی این گونه فقط از ۴۵ ژنوتیپ استفاده شد، به طوری که در بیشتر جمعیت‌ها تعداد ژنوتیپ‌های نمونه‌برداری شده ۵ و یا کمتر از ۵ عدد بود. در گزارش Zolfaghari و همکاران (۲۰۰۹) نیز فقط با استفاده از ۵۲ ژنوتیپ با هدف حفاظت و مدیریت بهتر جنگل‌های بلوط استان کهگیلویه و بویراحمد، تنوع ژنتیکی جوامع مختلف بلوط ایرانی با تمرکز بر تأثیر عامل ارتفاع از سطح دریا به‌تنهایی بررسی شد. اما در تحقیق حاضر از ۱۲۵ ژنوتیپ نماینده ۹ جمعیت واقع در گستره وسیعی از جنگل‌های زاگرس شمالی، برای مطالعه تنوع ژنتیکی بلوط ایرانی جنگل‌های زاگرس شمالی با بهره‌گیری از نشانگرهای مبتنی بر DNA در ترکیب با نشانگرهای بیوشیمیایی نمونه‌برداری شده است. در ۱۲۵ ژنوتیپ جمعیت‌های این مطالعه، آغازگرهای SCoT با تکثیر ۱۱۳ نوار چندشکل از مجموع ۱۱۸ نوار تکثیرشده چندشکلی بالایی را نشان دادند (۹۵ درصد؛ جدول ۵). در مطالعه تنوع ژنتیکی ۵۰ ژنوتیپ برگرفته از شش جمعیت از گونه *Q. suber* با استفاده از شش آغازگر ISSR، از ۸۵ نوار قابل نمره‌دهی ۷۲ نوار چندشکل بودند (López-Aljorna *et al.*, 2007).

در سطح جمعیت شاخص‌های درصد نوارهای چندشکل، تنوع ژنی نی و شاخص اطلاعات شانون در میان جمعیت‌های مختلف متفاوت بود (جدول ۶). در گونه *Quercus suber* با استفاده از آغازگرهای ISSR نتایج مشابهی از تفاوت بین جمعیتی پارامترهای تنوع ژنتیکی توسط López-Aljorna و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده شد. در این مطالعه، آغازگرهای مورد استفاده تنوع ژنتیکی بالایی را در هر دو سطح گونه (۹۵/۷۶ درصد) و جمعیت

در مطالعات تنوع ژنتیکی، تفاوت‌های بیوشیمیایی نمی‌توانند جمعیت‌ها و ژنوتیپ‌های داخل آنها را در سطح ژنوم به‌خوبی از هم تفکیک کنند (Kadkhodaei *et al.*, 2011). در این مطالعه، همبستگی ماتریس تشابه به‌دست آمده از نشانگرهای فنوتیپی و ژنوتیپی معنی‌دار اما ضعیف بود. در این مطالعه نشان داده شد که تفاوت در مشخصه‌های بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های نماینده جمعیت‌ها در سطح ژنتیکی به‌مانند نشانگرهای SCoT، که در ارزیابی چندشکلی کل ژنوم را پوشش می‌دهند، جمعیت‌ها را تفکیک نکردند. صفات بیوشیمیایی به‌دلیل اینکه به‌واسطه بخش‌های محدودی از ژنوم کنترل می‌شوند و از طرف دیگر بروز آنها از تغییرات محیطی تأثیر می‌پذیرد، داده‌های آنها نمی‌توانند مطابقتی بالا با داده‌های نشانگرهای مولکولی داشته باشند (Williams *et al.*, 1990; Kumar, 1999). این واقعیت به دلیل این است که تغییرات در سطح ژنوم همیشه در تغییرات ریختاری و بیوشیمیایی منعکس نمی‌شود؛ به طوری که همواره در مناطق مختلف ژنوم جهش به‌فراوانی اتفاق می‌افتد (در مناطق رمزشونده و غیر رمزشونده) و نشانگرهای چندشکلی DNA ضرورتاً در نواحی بیان ژن‌های رمزکننده صفات ریختاری و بیوشیمیایی واقع نمی‌شوند. در این مطالعه همبستگی معنی‌داری بین فواصل ژنتیکی جمعیت‌ها و فواصل جغرافیایی آنها مشاهده نشد ( $r = -0.121$ ;  $P < 0.05$ ). در گزارش‌های منتشر شده از مطالعه تنوع ژنتیکی بلوط ایرانی (Shiran *et al.*, 2011) و (Zhang *et al.*, 2007) نیز عدم وجود همبستگی معنی‌دار بین قرابت ژنتیکی جمعیت‌ها با دوری و نزدیکی جغرافیایی آنها مشاهده شد.

مقدار AMOVA برآوردشده برای تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌های بلوط ایرانی در این مطالعه ( $\Phi_{pt} = 0.233$ ) در

با وجود فعالیت‌های تخریبی شدید زاگرس‌نشینان محلی طی دو دهه گذشته در جنگل‌های زاگرس شمالی، هنوز تنوع ژنوتیپی و فنوتیپی بالایی در جمعیت‌های بلوط این جنگل‌ها وجود دارد. با وجود این، این میزان تنوع به سرعت و به آسانی از بین می‌رود (Boyle, 2000). زیرا هنوز هیچ کنترلی بر بهره‌برداری غیرقانونی و بی‌رویه ساکنان محلی بر روی منابع جنگلی این مناطق وجود ندارد، وضعیتی که توجه بیشتر حافظان منابع طبیعی و مسئولان امر را می‌طلبد. دلیل اصلی مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های بلوط ایرانی در این پژوهش این بود که اگرچه تنوع بلوط ایرانی جنگل‌های زاگرس شمالی در هر دو سطح ژنوم و فنوتیپ زیاد به نظر می‌رسید، اما اطلاعات در این باره کافی نبود. تجزیه و تحلیل SCOT ۱۲۵ ژنوتیپ از بلوط ایرانی با استفاده از ۱۰ آغازگر، نه جمعیت مورد مطالعه را به خوبی از هم تفکیک کرد. آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی یک گونه گیاهی برای برنامه‌ریزی و ارائه راهکارهای حفاظت از آن گونه، صرف‌نظر از پراکنش جغرافیایی آن، ضروریست (Hamrick, 1989; Lambert et al., 2006). به‌بیانی دیگر، گسترده بودن پراکنش جغرافیایی یک گونه حفظ تنوع ژنتیکی آن را تضمین نمی‌کند (Hamrick, 1989). این مطالعه اگرچه می‌تواند به‌عنوان تلاشی مقدماتی برای پی‌بردن به ساختار ژنتیکی بلوط ایرانی در جنگل‌های زاگرس شمالی ارزشمند باشد، اما برای تعریف چارچوب کارآمد حفاظتی و پی‌بردن به تأثیر عوامل مختلف تکاملی اثرگذار بر ساختار ژنتیکی جمعیت‌های این گونه نیاز است تا از مناطق بیشتری از جنگل‌های زاگرس نمونه‌برداری و از ابزارهای مولکولی بیشتری استفاده شود.

### سپاسگزاری

نویسندگان مقاله صمیمانه سپاسگزار زحمات سرکار خانم مونا نصری به‌دلیل کمک در جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی هستند. منابع مالی این کار از محل اعتبارات تصویب‌شده برای طرح پژوهشی شماره ۲۹/۳۵۶۲۶۵

دامنه مقادیر برآوردشده این پارامتر برای گونه‌های جنس *Quercus* همانند *Q. rubur* و *Q. petraea* (۰/۴۴۱-۰/۰۳۰؛ Coart et al., 2002; Mariette et al., 2002) و بلوط قرمز کالیفرنیا (۰/۱۰۶-۰/۳۴۲؛ Dodd & Kashani, 2003) بود. این مقدار در دو بلوط مکزیکی با استفاده از نشانگرهای RAPD بین ۰/۱۳ و ۰/۱۹ برآورد شد (Alfonso-Corrado et al., 2004). خودناسازگاری و دگرگرده‌افشانی اجباری (Chung et al., 2002)، پخش‌شدگی دانه گرده در فواصل طولانی به‌وسیله باد توسط انسان عواملی هستند که به‌نظر می‌رسد در پایین‌بودن تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌های بلوط دخیل باشند و باعث تقویت یکنواختی ژنتیکی و یکسان‌شدن فراوانی‌های آلی در میان جمعیت‌های مجاور در بلوط شوند (Shiran et al., 2011; Alfonso-Corrado et al., 2004; Coelho et al., 2006). مقدار جریان ژنی ( $N_m$ ) برآوردشده در این مطالعه (۱/۵۳۲) با پایین بودن تمایز ژنتیکی میان جمعیت‌ها همخوانی دارد. در دو بلوط مکزیکی با استفاده از نشانگرهای RAPD فراوانی جریان ژنی بین ۱/۹۵ و ۳/۷۶ گزارش شده است (Alfonso-Corrado et al., 2004). براساس اظهارات Slatkin (۱۹۹۴) مقدار  $N_m$  بیشتر از ۱ از واگرایی ژنتیکی جمعیت‌ها و تأثیرپذیری آنها از عوامل فرساینده تنوع ژنتیکی همانند رانش ژنتیکی جلوگیری می‌کند. تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی به‌شدت از سیستم تلاقی آنها تأثیر می‌پذیرد (Hamrick & Godt, 1996)، به‌طوری‌که گونه‌های دگرگشن همانند بلوط‌ها به‌طور معمول از تنوع ژنتیکی بالا و تمایز ژنتیکی بین جمعیتی پایینی برخوردارند (Rossetto et al., 1995). البته بیشتر بودن تنوع ژنتیکی درون‌جمعیتی نسبت به تنوع بین‌جمعیتی مشاهده شده در این مطالعه توسط Mashayekhi و همکاران (۲۰۱۰) در *Q. brantii*، Zhang و همکاران (۲۰۰۷) در *Q. mongolica* و González-Rodríguez و همکاران (۲۰۰۵) در *Quercus sp.* نیز گزارش شده است.

- red oaks (Fagaceae; *Quercus* section Lobatae). *Theoretical and Applied Genetics*, 107: 884–892.
- Dodd, R.S., Raffi, Z.A. and Zavarin, E., 1993. Chemosystematic variation in acorn fatty acids of Californian live Oaks (*Quercus agrifolia* and *Q. wislizenii*). *Biochemical and Systematic Ecology*, 21: 279–285.
- Dow, B.D. and Ashley, M.V., 1998. High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. *Journal of Heredity*, 89: 62–70.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of leaf tissue. *Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America*, 19: 11–15.
- Echevarria-Zomeno, S., Ariza, D., Jorge, I., Lenz, C., Del Campo, A., Jorin, J.V. and Navarro-Cerrillo, R.M., 2009. Changes in the protein profile of *Quercus ilex* leaves in response to drought stress and recovery. *Plant Physiology*, 166: 233–245.
- Excoffier, L., Smouse, P.E. and Quattro, J.M., 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479–491.
- Finkeldey, R. and Matyas, G., 2003. Genetic variation of oaks (*Quercus* spp.) in Switzerland. 3. Lack of impact of postglacial recolonization history on nuclear gene loci. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 346–352.
- Frankel, O.H., Brown, A.H.D., Burdon, J.J., 1995. *The conservation of plant biodiversity*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Gandour, M., Khouja, M.L., Toumi, L. and Triki, S., 2007. Morphological evaluation of cork oak (*Quercus suber*): Mediterranean provenance variability in Tunisia. *Annals of Forest Science*, 64: 549–555.
- 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., 1989. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant population. In: Soltis, D.E. and Soltis, P.S., (eds) *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland, pp 87–105.
- 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.
- (وزارت علوم، تحقیقات و فناوری؛ دانشگاه کردستان) تأمین شد.
- ### منابع مورد استفاده
- Alfonso-Corrado, C., Esteban-Jimenez, R., Clarkapia, R., Pinero, D., Campos, J.E., Mendoza, A., 2004. Clonal and genetic structure of two Mexican oaks: *Quercus eduardii* and *Quercus potosina* (Fagaceae). *Evolution and Ecology*, 18: 585–599.
- Allendorf, F., and Ryman, N., 2000. The role of genetics in population viability analysis. In: Beissinger, S.R., and McCullough, D.R., (eds) *Population viability analysis*. The University of Chicago Press, Chicago, pp 50–85.
- Baker, W. and Thompson, T., 1992. Determination of total nitrogen in plant samples by Kjeldahl. In: Plank, C.O. (Ed).: *Plant analysis reference procedures for the southern region of the United States*. Southern Cooperative Series Bulletin. Athens, 13–16.
- Boyle, T.J., 2000. Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity. In: Young, A., Boshier, D. and Boyle, T., (Eds.) *Forest Conservation Genetics: Principles and Practice*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization (CSIRO) Publishing, Victoria, Australia, 239–250.
- Chung, M.Y., Nason, J., Chung, M.G., Kim, K., Park, C., Sun, B. and Pak, J., 2002. Landscape-level spatial genetic structure in *Quercus acutissima* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 89: 1229–1236.
- Coart, E., Lamote, V., De Loose, M., Bochstaele, E., Lootens, P. and Roldon-Ruiz, I., 2002. AFLP markers demonstrate local genetic differentiation between two indigenous oak species in Flemish populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 105: 431–439.
- Coelho, A.C., Lima, M.B., Neves, D., and Cravador, A., 2006. Genetic diversity of two evergreen oaks [*Quercus suber* (L.) and *Quercus ilex* subsp. *rotundifolia* (Lam.)] in Portugal using AFLP markers. *Silvae Genetica*, 55: 105–118.
- Collard, B.C.Y. and Mackill, D.J., 2009. Start Codon Targeted (SCoT) polymorphism: a simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 27: 86–93.
- Dodd, R.S. and Kashani, N., 2003. Molecular differentiation and diversity among the California

- using ISSR and SSR markers. *Annals of Forest Science*, 64:773–779.
- Lumaret, R., Mir, C., Michaud, H. and Raynal, V., 2002. Phylogeographical variation of chloroplast DNA in Holm oak (*Quercus ilex* L.). *Molecular Ecology*, 11: 2327–2336.
- Lumaret, R. and Jabbour-Zahab, R., 2009. Ancient and current gene flow between two distantly related Mediterranean oak species, *Quercus suber* and *Q. ilex*. *Annals of Botany*, 104: 725–736.
- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209–220.
- Mariette, S., Cottrell, J., Csaikl, U.M., Gohiochea, P., Konig, A. and Lowe, A.J., 2002. Comparison of levels of genetic diversity detected with AFLP and microsatellite markers within and among mixed *Q. petraea* (Matt) Liebl and *Q. robur* L. stands. *Silvae Genetica*, 51: 72–79.
- Martin, M.A., Navarro-Cerrillo, R.M., Ortega, P.A. and Ivarez, J.B., 2009. Cotyledon proteins as genetic markers in sweet holm oak. *Forest Sciences*, 55: 526–531.
- Mashayekhi, Sh., Shiran, B., Jahanbazi, H., Houshmand, S.A., Soltani, A. and Sorkheh, K., 2010. Study of genetic variation of *Quercus brantii* in Chaharmahal va Bakhtiary province using AFLP molecular markers. *Journal of Forest and Wood Products*, 63: 77–90.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 101: 139–155.
- Ozcan, T., 2007. Total protein and amino acid compositions in the acorns of Turkish *Quercus* L. taxa. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53: 419–429.
- Peakall, R. and Smouse, P.E., 2006. GenAlEx6: genetic analysis in excel population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288–295.
- R Core Team, 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing, *R Foundation for Statistical Computing*, <http://www.R-project.org>
- Rafii, Z.A., Dodd, R.S. and Pelleau, Y., 1993. Biochemical diversity and systematics of mediterranean evergreen oak from South East France. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21: 687–694.
- Rafii, Z.A., Zavarin, E. and Pelleau, Y., 1991. Chemosystematic differentiation of *Quercus ilex* and *Q. rotundifolia* based on acorn fatty-acids. *Biochemical Systematics and Ecology*, 19:163–166.
- Hanlon, E.A., 1992. Determination of potassium, calcium and magnesium in plants by Atomic Absorption Techniques. In: Plank, C.O., (Ed). *Plant analysis reference procedures for the southern region of the United States*. Southern Cooperative Series Bulletin, Athens, pp: 30–33.
- Holsinger, K.E. and Gottlieb, L.D., 1991. Conservation of rare and endangered plants: principles and prospects. In: Falk, D.A. and Holsinger, K.E., (eds) *Genetics and conservation of rare plants*. Oxford University Press, Oxford, pp 195–208
- Jimenez, P., Agundez, D., Alia, R. and Gil, L., 1999. Genetic variation in central and marginal populations of *Quercus suber* L. *Silvae Genetica*, 48:278–284.
- Jorge, I., Navarro, R.M., Lenz, C., Ariza, D., Porras, C. and Jorin, J., 2005. The holm oak leaf proteome: analytical and biological variability in the protein expression level assessed by 2-DE and protein identification tandem mass spectrometry de novo sequencing and sequence similarity searching. *Proteomics*, 5: 222–234.
- Kadkhodaei, S., Elahy, M., Khayyam Nekouei, M., Imani, A., Shahnazari, M., Mardi, M., Javanmard, A. and Arbakariya, B., 2011. A panel of cultivate specific marker based on polymorphisms at microsatellite markers for Iranian cultivated Almonds (*Prunus dulcis*). *Australian Journal of Crop Science*, 4:730–736.
- Kelleher, C.T., Hodkinson, T.R., Douglas, G.C. and Kelly, D.L., 2005. Species distinction in Irish populations of *Quercus petraea* and *Q. robur*: morphological versus molecular analysis. *Annals of Botany*, 96: 1237–1246.
- Kleinschmit, J. and Kleinschmit, J.G.R., 2000. *Quercus robur–Quercus petraea*: a critical review of the species concept. *Glas Sum Pokuse*, 37: 441–452.
- Kumar, L.S., 1999. DNA markers in plant improvement: an overview. *Biotechnology Advances*, 17: 143–182.
- Lambert, S.M., Borba, E.L., Machado, M.C. and Andrade, S.C.S., 2006. Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, north-eastern Brazil. *Annals of Botany*, 97: 389–403.
- Lewontin, R.C., 1972. The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology*, 6: 381–398.
- Lopez-Aljorna, A., Bueno, M.A., Aguinagalde, I. and Martin, J.P., 2007. Fingerprinting and genetic variability in cork oak (*Quercus suber* L.) elite trees

- and chemical composition of the acorn in Holm oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota* [Desf.] Samp.). European Journal of Forest Research, 131: 893–904.
- Ward, J., 1963. Hierarchical grouping to optimize an objective function. Journal of the American Statistical Association, 58: 236–244.
- White, T.L., Adams, W.T. and Neale, D.B., 2007. Forest Genetics. CABI Publishing, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18: 6531–6535.
- Yoshida, S., Forno, D., Cock, J. and Gomez, K., 1976. Determination of sugar and starch in plant tissue. In: Yoshida, S., ed. Laboratory manual for physiological studies of rice. Philippines: The International Rice Research Institute, 46–49.
- Zhang, Jie., Wu, D., Wang, C., Qu, H., Zou, X. and Yang, C., 2007. Genetic diversity analysis of *Quercus mongolica* populations with Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR) technique. Biodiversity Science, 15: 292–299.
- Zolfaghari, R., Akbarinia, M., Mardi, M. and Ghanati, F., 2009. Genetic diversity in Persian oak (*Quercus brantii* Lindl) from Kohkiluyeh and Boyer-Ahmad using SSR. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16:172–181.
- Rieseberg, L.H., 1997. Hybrid origins of plant species. Annual Reviews of Ecology and Systematics, 28:359–389.
- Rossetto, M., Weaver, P.K. and Dixon, K.W., 1995. Use of RAPD analysis in devising conservation strategies for the rare and endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). Molecular Ecology, 4:321–329.
- SAS Institute Inc., 2004. SAS Help and Documentation. Cary, NC. Ver 9.1.3.
- Schemske, D.W., Husband, B.C., Ruckelshaus, M.H., Goodwillie, C., Parker, I.M. and Bishop, J.G., 1994. Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants. Ecology, 75:584–606.
- Shakeri, Z., Marvi Mohajer, M.R., Namiranin, M. and Etemad, V., 2009. Comparison of seedling and coppice regeneration in pruned and undisturbed oak forests of Northern Zagros (Case study: Baneh, Kurdistan province). Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 17: 72–84.
- 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, 145: 452–460.
- Slatkin, M., 1994. Gene flow and population structure. In: Real, L., ed. Ecological Genetics. Princeton, NJ: Princeton University Press. pp. 3–17.
- 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



## Phenotypic and genotypic diversity in brant oak (*Quercus brantii*) populations of declining north-Zagros forests using biochemical characteristics and molecular SCoT marker

N. Shabani<sup>1</sup>, L. Alikhani<sup>2</sup> and M. S. Rahmani<sup>3\*</sup>

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

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

3\*-Corresponding author: M.Sc. in Plant Biotechnology, Laboratory of Forest Biology, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I. R. Iran E-mail: m.rahmani@uok.ac.ir

Received: 19.01.2014      Accepted: 17.05.2014

### Abstract

Inter- and intra-population diversity of nine brant oak (*Quercus brantii*) populations, comprising of 125 genotypes from north-Zagros forests was investigated using start codon targeted (SCoT) molecular marker, and seed and leaf biochemical characteristics. Variance analysis of 12 biochemical properties disclosed significant inter-population differences for most of the estimated parameters. Principal component analysis (PCA) showed that the first three components contributed in 63% (seed) and 71% (leaf) of revealed phenotypic diversity. Cluster analysis of phenotypic data grouped the studied populations into three distinct main clusters. Ten SCoT primers amplified 118 amplicons, of which 113 products (95%) were polymorphic. The primers revealed a high genetic diversity at species level ( $He = 0.231$ ; PPL% = 95.7%). Analysis of molecular variance attributed only 23% of total revealed genetic diversity to intra-population diversity. Low-level genetic differentiation of populations seemed to be due to extensive gene flow by wind-pollination of the populations, which occurs naturally on oaks. SCoT markers-based cluster analysis divided the *Q. brantii*'s populations into distinct groups. According to Mantel's test, there was no significant correlation between genetic and geographic distances among the studied populations. In conclusion, this study indicated that both phenotypic and molecular markers could be useful to conduct studies when investigating the geographic pattern of genetic diversity of oak natural populations.

**Keywords:** *Quercus*, population genetics, cluster analysis, molecular marker, Start Codon Targeted (SCoT), polymorphism.