مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۸، شماره ۲، صفحه ۲۰۲-۱۹۱ (۱۳۹۹)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrfpbgr.2020.125964.1339
شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0891.1399.28.191.56.2.1578.1586

تأثیر خشکی بر تنوع گونه راش شرقی با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره و ایزوآنزیم پراکسیداز

زهره سعیدی[۱]، داود آزادفر[۲*]، مسعود توحیدفر[۳] و خسرو ثاقب‌طالبی[۴]

۱- دانش آموخته دکترای علوم جنگل، دانشکده علوم جنگل، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

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

پست الکترونیکی: azadfar@gau.ac.ir

۳- دانشیار، دانشکده مهندسی فناوری‌های نوین، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

۴- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۲

چکیده

راش شرقی یکی از مهمترین گونه‌های پهن‌برگ جنگل‌های هیرکانی بوده و قابلیت سازگاری فنوتیپی و ژنتیکی این گونه به تغییرات اقلیمی اهمیت بسیاری دارد. تعیین کمیّت و ارزیابی تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیت‌های گونه راش این امکان را فراهم می‌کند تا تنوع جمعیت‌ها به بهترین نحو حفظ و نگهداری شود. این پژوهش روی درختان بالغ چهار جمعیت (منطقه) مختلف از این گونه در دو گرادیان شاخص خشکی از غرب به شرق و ارتفاع پایین‌بند به بالابند در جنگل‌های هیرکانی (جنگل شفارود گیلان، جنگل خیرودکنار پایین‌بند و بالابند مازندران و جنگل شصت‌کلاته گلستان) انجام شد. بررسی تنوع ژنتیکی و اکوتیپی در جمعیت‌های مادری به کمک هفت نشانگر ریزماهواره و یک نشانگر بیوشیمیایی انجام گردید. نتایج حکایت از تنوع بالا در تمام جمعیت‌ها به‌ویژه جمعیت شصت‌کلاته گلستان داشت. نتایج آنالیز واریانس مولکولی با نشانگر ریزماهواره SSR نشان داد که ۷۷ درصد از کل تنوع مربوط به درون جمعیت‌ها و ۲۳ درصد مربوط به بین جمعیت‌ها بود. نتایج این تحقیق نشان داد که وجود تنوع ژنتیکی بیشتر در درون جمعیت‌های راش جنگل‌های هیرکانی حکایت از پایه ژنتیکی قوی آنها برای سازگاری با شرایط محیطی داشته و ممکن است سازگاری کوتاه‌مدت به تغییرات اقلیمی را تسهیل نماید. از سوی دیگر وجود تنوع ژنتیکی بالاتر در منطقه شصت‌کلاته نسبت به سایر مناطق، نشان‌دهنده وجود نیروهای تکاملی قوی‌تر برای سازگاری درختان با شرایط محیطی منطقه است. همچنین جریان ژنی بیشتر در جمعیت‌های دگرگشن راش شرقی باعث تمایز ژنتیکی کم بین جمعیت‌ها در گرادیان شاخص خشکی جنگل‌های هیرکانی شده است.

واژه‌های کلیدی: تنوع، گرادیان خشکی، راش شرقی، نشانگر مولکولی و بیوشیمیایی.

مقدمه

گونه راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky) از خانواده Fagaceae یکی از مهمترین پهن‌برگان تجاری جنگل‌های هیرکانی است که در بین تمامی درختان جنگل‌های ایران دارای بیشترین میزان حجم در واحد سطح است. این گونه به صورت آمیخته و خالص بر روی شیب‌های شمالی رشته کوه البرز در محدوده ارتفاعی ۶۰۰ تا ۲۲۰۰ متر بالاتر از سطح دریا در سه استان گیلان، مازندران و غرب گلستان پراکنش دارد. راش در رویشگاه‌هایی با رطوبت زیاد می‌روید، از همین رو جنگل‌های راش در مناطق خنک و مه‌آلود گسترش یافته‌اند (Taheri Abkenar& Pilevar, 2008). تحقیقات مختلف نشان داده

است که پرونانس‌های مختلف راش حساسیت‌های متفاوتی به تنش خشکی دارند، به‌طورکلی پرونانس‌های مناطق خشک به تنش خشکی سازگاری بهتر و بیشتری پیدا می‌کنند (Czajkowski & Bolte, 2005; Schraml & Rennenberg, 2000).

ایزوآنزیم‌ها در مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی، ساختار جمعیت و فیلوژنی در جوامع جنگلی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Hamrick & Godt, 1989). از مزایای نشانگرهای ایزوآنزیمی، هزینه کم آن نسبت به نشانگرهای مولکولی و قابل ردیابی بودن آن روی ژل نشاسته می‌باشد که البته روی ژل اکریل آمید نیز مورد بررسی قرار می‌گیرند. در این روش ژنوتیپ‌های هموزیگوت با یک باند و افراد هتروزیگوت با ۲ تا ۵ باند قابل شناسایی هستند. مطالعات متعددی در رابطه با کاربرد ایزوآنزیم در بررسی تنوع ژنتیکی درختان جنگلی انجام شده است که به چند نمونه اشاره می‌شود. در بررسی تنوع ژنتیکی و پلی‌مورفیسم درون گونه‌ای سرخدار (*Taxus baccata*) براساس آنزیم پراکسیداز در استان گلستان مشخص گردید که اندام شاخه در مقایسه با برگ از توانایی تفکیک و گروه‌بندی بالاتری برخوردار است (Karimi & Azadfar, 2011). بررسی فعالیت کیفی آنزیم پراکسیداز نیز نشان داد که این آنزیم برای مطالعه تنوع ژنتیکی در درون و بین رویشگاه‌های افراپلت کارآیی لازم را دارد (Khaksar *et al*., 2015). تغییرات ژنتیکی جوامع پده (*Populus euphratica*) با استفاده از آنزیم پراکسیداز به روش پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق ظهور باندها و الگوهای ایزوآنزیمی متفاوتی را نشان داد (Calagari *et al*., 2007). طی تحقیقی برای تفکیک درختان برتر راش شرقی از سایر درختان غیر برتر در محیط‌های مشابه اکولوژیک از نشانگرهای ایزوآنزیمی پراکسیداز و ریختی برگ استفاده شد. با توجه به تعداد گروه‌هایی که تفکیک پایه‌های برتر و غیر برتر در آنها به درستی انجام گردید، میزان تفکیک پایه‌های برتر و غیر برتر با استفاده از هر دو نشانگر مورد مطالعه مناسب ارزیابی شد (Mahmoodi Zarinabadi *et al*., 2014).

میکروستلایت‌ها مناطقی در توالی دی.ان.ای (لوکوس) هستند که حاوی تکرارهایی کوتاه از توالی دی.ان.ای از یک تا ۴ جفت باز طول دارند. تکرار توالی‌های ساده[1] یا میکروستلایت‌ها از مهمترین نشانگرهای مولکولی می‌باشند. این نشانگرها مبتنی بر PCR بوده و از آنها به‌طور گسترده‌ای در انگشت‌نگاری دی.ان.ای، نقشه‌یابی ژنتیکی، انتخاب به کمک نشانگر MAS[2] و مطالعه تنوع ژنتیکی و ژنتیک جمعیت استفاده می‌شود. طی سال‌های اخیر توجه زیادی به این نشانگر در مطالعات تنوع ژنتیکی و بررسی ساختار جمعیتی درختان جنگلی شده است. مطالعه تنوع و تمایز جمعیت‌های راش شرقی در دو ارتفاع در جنگل‌های خزری با استفاده از میکروساتلایت‌های هسته‌ای (nSSRs) و ۱۶ لوکوس آنزیمی تنوع ژنتیکی بالایی را در جمعیت‌های طبیعی راش نشان داد و میزان تنوع ژنتیکی حاصل از برآورد هتروزیگوزیتی مورد انتظار ۰/۶۵ برای میکروساتلایت‌های هسته‌ای و ۰/۱۹ برای آنزیم‌ها بود. گوناگونی ژنتیکی در بین جمعیت‌های هر منطقه کمتر از گوناگونی ژنتیکی میان مناطق بود. نتایج مطالعه تمایز و آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) تمایز ژنتیکی کمی را میان جمعیت‌ها نشان دادند (Salehi Shanjani *et al*., 2006). بررسی سازگاری درختان راش اروپایی به کاهش آب در دسترس آینده با توجه به تغییرات آب و هوایی طی پژوهشی مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین‌منظور پنج توده در طول گرادیان بارش از مرطوب به خشک انتخاب و نشانگرهای میکروستلایت برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در توده‌ها استفاده شد که نتایج آن حکایت از تنوع درون گونه‌ای بالا و بین گونه‌ای پایین داشت (Carsjens *et al*., 2014). ساختار ژنتیکی جمعیت‌های بلوط (*Quercus ruber*) با استفاده از ایزوزایم و میکروستلایت ارزیابی شد. نتایج تنوع ژنتیکی بالایی (H_e=۰/۲۸۴ برای ایزوزایم و H_e=۰/۷۸۹ برای میکروستلایت) را نشان داد (Craciunesc *et al*., 2011). همچنین در طی تحقیقی تنوع ژنتیکی سیزده جمعیت راش اروپایی (*Fagus sylvatica*) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره ارزیابی شد و نتایج ارتباط معنی‌داری را بین فاصله

[1] Simple Sequence Repeat
[2] Marker-Assisted Selection

ژنتیکی و جغرافیایی نشان نداد و نشانگرهای ریزماهواره مورد استفاده با توجه به پلی‌مورفیسم بالا برای ارزیابی تنوع ژنتیکی راش اروپایی معرفی شدند (Cvrckova *et al*., 2017).

دستاوردهای تعیین کمیّت و ارزیابی تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های یک گونه این امکان را فراهم می‌کند تا به کمک راهبردهای حفاظت حاصل از آن، تنوع جمعیت‌ها به بهترین نحو حفظ و نگهداری شود. نشانگرهای ژنتیکی ابزار مناسبی برای مطالعه اثر تنوع ژنتیکی گیاهی بر روی پایداری اکوسیستم‌ها هستند و امکانات ویژه‌ای را برای برآورد تنوع ارائه می‌دهند و می‌توانند روش کلیدی مناسب برای ایجاد اهداف حفاظتی باشند. تنوع ژنتیکی از آن جهت که باعث انطباق گونه به تغییرات شرایط محیطی در طول زمان می‌شود اهمیت دارد. در واقع تنوع ژنتیکی به این گونه اجازه حضور در ارتفاعات مختلف و شرایط اکولوژی متفاوت را می‌دهد. با مطالعه و ارزیابی تنوع ژنتیکی و اکوتیپی درختان مادری به عنوان اساس ساختار ژنتیکی جوامع راش در ایران می‌توان جمعیت‌هایی با تنوع ژنتیکی بالاتر و در نتیجه سازگارتر با تنش‌های محیطی مانند تنش خشکی را شناسایی کرد و به اهداف حفاظت و توسعه این گونه نزدیکتر شد، به‌نحوی‌که این پژوهش در این راستا طراحی و اجرا گردید. هدف از انجام این پژوهش مقایسه تنوع جمعیت‌های گونه راش شرقی در دو گرادیان شاخص خشکی از غرب به شرق و ارتفاع پایین‌بند به بالابند در جنگل‌های هیرکانی با استفاده از نشانگر مولکولی ریزماهواره و ایزوآنزیم پراکسیداز است.

مواد و روش

رویشگاه‌های مورد مطالعه

برای انجام این تحقیق چهار جمعیت راش در سه استان گیلان (جنگل شفارود با اقلیم خیلی مرطوب نوع الف)، مازندران (جنگل خیرودکنار با اقلیم خیلی مرطوب نوع ب و اقلیم مرطوب سرد در بالابند) و گلستان (جنگل شصت‌کلاته با اقلیم نیمه‌مرطوب) برای نمونه‌برداری انتخاب شدند (شکل ۱). لازم است یادآوری شود که طبقه‌بندی اقلیم‌ها براساس طبقه‌بندی اقلیمی دومارتن و آمبرژه از اطلاعات هواشناسی کتابچه‌های طرح جنگل‌داری مربوطه استخراج شده است. از هر منطقه ۱۵ پایه درختی که دارای ظاهر سالم بوده و در وسط توده قرار گرفته و دارای شرایط طبیعی از نظر پارامترهای توده‌ای مانند سن یکسان بودند و با فاصله حداقل ۱۵۰ متر از یکدیگر به علت کاهش قرابت خویشاوندی به‌طور تصادفی انتخاب شدند و برای مطالعات آزمایشگاهی از برگ‌های سالم نمونه تهیه شد. نمونه‌برداری برگ‌های کامل از یک جهت نسبت به تابش نور و از ارتفاع یکسانی از تاج انجام شد. نمونه‌ها را در فویل پیچیده و بلافاصله در تانک محتوای ازت مایع قرار داده و به آزمایشگاه و فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

شکل ۱- موقعیت چهار منطقه مورد مطالعه در جنگلهای هیرکانی

الف- نشانگر بیوشیمیایی پراکسیداز برگ

برای استخراج آنزیم طبق روش (Eberman & Strich, 1982) ابتدا نمونه‌های برگی در هاون استریل شده به کمک ازت مایع خرد شدند. سپس در دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. قسمت رویی و شفاف برای مطالعه کیفی پراکسیداز در فریزر نگهداری شد. ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۲ درصد برای تنوع ایزوآنزیمی در بین چهار منطقه مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور ظاهرسازی باندهای ایزوآنزیمی پراکسیداز از بافر استات A و B، بنزدین۰/۰۲ مولار و آب اکسیژنه استفاده شد. ظرف ظهور به دور از نور روی شیکر به مدت حدود ۳۰ دقیقه قرار داده شد تا باندهای پراکسیداز به‌طور کامل ظاهر گردد. پس از ظهور باندها ژل توسط دستگاه اسکنر ژل برای آنالیز اسکن گردید.

ب- نشانگر مولکولی میکروستلایت

استخراج دی.ان.ای. با استفاده از کیت DNeasy plant mini kit (Qiagen) انجام شد. برای بررسی کمیت و کیفیت دی ان ای استخراجی به‌ترتیب از اسپکتروفتومتر پیکودراپ و ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. هفت آغازگر میکروستلایتی، به دلیل پلی‌مورفیسم بالا در گونه‌های *Fagus orientalis* و *Fagus sylvatica* انتخاب گردید (Pastorelli *et al*., 2003; Kraj and Sztorc, 2008; Buiteveld *et al*., 2007) (جدول ۱). برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از دی.ان.ای. با غلظت ۳۰ نانوگرم بر میکرولیتر استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در چرخه‌های حرارتی بشرح زیر انجام شد: نگهداری محلول واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، سپس محلول در معرض چرخه‌های دمایی شامل: ۹۵ درجه سانتی-گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال (۶۰-۶۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه به تعداد ۳۰ چرخه قرار گرفت. آنگاه فراورده‌های تکثیر در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ دقیقه نگهداری شدند. برای قابل مشاهده کردن قطعات تکثیر شده از الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶ درصد در دستگاه الکتروفورز استفاده شد. رنگ‌آمیزی ژل توسط نیترات نقره انجام گردید (Benbouza *et al*., 2006).

برای تجزیه‌وتحلیل داده‌های الکتروفورتیکی حاصل از الکتروفورز نشانگرهای بیوشیمیایی و میکروستلایت، امتیازدهی باندها به صورت صفر (عدم وجود باند) و یک (وجود باند) انجام شد. نرم‌افزار GenALEX ver. 6.2 برای آنالیز واریانس مولکولی (AMOVA) و سایر پارامترهای ساختار ژنتیکی با نرم‌افزار POPGENE ver. 1.31 محاسبه شد.

جدول ۱- مشخصات آغازگرهای مورد مطالعه در نشانگر میکروستلایت

لوکوس میکروستلایت	آغازگرها	دمای اتصال	توالی تکرارشونده	شماره شناسایی
FS1-15	F[1]: tcaaacccagtaaatttctca R[2]: gcctcaatgaactcaaaaac	۶۰	$(GA)_{26}$	AF528095
FS1-25	F: gacccatacctctcagcttc R: agagatcattgcaaccaaac	۶۵	$(GA)_{23}$	AF528093
FS1-03	F: cacagcttgacacattccaac R: tggtaaagcacttttcccact	۶۰	$(GA)_{18}$	AF528090
FS1-11	F: tgaattcaatcatttgaccattc R: ggaagggtgcttcaatttgg	۶۳	$(GA)_{15}$	AF528091
FS3-04	F: agatgcaccacttcaaattc R: tctcctcagcaacatacctc	۶۰	$(GCT)_5(GTT)_3(GCT)_6$	AF528092
FS4-46	F: gcagtcctccaccattacta R: tacaacagcaggctatccat	۶۰	$(TGA)_{23}$	AF528094
FCM-5	F: actgggacaaaaaaacaaaa R: gaaggaccaaggcacataaa	۶۰	$(AG)_{10}$	Tanaka, et al. 1999.

1: F: Forward
2: R: Reverse

نتایج

الف- ایزوآنزیم پراکسیداز

نشانگر پراکسیداز در این تحقیق درمجموع ۱۱ آلل تولید کرد. بیشترین تعداد آلل مشاهده شده در جمعیت شصت‌کلاته مشاهده شد. تعداد مؤثر آلل‌ها که مقیاسی برای محاسبه تنوع ژنتیکی است در میان جمعیت‌ها از ۱/۲۳ تا ۱/۳۹ متغیر بوده و بیشترین میزان مربوط به شصت‌کلاته است (جدول ۲).

جدول ۲- تعداد آلل‌های مشاهده شده و آلل‌های مؤثر به کمک ایزوآنزیم پراکسیداز

نام جمعیت	نام استان	میانگین تعداد آلل مشاهده شده	میانگین تعداد آلل مؤثر
شفارود	گیلان	۱/۳۶	۱/۳۴
خیرودکنار پایین‌بند	مازندران	۱/۲۷	۱/۲۳
خیرودکنار بالابند	مازندران	۱/۲۷	۱/۳۸
شصت‌کلاته	گلستان	۱/۵۴	۱/۳۹
کل		۲	۱/۳۷

مقادیر تنوع ژنتیکی همانند درصد چندشکلی مکان ژنی و شاخص شانون[1] درون جمعیت‌ها و بین جمعیت‌ها نشان داد که منطقه شصت‌کلاته بیشترین درصد چند شکلی (۷۲/۷۳) و جمعیت خیرودکنار ارتفاع پایین‌بند کمترین درصد چند شکلی (۵۴/۵۵) را داشتند. بالاترین مقدار شاخص اطلاعات شانون ۰/۳۶ و مربوط به جمعیت منطقه شصت‌کلاته بود. در کل جمعیت‌های مورد مطالعه، میزان چندشکلی ۶۳/۶۴ درصد و میزان شاخص شانون ۰/۳۰ برآورد گردید (جدول ۳). همچنین هتروزیگوتی یا تنوع ژنتیکی در جمعیت شصت‌کلاته بیشترین مقدار و در خیرودکنار ارتفاع پایین‌بند کمترین میزان را نشان داد.

جدول ۳- میزان چند شکلی و شاخص اطلاعات شانون در جمعیت‌های مورد مطالعه راش شرقی به کمک ایزوآنزیم پراکسیداز

جمعیت	شاخص اطلاعات شانون	درصد چندشکلی در جایگاه‌های ژنی	هتروزیگوتی (نئی)
شفارود	۰/۳۱	۶۳/۶۴	۰/۲۰
خیرودکنار پایین‌بند	۰/۲۳	۵۴/۵۵	۰/۱۴
خیرودکنار بالابند	۰/۳۰	۶۳/۶۴	۰/۲۰
شصت‌کلاته	۰/۳۶	۷۲/۷۳	۰/۲۴
کل	۰/۳۷	۱۰۰	۰/۲۳

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه در سطح ۱ درصد خطا معنی‌دار بود (جدول ۴). به‌طوری‌که ۲۱٪ از میزان کل واریانس مشاهده شده مربوط به بین جمعیت‌ها و ۷۹٪ آن مربوط به داخل جمعیت‌هاست (جدول ۴). همچنین ضریب تفاوت ژنی (Gst) به میزان ۰/۱۶ و میزان جریان ژنی (Nm) ۲/۶۷ برآورد شد.

1- Shannon’s index

جدول ۴- تجزیه واریانس مولکولی برای تفاوت ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه به کمک ایزوآنزیم پراکسیداز

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	تخمین واریانس	درصد واریانس	Φ_{PT}
بین جمعیت‌ها	۳	۱۷/۱۶۷	۵/۷۲۲	۰/۳۰۵	۲۱	۰/۲۱**
درون جمعیت‌ها	۵۶	۶۴/۱۳۳	۱/۱۴۵	۱/۱۴۵	۷۹	
کل	۵۹	۸۱/۳۰۰	-	۱/۴۵۰	۱۰۰	

**: در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار

فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌ها بر اساس رابطه نی (۱۹۷۸) برآورد شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده بیشترین تشابه ژنتیکی بین دو جمعیت شفارود و خیرودکنار ارتفاع پایین‌بند (۰/۹۷) و کمترین تشابه ژنتیکی بین شصت‌کلاته و جمعیت منطقه خیرودکنار ارتفاع بالابند (۰/۸۷۸) مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۵- شباهت ژنتیکی (اعداد بالای قطر) و فاصله ژنتیکی (اعداد زیر قطر) نی (۱۹۷۸) بین جمعیت‌ها به کمک ایزوآنزیم پراکسیداز

جمعیت	شفارود	خیرودکنار پایین‌بند	خیرودکنار بالابند	شصت‌کلاته
شفارود	-	۰/۹۷۰	۰/۹۵۲	۰/۹۵۹
خیرودکنار پایین‌بند	۰/۰۳۱	-	۰/۹۳۳	۰/۹۳۸
خیرودکنار بالابند	۰/۰۴۹	۰/۰۷۰	-	۰/۸۷۸
شصت‌کلاته	۰/۰۴۲	۰/۰۴۶	۰/۱۳۰	-

ب- نشانگر مولکولی میکروستلایت

برای تعیین میزان خلوص و غلظت دی.ان.ای. استخراج شده، جذب نوری کلیه نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر توسط دستگاه پیکودراپ قرائت و نسبت میزان جذب در طول موج‌های ۲۶۰ به ۲۸۰ محاسبه گردید. در تمامی نمونه‌ها، میزان این نسبت در محدوده ۱/۷-۱/۹ بود که حکایت از درجه خلوص بالای دی.ان.ای. استخراجی داشت. همچنین کیفیت دی.ان.ای. استخراجی توسط دستگاه الکتروفورز افقی و ژل اگارز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این قسمت با توجه به وجود باند واضح و عدم وجود اسمیر (لکه) حکایت از کیفیت بالای دی.ان.ای. و عدم شکستگی در آن دارد. از ۷ جفت آغازگر مورد مطالعه در این تحقیق در مجموع تعداد ۷۴ آلل به‌دست آمد. ۷ آلل در بین جمعیت‌های مورد مطالعه چند شکلی نشان دادند. برآوردهای تنوع ژنتیکی همانند میانگین تعداد آلل در هر جایگاه ژنی و تعداد آلل مؤثر در هر جمعیت مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین تعداد آلل دارای چندشکلی مربوط به جمعیت شصت‌کلاته با ۶۲ آلل و کمترین میزان آن مربوط به جمعیت خیرودکنار ارتفاع پایین‌بند به تعداد ۴۷ آلل بود (جدول ۶). میانگین تعداد آلل در هر جایگاه ژنی و همچنین میانگین تعداد آلل مؤثر در جمعیت شصت‌کلاته به‌ترتیب به میزان ۱/۵۸۱ و ۱/۳۲۳ دارای بیشترین میزان نسبت به سه جمعیت دیگر بود (جدول ۶).

مقادیر تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها نشان داد که منطقه شصت‌کلاته بیشترین درصد چند شکلی (۷۴/۳۲) و جمعیت خیرودکنار ارتفاع پایین کمترین درصد چند شکلی (۵۶/۷۶) را داشتند. بالاترین مقدار شاخص اطلاعات شانون ۰/۳۱۶ و مربوط به جمعیت منطقه شصت‌کلاته بود. همچنین بالاترین میزان هتروزیگوتی در جمعیت شصت‌کلاته (۰/۲۰۱) و کمترین میزان آن مربوط به جمعیت خیرودکنار ارتفاع پایین‌بند به میزان ۰/۱۸۳ بود. میزان چندشکلی در کل جمعیت‌های مورد مطالعه ۹۴/۵۹

درصد و میزان شاخص شانون ۰/۳۶۷ و هتروزیگوتی ۰/۲۲۶ برآورد گردید (جدول ۷).

جدول ۶- خصوصیات آلل‌ها در جمعیت‌های مورد مطالعه به کمک نشانگر میکروستلایت

جمعیت	میانگین تعداد آلل در هر جایگاه ژنی	میانگین تعداد آلل مؤثر	تعداد جایگاه‌های ژنی چند شکل
شفارود	۱/۴۱۹	۱/۳۰۴	۵۶
خیرودکنار پایین‌بند	۱/۲۰۳	۱/۳۰۵	۴۷
خیرودکنار بالابند	۱/۲۴۳	۱/۲۹۹	۴۸
شصت‌کلاته	۱/۵۸۱	۱/۳۲۳	۶۲
کل	۱/۹۴۵	۱/۳۴۵	۷۰

جدول ۷- میزان چند شکلی و شاخص اطلاعات شانون در جمعیت‌های مورد مطالعه راش شرقی به کمک نشانگر میکروستلایت

جمعیت	شاخص اطلاعات شانون	درصد چندشکلی در جایگاه‌های ژنی	هتروزیگوتی قابل انتظار
شفارود	۰/۲۸۹	۶۶/۲۲	۰/۱۸۵
خیرودکنار پایین‌بند	۰/۲۷۸	۵۶/۷۶	۰/۱۸۳
خیرودکنار بالابند	۰/۲۸۵	۵۹/۴۶	۰/۱۸۵
شصت‌کلاته	۰/۳۱۶	۷۴/۳۲	۰/۲۰۱
کل	۰/۳۶۷	۹۴/۵۹	۰/۲۲۶

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که تفاوت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌های مورد مطالعه در سطح ۱ درصد خطا معنی‌دار بود، به‌طوری‌که ۲۳٪ از میزان کل واریانس مشاهده شده در مجموع مربوط به بین جمعیت‌ها و ۷۷٪ آن مربوط به درون جمعیت‌ها بود (جدول ۸). همچنین ضریب تفاوت ژنی (Gst) به میزان ۰/۱۶ و میزان جریان ژنی (Nm) ۲/۵۱ برآورد شد.

جدول ۸- تجزیه واریانس مولکولی برای تفاوت ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه به کمک نشانگر میکروستلایت

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	تخمین واریانس	درصد واریانس	Φ_{PT}
بین جمعیت‌ها	۳	۱۴۷/۱۵۰	۴۹/۰۵۰	۲/۶۷۹	۲۳	۰/۲۳**
درون جمعیت‌ها	۵۶	۴۹۶/۱۳۳	۸/۸۶۰	۸/۸۶۰	۷۷	
کل	۵۹	۶۴۳/۲۸۳	-	۱۱/۵۳۹	۱۰۰	

**: در سطح احتمال ۱ درصد خطا معنی‌دار

فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌ها بر اساس رابطه نئی (۱۹۷۸) برآورد شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده بیشترین تشابه ژنتیکی بین دو جمعیت خیرودکنار ارتفاع پایین‌بند و خیرودکنار ارتفاع بالابند (۰/۹۶۰) و کمترین تشابه ژنتیکی بین جمعیت‌های شفارود و خیرودکنار ارتفاع بالابند (۰/۹۱۴) مشاهده شد (جدول ۹).

جدول ۹- شباهت ژنتیکی (اعداد بالای قطر) و فاصله ژنتیکی (اعداد زیر قطر) نی (۱۹۷۸) بین جمعیت‌ها به کمک نشانگر میکروستلایت

جمعیت	شفارود	خیرودکنار پایین‌بند	خیرودکنار بالابند	شصت‌کلاته
شفارود	–	۰/۹۴۳	۰/۹۱۴	۰/۹۲۹
خیرودکنار پایین‌بند	۰/۰۵۹	–	۰/۹۶۰	۰/۹۵۰
خیرودکنار بالابند	۰/۰۹۰	۰/۰۴۰	–	۰/۹۳۵
شصت‌کلاته	۰/۰۷۴	۰/۰۵۲	۰/۰۶۷	–

بحث

تنوع ژنتیکی به‌عنوان یکی از راهکارهای سازگاری جمعیت‌های یک گونه به تغییرات محیطی است. به‌طوری‌که هرچه میزان این تنوع بیشتر باشد، احتمال اینکه بعضی از افراد جمعیت دارای آلل‌های مقاومت به عوامل نامساعد محیطی باشند، بیشتر است. تحقیقات متعددی نشان می‌دهند که تنوع ژنتیکی بالا در یک جمعیت می‌تواند برابر با توانایی سازگاری به تنش‌های محیطی در آن جمعیت باشد (Hamrick, 2004). بسیاری از مطالعات رابطه معنی‌داری را بین تنوع ژنتیکی و خصوصیات مثبت فنوتیپی نشان می‌دهند. به‌طور مثال تحقیقات نشان داده که درختان راش مبتلا به قارچ *Phytophthora* در لهستان نسبت به درختان سالم از هتروزیگوتی کمتری برخوردارند (Nowakowska & Oszako, 2008).

به‌طورکلی نتایج مطالعات تنوع اکوتیپی و ژنتیکی در چهار جمعیت راش مورد مطالعه به کمک نشانگرهای ایزوآنزیمی و ریزماهواره، میزان هتروزیگوتی را به‌ترتیب ۰/۲۳ و ۰/۲۲ نشان داد که با توجه به بیشینه هتروزیگوتی به میزان ۰/۵ در سیستم کددهی صفر و یک، تنوع خوبی می‌باشد (Gaudeul *et al*., 2004). Salehi Shanjani و همکاران (2006) تنوع ژنتیکی گونه راش شرقی را در جنگل‌های هیرکانی بالا ذکر کرده‌اند. همچنین تحقیقات انجام شده بر روی راش اروپایی نیز میزان تنوع ژنتیکی در توده‌های طبیعی و مدیریت شده و حتی توده‌های نزدیک به یکدیگر را از نظر جغرافیایی بالا بیان می‌نماید (Buiteveld *et al*., 2007; Jump & Penuelas, 2007). میزان هتروزیگوتی و شاخص شانون که برآورد خوبی برای مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها می‌باشد و بالا بودن این شاخص‌ها در جمعیت بیان‌گر وجود تنوع بالا در آن جمعیت است. در جمعیت شصت‌کلاته هم در روش ایزوآنزیم و هم ریزماهواره بیشتر از سه جمعیت دیگر بود که با توجه به نتایج سایر تحقیقات، احتمال سازگاری با شرایط گرمتر و خشک‌تر برای درختان راش این منطقه بالاتر است (Bilela *et al*., 2012). به‌طورکلی سطح بالایی از تنوع ژنتیکی درون جمعیتی در گونه‌های دگرگشن و بادگرده‌افشان مانند راش مورد انتظار است (Oddou-Muratorio *et al*., 2011; Rajendra, 2011). البته چنین تنوع ژنتیکی بالا برای سازگاری با شرایط محیطی مفید است. جنگل‌های راش با تنوع ژنتیکی بالا به احتمال زیاد قادرند با شرایط گرمتر و خشک‌تر کنار آمده، در نتیجه با شرایط آب و هوایی جدید به خوبی سازگار شوند (Bilela *et al*., 2012). اما احتمالاً فشار برای سازگاری در مقابل تغییرات سریع آب و هوایی، زیاد خواهد بود و تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها ممکن است فقط سازگاری کوتاه‌مدت را از طریق جریان ژنی از جمعیت‌های سازگارشده دیگر تسهیل کند و از سوی دیگر ممکن است تکه‌تکه شدن رویشگاه‌ها مانع این فرایند شود (Jump *et al*., 2006). باوجوداین، تفاوت‌های ژنتیکی در مقیاس کوچک از نظر صفات سازگاری به تغییرات محیطی در بین جمعیت‌های راش مجاور هم نشان می‌دهد که برای پراکنش ژن‌های پیش‌سازگارشده به خشکی نیازی به انتقال از جمعیت‌های فواصل دور نیست (Pluess & Weber, 2012). همچنین در بررسی تأثیر ارتفاع از سطح دریا بر

میزان تنوع مشاهده گردید که تنوع اکوتیپی ایزوآنزیمی خیرود بالابند بیشتر از خیرود پایین‌بند بوده ولی از لحاظ تنوع ژنتیکی مشابه یکدیگر بودند. تحقیقات زیادی ارتباط قوی بین تنوع ژنتیکی با تنش‌ها و گوناگونی محیطی را نشان می‌دهند (Nevo, 2001). اما در تحقیق دیگر بین تنوع ژنتیکی و اکوتیپی جمعیت‌های راش شرقی در ارتفاعات مختلف سنگده و گرگان اختلاف واضحی مشاهده نشد که تا حدی با نتایج این تحقیق همسو می‌باشد (Salehi Shanjani *et al*., 2011). شرایط محیطی عامل اصلی در توزیع گونه-های گیاهیست. اقلیم به‌عنوان یکی از عوامل فشار انتخاب طبیعی، قابلیت بالایی در انتخاب جهت‌دار جمیت‌های طبیعی مانند گونه راش دارد (Jump & Penuelas, 2007) و دما نقش بسیار مهمی را به‌عنوان عامل انتخابگر در تفاوت‌های جمعیت‌ها بازی می‌کند (Fang & Lechowicz, 2006).

تفاوت‌های بین جمعیتی راش منجر به اکوکلاین‌های ارتفاعی می‌شود، به‌طوری‌که جمعیت‌های راش در ارتفاعات پایین‌تر قابلیت رویشی بیشتری نسبت به ارتفاعات بالاتر دارند. این نتیجه در اثر فشار انتخاب طبیعی در ارتفاعات پایین‌تر برای سازگاری به شرایط مرطوب‌تر و رشد بیشتر و در ارتفاعات بالاتر برای سازگاری به شرایط سردتر و رشد کمتر می‌باشد (Marvie-Mohadjer, 1976). بنابراین عدم وجود تفاوت ژنتیکی بارز بین دو ارتفاع از سطح دریا، نشان‌دهنده فشار انتخاب طبیعی کمتر در مقایسه با گرادیان شرقی- غربی پراکنش راش شرقی بر روی نشانگر ریزماهواره می‌باشد؛ اما در مورد ایزوآنزیم پراکسیداز که حاصل بیان ژن سازگاری به تنش‌های محیطی است، فشار انتخاب طبیعی تأثیر بیشتری را نشان داد. تحقیق دیگری تأثیر ارتفاع را بر تنوع ژنتیکی راش اروپایی به کمک نشانگر AFLP معنی‌دار و سایر تحقیقات اثر ارتفاع را بر تنوع ژنتیکی توس و کاج جنگلی، غیر معنی‌دار ارزیابی نمودند (Puglisi *et al*., 1999; Truong *et al*, 2007).

مطابق با تحقیقات دیگر در مورد راش شرقی و اروپایی (Salehi Shanjani *et al*, 2006; Carsjens *et al*, 2014)، نتایج این تحقیق با هر دو نشانگر ایزوآنزیم و ریزماهواره، تنوع بین جمعیتی پایین و تنوع درون جمعیتی بالا را در جمعیت‌های چهارگانه مورد مطالعه نشان دادند. بر اساس یافته‌های Hamrick و Godt (۱۹۸۹)، بیولوژی تکثیر جنسی گونه، مهمترین عامل در تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت‌های گیاهیست. آنان نشان دادند که تنوع بین جمعیتی گونه‌های گیاهی دگرگشن در حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد است، درحالی‌که در گونه‌های خودگشن میزان این تنوع حدود ۵۰ درصد است. تحقیقات در مورد گلدهی و سیستم گرده‌افشانی راش شرقی نشان داده که این گونه دگرگشن بوسیله باد است. به‌طورکلی تنوع ژنتیکی درون جمعیتی بالا و بین جمعیتی پایین گونه‌ها می‌تواند ناشی از سطوح بالای جریان ژنی جمعیت‌ها باشد (Hamrick & Godt, 1989).

در این تحقیق، بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها به کمک ضریب تفاوت ژنتیکی (Gst) برای هر دو نشانگر به میزان ۰/۱۶ نیز حکایت از سهم بالای تنوع درون جمعیتی نسبت به تنوع بین جمعیتی در گونه راش شرقی دارد. میزان Gst بین محدوده ۰/۰۵ -۰ نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی کم و بین ۰/۱۵-۰/۰۵ نمایانگر تمایز ژنتیکی متوسط و در نهایت بین ۰/۲۵-۰/۱۵ باشد نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی بسیار بالاست (Hartl & Clark, 1997). همچنین برآورد تعداد مهاجرت مؤثر در هر نسل (Nm) راش شرقی به میزان بیشتر از ۱ در هر دو نشانگر، حکایت از جریان ژنی بالا بین جمعیت‌ها و در نتیجه همگنی بیشتر آللی بین جمعیت‌های راش شرقی دارد. همچنین بررسی فاصله ژنتیکی نی جمعیت‌های مورد مطالعه به کمک هر دو نشانگر حکایت از فاصله ژنتیکی کم بین جمعیت‌ها دارد، به‌طوری‌که این فاصله کم منعکس کننده گرادیان شاخص خشکی جمعیت‌های راش از غرب به شرق جنگل‌های هیرکانی نبود که این مطلب در تحقیق دیگری بر روی راش اروپایی در کشور آلمان نیز به علت فشار کم انتخاب طبیعی بر روی نشانگرهای ریزماهواره مشاهده گردید (Carsjens *et al*., 2014)

بنابراین نتیجه‌گیری شد که وجود تنوع ژنتیکی بالا در جمعیت‌های راش جنگل‌های هیرکانی حکایت از پایه ژنتیکی قابل قبولی برای سازگاری با شرایط محیطی داشته و

ممکن است سازگاری کوتاه‌مدت به تغییرات اقلیمی را تسهیل نماید. از سوی دیگر وجود تنوع ژنتیکی بیشتر در منطقه شصت‌کلاته نسبت به سایر مناطق، نشان‌دهنده وجود نیروهای تکاملی قوی‌تر برای سازگاری درختان با شرایط محیطی منطقه است. همچنین وجود تنوع بین جمعیتی کمتر به علت جریان ژنی بالا در جمعیت‌های باد گرده‌افشان و دگرگشن راش شرقی باعث تمایز ژنتیکی کم بین جمعیت‌ها در گرادیان شاخص خشکی جنگل‌های هیرکانی شده است.

منابع مورد استفاده

– Benbouza, H., Jacquemin, J.M., Baudoin, J.P. and Mergeai, G., 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, 10(2):77–81.
– Bilela, S., Dounavi, A., Fussi, B., Konnert, M., Holst, J., Mayer, H., Rennenberg, H. and Simon, J., 2012. Natural regeneration of *Fagus sylvatica* L. adapts with maturation to warmer and drier microclimatic conditions. Forest Ecology and Management, 275: 60-67.
– Buiteveld, J., Vendramin, G.G., Leonardi, S., Kamer, K. and Geburek, T., 2007. Genetic diversity and differentiation in European beech (*Fagus sylvatica* L.) stands varying in management history. Forest Ecology and Management, 247: 98–106.
– Calagari, M., Jafari Mofidabadi, A., Tabari, M. and Hoseini, S.M., 2007. Genetical variation on natural populations of *Populus euphratica* Oliv. by peroxidase isoenzyme. Iranian Journal of Forest and Poplar research, 15(2): 115-122. (In Persian).
– Carsjens, C., Nguyne, Ngoc Q., Guzy, J., Knutzen, F., Meier, I. Ch., Muler, M., Finkeldey, R., Leuschner, Ch. and Polle A., 2014. Intra- specific variation in expression of stress- related genes in beech progenies are stronger than drought–induced responses. Tree physiology, 34(12): 1348-1361.
– Craciunesc, I., Ciocirlan, E., Sofletea, N. and Curtu, A.L., 2011. Genetic diversity of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in prejmer natural reserve. Agricultural Food Engineering, 4(53): 16-20.
– Cvrckova, H., Machova, P., Polakova, L. and Trckova, O., 2017. Evaluation of the genetic diversity of selected Fagus sylvatica L. populations in the Czech Republic using nuclear microsatellites. Journal of forest science, 63(2):53-61.
– Czajkowski, T. and Bolte, A., 2005. Different reaction of beech (*Fagus sylvatica* L.) provenances from Germany and Poland to drought. Allgemeine Forst- und Jagdzeitung, 177(2): 30-40.
– Eberman, R. and Strich, K. 1982. Peroxidase and amylase isoenzymes in the sapwood and heartwood of trees- Phytochem, 21: 2401-2402.
– Fang, J. and Lechowicz, M., 2006. Climatic limits for the present distribution of beech (*Fagus* L.) species in the world. Journal of Biogeography, 33: 1804-1819.
– Gaudeul, M., Till-Bottraud, I., Barjon, F. and Manel, S., 2004. Genetic diversity and differentiation in Eryngium alpinum L. (Apiaceae): comparison of AFLP and microsatellite markers. Heredity, 92: 508-518.
– Hamrick, J. L. and Godt, M. J. W., 1989. Allozyme diversity in plant species. IN: Differentiation patterns in higher plants (K. Urbanska, ed.) pp. 53-67. New York: Academic Press.
– Hamrick, J.L. 2004. Response of forest trees to global environmental changes. Forest Ecology and Management, 197: 323-335.
– Hartl, D. L. and Clark, A. G., 1997. Principles of population genetics (Vol. 116). Sunderland: Sinauer associates.
– Jump, A.S. and Penuelas, J., 2007. Extensive spatial genetic structure revealed by AFLP but not SSR molecular markers in the wind-pollinated tree, *Fagus sylvatica*. Mol Ecol., 16:925–936.
– Jump, A.S., Hunt, J.M., Martnez-Izquierdo, J. A. and Peulas, J., 2006. Natural selection and climate change: temperature-linked spatial and temporal trends in gene frequency in *Fagus sylvatica*. Molecular Ecology, 15: 3469-3480.
– Karimi, L. and Azadfar, D., 2011. Consideration and comparison of genetic diversity of English yew species (*Taxus baccata* L.) using branch and leaf peroxidase. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 18(2): 227-238. (In Persian).
– Khaksar, R., Aldaghi, M., A. Salimi, A. and Espahbodi, K., 2015. Investigation on qualitative and quantitative changes of peroxidase isozyme in maple (*Acer velutinum*) at different altitudes of Mazandaran forests. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 23(2): 203-2014. (In Persian).
– Kraj, W., Sztorc, A., 2008. Genetic structure and variability of phenological forms in the European beech (*Fagus sylvatica* L.). Annals of Forest Science, 66(2): 1-7.
– Mahmoodi Zarinabadi, M.B., Azadfar, D. and Saeedi, Z., 2014. Comparison of the efficiency of leaf morphological and Peroxidase isozyme markers in

Subpopulation differentiation along elevational transects within two Italian populations of Scot pine (*Pinus sylvestris* L.). Forest Genetics, 6:247-256.
– Rajendra, K.C., 2011. Spatial dynamics of intraspecific genetic variation in European beech (*Fagus sylvatica* L.). PhD Thesis. Georg-August-University Göttingen, Germany.
– Salehi Shanjani, P., Vendramin, G.G. and Calagari, M., 2006. Effects of artificial selection on genetic structure of beech (*Fagus orientalis* Lipsky) populations. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 18(2): 165-180. (In Persian).
– Salehi Shanjani, P., Vendramin, G.G. and Calagari, M., 2011. Altitudinal genetic variations among the *Fagus orientalis* Lipsky populations in Iran. Iranian Journal of Biotechnology, 9(1): 11-20. (In Persian).
– Schraml, C. and Rennenberg, H., 2000. Sensitivity of different ecotypes of beech trees (*Fagus sylvatica L.*) to drought stress. Forstwissenschaftliches Centralblatt., 119: 51-61.
– Taheri Abkenar, K. and Pilevar, B., 2008. Sylviculture. Publication:z Haghshenas press, Rasht, Iran 296p. (In Persian).
– Truong, C., Palmé, A.E. and Felber, F. 2007. Recent invasion of the mountain birch *Betula pubescens* ssp. tortuosa above the tree line due to climate change: genetic and ecological study in northern Sweden Journal of Evolutionary Biology, 20: 369-380.
segregation of *Fagus orientalis* Lipsky plus and none-plus trees in Shastkalateh forest-Gorgan. Journal of Wood & Forest Science and Technology, 20 (4): 197-210. (In Persian).
– Marvie-Mohadjer, M.R., 1976. Some quantitative characteristics of Iranian beech forests. Iran J Nat Reso., 34: 77-97. (In Persian).
– Nevo, E., 2001. Evolution of genome-phenome diversity under environmental stress. Proc Natl Acad Sci USA., 98: 6233-6240.
– Nowakowska, J.A. and Oszako, T., 2008. Health condition and genetic differentiation level of beech in the Siewierz Forest District assessed with cpDNA markers. Sylwan, 152: 11-20.
– Oddou-Muratorio, S., Klein, E.K., Vendramin, G.G. and Fady, B., 2011. Spatial vs. temporal effects on demographic and genetic structures: the roles of dispersal, masting and differential mortality on patterns of recruitment in *Fagus sylvatica*. Molecular Ecology, 20(9): 1997-2010.
– Pastorelli, R., Smulders, M.J.M., Van't Westende, W.P.C., Vosman, B., Giannini, R., Vettori, C. and Vendramin, G.G., 2003 Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky. Molecular Ecology, 3: 76-78.
– Pluess, A.R. and Weber, P., 2012. Drought-adaptation potential in *Fagus sylvatica*: linking moisture availability with genetic diversity and dendrochronology. PLose One, 7(3): e33636.
– Puglisi, S., Lovreglio, R. and Attolico, M. 1999.

Drought effect on the diversity of *Fagus orientalis* L. populations using microsatellite molecular markers and peroxidase isoenzyme

Z. Saeedi[1], D. Azadfar[*2], M. Tohidfar[3] and K. Saghebtalebi[4]

1- PhD graduated, Forest Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Science and Natural resources, Gorgan, I.R. Iran
2*- Corresponding Author, Assoc. Prof., Forest Science Faculty, Gorgan University of Agricultural Science and Natural resources, Gorgan, I.R. Iran, E-mail: azadfar@gau.ac.ir
3- Assoc. Prof., Shahid Beheshti University, Tehran, I.R. Iran.
4- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, I.R. Iran

Received: 02.05.2019 Accepted: 12.01.2020

Abstract

Fagus orientalis is one of the most important broadleaf species in Hyrcanian forests. The phenotypic and genetic adaptation potential of this species to climate change is very important. Quantifying and evaluating genetic diversity between and within oriental beech populations makes it possible to best preserve the diversity of populations. This study was conducted on mature trees of four different populations (regions) of this species in two drought index gradients from West to East and lowland to highland in Hyrcanian forests (Shafarood forest of Gilan, Khairudkenar forest of lowland and highland of Mazandaran and Shast Kalateh forest of Golestan). Genetic diversity was studied in native populations using seven microsatellite markers and one biochemical marker. The results showed high diversity in all populations, especially in the population of Shast Kalateh, Golestan. The results of molecular analysis of variance with SSR microsatellite marker showed that 77% of the total diversity was within populations and 23% was among the populations. The results of this study showed that the presence of more genetic diversity within the beech populations of Hyrcanian forests indicates their strong genetic basis for adaptation to environmental conditions and may facilitate short-term adaptation to climate changes. On the other hand, the presence of higher genetic diversity in Shast Kalateh than in other regions indicates stronger evolutionary forces for adapting trees to environmental conditions. Additionally, higher gene flow among allogamous populations of oriental beech has led to low genetic differentiation between populations in the drought index gradient of Hyrcanian forests.

Keywords: diversity, drought gradient, *Fagus orientalis*, molecular and biochemical markers.