

## ارزیابی ژنتیکی سفیدپلت و احداث کلکسیون برای حفاظت آن

فرهاد اسدی<sup>۱\*</sup>، شیرین علیپور<sup>۲</sup>، ضیاءالدین باده‌یان<sup>۳</sup>، حامد یوسف‌زاده<sup>۴</sup> و کامبیز اسپهبدی<sup>۵</sup>

\*۱- نویسنده مسئول، دانشیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

پست الکترونیک: farhadasadi14@yahoo.com

۲- دانش آموخته دکترای جنگل‌داری، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۳- استادیار، گروه مهندسی منابع طبیعی، جنگل‌داری، دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

۴- استادیار، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۵- دانشیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۴

### چکیده

تخریب جنگل‌های هیرکانی، باعث تکه‌تکه شدن رویشگاه سفیدپلت (*Populus caspica* Bornm.) و از بین رفتن بخش عظیمی از ذخایر ژنتیکی آنها شده است. این گونه در نواحی جنوبی خزر پراکنش دارد و در لیست درختان در معرض خطر انقراض گزارش شده است. به‌منظور انتخاب درختان متنوع و حفاظت این ذخائر ژنی در کلکسیون، ابتدا رویشگاه‌های مختلف آن در سراسر نوار جنوبی خزر از آستارا تا جنگل گلستان مطالعه و در نهایت تعداد ۲۰ رویشگاه شناسایی شد. آنگاه DNA برگ ۳۵۹ درخت متعلق به این رویشگاه‌ها استخراج شد. با این حال، پس از حذف یکنواختی کلون‌ها، پارامترهای ژنتیکی برای ۳۱۴ درخت با استفاده از ۱۴ نشانگر ریزماهواره محاسبه شد. این آغازگرها در ۳۱۴ فرد سفیدپلت ۸۰ آلل را نشان دادند. مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار در هر مکان ژنی از ۰/۰۸۵ تا ۰/۷۶۵ و هتروزیگوسیتی مشاهده شده از ۰/۰۶۹ تا ۰/۶۸۹ متغیر بود. بیشترین و کمترین مقادیر غنای آللی در لوه و تنکابن به ترتیب برابر ۳/۰۳ و ۲/۱۷ برآورد شد. ضریب درون‌آمیزی عامل احتمالی انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ بود. فقط ۰/۸ درصد افراد در یک جمعیت سفیدپلت مهاجر بودند. به‌طورکلی جریان ژن نامتقارن و شدت آن کم بود. آزمون مانتل نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی در سفیدپلت وجود ندارد. با این حال ارتفاع یک مانع جدی برای وقوع جریان ژن در سراسر دامنه شرقی و غربی گسترش سفیدپلت محسوب می‌شود. در پایان به‌منظور حفظ ذخائر توارثی و بر اساس نتایج مطالعه مولکولی، پایه‌های متنوع سفیدپلت تکثیر و در کلکسیون مربوطه کاشته شدند.

واژه‌های کلیدی: تولید چوب، حفاظت، ذخائر توارثی، ریزماهواره.

## مقدمه

درختان سفیدپلت به عنوان درختان انحصاری خزان‌کننده دوپایه دارای ۲۵ تا ۳۰ متر ارتفاع در منطقه هیرکانی مستقر هستند. حد ارتفاعی پراکنش این گونه از منهای ۵ تا بیش از ۱۷۰۰ متر از سطح دریاست. درختانی رطوبت‌پسند هستند که در مناطق با بارندگی بیش از ۶۰۰ میلی‌متر دیده می‌شوند (Fallah et al., 2011; Nazari and Fallah, 2016). به دلیل فعالیت متمرکز انسان مانند جنگل‌زدایی، توسعه شهرها و روستاها، احداث سدها، بزرگراه‌ها، توسعه کشاورزی، حتی جنگل‌کاری با گونه‌های غیربومی، جایگاه‌های طبیعی سفیدپلت به‌طور عمده تخریب شده است. علاوه بر تخریب رویشگاه، سفیدپلت به دلیل کاهش شدید تنوع ژنتیکی امکان تکثیر جنسی توسط بذر را نیز ندارد. این مسائل باعث شده است که سفیدپلت به‌عنوان یک گونه در معرض خطر معرفی شود (Jalili and Jamzad, 1999). آگاهی از تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی به مدیریت ذخائر گونه‌های در معرض خطر کمک می‌کند (Jiang et al., 2015) و قابلیت گونه‌ها را در مواجهه با انتخاب طبیعی یا غیرطبیعی و سازگاری آنها را با تغییرات محیطی مشخص می‌نماید (Szczecińska et al., 2016).

ورود گونه‌های غیر بومی صنوبر و گسترش آنها طی نیم قرن گذشته در کشور موجب غفلت از سرمایه‌های ژنتیکی صنوبرهای بومی شده است. از سوی دیگر گونه‌های غیر بومی مانند دلتوئیدس و اورامریکن امکان استقرار و موفقیت را در ارتفاعات و شرایط نامساعد و تنش‌ها ندارند. این در حالی است که سفیدپلت با وجود قابلیت رشد بالا، به دلیل سازگاری با شرایط محیطی شمال کشور قادر خواهد بود تغییرات محیطی را تحمل و در مقابل عوامل زیستی و غیر زیستی از خود مقاومت و مداومت در رشد نشان دهد (Asadi et al, 2005). طبق روال معمول در عرصه‌های تحقیقاتی، پایه‌های مختلف صنوبر از مناطق مختلف جمع‌آوری شده و در قطعات آزمایشی و با صرف هزینه‌های

فراوان کاشته شده و نگهداری می‌شوند تا پس از طی ۱۰-۱۵ سال به انتخاب مناسب‌ترین آنها اقدام گردد. اغلب اوقات به دلیل قرابت ژنتیکی پایه‌های مجاور در طبیعت، تعدادی از آنها دو یا چند بار جمع‌آوری شده و فرایند انتخاب کلن با صرف هزینه‌های زیاد انجام می‌شود. اما با انجام موفقیت‌آمیز مطالعات مولکولی، می‌توان با حذف ارقام مشابه از نظر صفات ژنتیکی و انتخاب پایه‌های متفاوت، هم به تنوع بالاتر دست یافت و هم احتمال موفقیت نهال را در آینده در سطح بالایی برآورد نمود (Asadi et al, 2005).

مطالعات تنوع ژنتیکی می‌تواند پس از تعیین دامنه تنوع، امکان انتقال، جابجایی و حفاظت مؤثر گونه‌های در معرض خطر را اولویت‌بندی نماید. الگوهای تنوع ژنتیکی درختان، مشابه الگوهای صفات رویشی است. بنابراین در مرحله بومی‌سازی این درختان، یک راهبرد پربازده، انجام ارزیابی اولیه ژنتیکی برای محدود کردن دامنه جغرافیایی بررسی تنوع درون گونه‌ای است. پس از ارزیابی تنوع ژنتیکی، راهبرد نمونه‌برداری کارآیی بیشتری خواهد داشت و محدوده‌ای از پایه‌ها اگر منطقی باشد جمع‌آوری خواهد شد. استفاده از این موضوع در این تحقیق از آن جهت اهمیت دارد که اغلب درختان مجاور به دلیل تکثیر غیرجنسی (ریشه‌جوش) دارای ساختار ژنومی یکسانی هستند و نمونه‌برداری از آنها برای ارزیابی‌های ژنتیکی باعث حصول نتایج یکسان و بیانگر عدم تنوع خواهد بود. بنابراین در مرحله جمع‌آوری کلن‌ها باید فاصله معقولی بین توده‌ها وجود داشته باشد، مگر آنکه تفاوت‌های بارز مورفولوژیکی ما را ناگزیر به انتخاب پایه‌های مجاور هم نماید. مدیریت ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی گونه‌های مختلف جنگلهای زاگرس از جمله بنه، نیازمند آگاهی از میزان و پراکنش تنوع ژنتیکی و شناسایی مراکز تنوع این گونه به‌منظور حفاظت از آنها به‌عنوان ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی است (Zolfaghari et al, 2009). بر همین اساس Shah-Ghobadi و همکاران (۲۰۱۸) با استفاده از نشانگرهای مولکولی ریزماهوره به شکل موفقیت‌آمیزی تنوع

ژنتیکی درختان بنه را ارزیابی کردند.

Imbert و Lefevre (۲۰۰۳) نشانگرهای ژنتیکی را برای بررسی جریان ژن گونه *P. nigra* به عنوان یک گونه پیشاهنگ حاشیه رودخانه‌ای در طول رودخانه Drome در فرانسه مطالعه کردند. با توجه به سازوکار پراکنش گرده توسط باد و پراکنش بذر توسط باد و آب، فرض کردند که یک فاصله حدافلی برای ترکیب درون گونه‌ای بین کلن‌ها وجود دارد و از آن فاصله به بعد امکان تلقیح طبیعی و یا انتقال بذر میسر نیست. Villar و همکاران (۱۹۹۵) فراموش شدن تدریجی نیمی از ذخایر توارثی صنوبرهای فرانسه را موجب به وجود آمدن پایه ژنتیکی باریک و در نتیجه خطرپذیری بالا در حفظ سلامتی درختان گزارش کردند.

در برنامه‌های اصلاحی جمعیت‌هایی که به لحاظ ژنتیکی از هم تفکیک شده‌اند، معمولاً انتخاب سازگارترین گونه، از طریق انتخاب منابع مقاوم از جمعیت‌های وحشی انجام می‌شود. در درون گونه سفیدپلت ارقام و پایه‌های مناسبی وجود دارند که برخی از آنها در تحقیقات گذشته به‌ویژه برای سفیدپلت برتری خود را نشان دادند و حفظ و گسترش آنها لازم است (Asadi et al., 2016). این امر ضرورت بررسی توأم تنوع ژنتیکی و احداث کلکسیون را توجیه می‌کند. از این رو پس از انتخاب پایه‌های متنوع در این تحقیق، نسبت به احداث کلکسیون به‌منظور تضمین حفظ ژرم‌پلاسما برای نسل آینده و افزایش اساس ژنتیکی و برون‌آمیزی آنها در یک محیط ثابت اقدام می‌شود.

## مواد و روش‌ها

خصوصیات رویشگاه و نمونه‌ها

ابتدا ۲۰ رویشگاه سفیدپلت در شمال کشور شناسایی شدند (جدول ۱). نمونه‌های برگ از ۳۱۴ فرد از آنها جمع‌آوری شد. فاصله تقریبی ۵۰ متری (Zhu et al., 2016) بین پایه‌های انتخابی در نظر گرفته شد. طول و عرض جغرافیایی و ارتفاع از سطح دریا هر منطقه با استفاده از GPS ثبت شد. نمونه‌های برگ

بلافاصله درون سیلیکاژل بلو قرار داده شدند و به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند. از هر یک از درختان ۵ تا ۱۰ قلمه تهیه شد و به نهالستان ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع چمستان منتقل و کاشته شدند تا پس از انتخاب ژنوتیپ‌های مجزا حاصل از بررسی‌های مولکولی، نهال‌های تولید شده آنها به عرصه کلکسیون منتقل شود.

DNA ژنومی از بافت برگ درختان بر اساس دستورالعمل (Dumolin et al., 1995) استخراج شد. کمیت و کیفیت DNA با دستگاه نانودراپ اسپکتروفوتومتر و ژل آگارز تعیین شد. نشانگرهای ریزماهواره ژنومی برای غربال تنوع ژنتیکی بر اساس سطح چندشکلی آنها در صنوبرها (Smulders et al., 2001; Tuskan et al., 2004; Wu et al., 2008) انتخاب شدند. پس از مرحله آزمایش اولیه با ۲۵ مکان ژنی ریزماهواره، تعداد ۱۴ آغازگر (Primer) بر اساس تولید الگوی تکثیر و باندهای شفاف و سطح چندشکلی مکان ژنی مورد نظر (ORPM شماره‌های ۲۸، ۳۰، ۳۱۲، ۲۱۴، ۱۹۰، ۱۴۹ و ۱۶۷، Pe شماره‌های ۷، ۹ و ۱۶، WPMS شماره‌های ۵، ۱۰، ۱۲ و ۱۵) انتخاب شدند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل بافر (1 x PCR reaction buffer)، ۶۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۳ میلی‌مولار کلرید منیزیم (MgCl<sub>2</sub>)، ۰/۵ میلی‌مولار از داکسی نوکلئوتید تری فسفات‌ها (dNTPs)، ۰/۰۷ میکرومولار از هر یک از آغازگرها و ۲/۵ واحد از آنزیم تک DNA پلیمرز (VivaTaq polymerase (Novazym)) انجام شد. چرخه دمایی واکنش‌ها با دستورالعمل زیر انجام شد.

واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ چرخه حرارتی شامل واسرشت‌سازی در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۴۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک و نیم دقیقه و بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و پس از ۳۵ چرخه سرانجام به مدت ۱۰ دقیقه نمونه‌ها در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بسط نهایی شدند.

جدول ۱- مشخصات منطقه نمونه برداری سفیدپلت، نام جمعیت و علامت اختصاری آن

ارتفاع از سطح دریا (به متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	علامت اختصاری	تعداد نمونه	جمعیت	منطقه
۶۹	۴۹/۱۰۹	۳۷/۵۳۲	RE	۱۶	رضوان شهر	غرب
۲۲۵	۴۹/۶۰۰	۳۷/۱۳۸	RS	۱۸	رشت	
-۹	۴۹/۹۶۳	۳۷/۳۴۲	AS	۲۲	آستانه اشرفیه	
۵۶	۵۰/۰۳۸	۳۷/۲۰۲	LH	۱۸	لاهیجان	
-۱۹	۵۰/۱۷۲	۳۷/۱۷۶	LN	۲۰	لنگرود	
-۲۳	۵۰/۲۹۸	۳۷/۱۲۸	RO	۱۸	رودسر	
-۲۱	۵۰/۵۷۷	۳۶/۹۷۲	CH	۱۵	چابکسر	
۱۷	۵۰/۶۶۷	۳۶/۸۹۴	RM	۲۰	رامسر	
-۱۱	۵۰/۸۷۷	۳۶/۸۰۹	TO	۱۵	تنکابن	
۴	۵۲/۰۶۲	۳۶/۵۶۲	NO	۲۰	نور	
۲۴۶	۵۲/۳۴۹	۳۶/۳۸۶	AM	۱۷	آمل	
۲	۵۲/۹۷۶	۳۶/۵۷۲	JO	۱۶	جویبار	
۱۲۸	۵۳/۰۶۱	۳۶/۵۰۰	SA	۱۶	ساری	
۸۶	۵۳/۳۵۵	۳۶/۶۲۸	NE	۲۰	نکا	
۸۲	۵۳/۵۶۹	۳۶/۶۸۳	BE	۱۷	بهشهر	
۲۰۶	۵۴/۱۲۹	۳۶/۴۷۶	KO	۱۵	کردکوی	شرق
۲۷۳	۵۵/۱۴۴	۳۷/۰۰۱	RA	۲۰	رامیان	
۲۰۳	۵۵/۳۹۶	۳۷/۲۲۹	MI	۲۰	مینودشت	
۲۶۲	۵۵/۴۶۴	۳۷/۲۵۳	GA	۲۱	گالیکش	
۴۱۷	۵۵/۶۶۳	۳۷/۳۵۸	LO	۱۶	لوه	

از GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems) انجام شد. به منظور تخمین آماره‌های تنوع ژنتیکی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) و مورد انتظار (He) و ضرایب درون آمیزی

محصول واکنش در ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)، با اندازه داخلی استاندارد GeneScan LIZ-500® ارزیابی شد. سپس نمره‌دهی با استفاده

مطلق نیز ۳۶ درجه سانتی‌گراد و متوسط رطوبت نسبی ۷۸ درصد است.

### نتایج

آنالیز ۱۴ مکان ژنی ریزماهواره در ۳۱۴ فرد سفیدپلت ۸۰ آل را نشان داد. تعداد آل در هر مکان ژنی بین ۲ آل برای پرایمرهای ORMP028، ORMP030 و ORMP190 تا ۱۰ آل در پرایمر WPMS05 متغیر بود (جدول ۲). مقادیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) در هر مکان ژنی از ۰/۰۸۵ برای پرایمرهای ORMP030 و ORMP167 تا ۰/۷۶۵ برای پرایمر WPMS05 و هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) از ۰/۰۶۹ در پرایمر OPMP167 تا ۰/۶۸۹ در پرایمر WPMS05 متغیر بود. در این بررسی بیشترین اندازه PIC، متعلق به جایگاه‌های ژنی WPMS05، ORMP312، Pe9، WPMS10، ORMP149 و WPMS15 به ترتیب با ۰/۷۲۵۶، ۰/۶۷۵۳، ۰/۵۵۷۶، ۰/۵۵۴۱، ۰/۵۴۴۹ و ۰/۵۱۷۳ و کمترین اندازه هم متعلق به جایگاه‌های ژنی ORMP167 و ORMP030 به ترتیب با ۰/۰۸۲۷ و ۰/۰۸۱۶ بود. تجزیه واریانس مولکولی (جدول ۳) نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در سطح آماری ۱ درصدی بین جمعیت‌ها وجود دارد که براساس این اطلاعات، ۸۸ درصد از تنوع مربوط به تنوع درون جمعیت و ۱۲ درصد آن مربوط به تنوع بین جمعیت‌هاست.

(FIS) برای هر جمعیت با استفاده از INEst v. 2.0 (Chybicki, 2016) محاسبه شد. محتوای داده‌های چندریختی (PIC) با نرم‌افزار Microsatellite tools for Excel v.3.57 به دست آمد. برای محاسبه متوسط تعداد آل‌ها (A)، تعداد آل‌های مؤثر (Ae) و تعداد آل‌های اختصاصی (Ap) و تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) از GENEALEX 6.501 استفاده شد (Peakall and Smouse, 2012). فرضیه اثر تنگنا (Bottleneck) با رویکرد نسبت M (M-ratio approach) نیز در INEst ارزیابی شد. غنای آلی (Ar) با استفاده از نرم‌افزار FSTAT نسخه 2.9.3 (QGIS Development Team, 2012) محاسبه شد. از نرم‌افزار CIRCUIscape و BAYESASS برای سنجش میزان اهمیت ارتفاع و فاصله فیزیکی به عنوان موانع بالقوه جریان ژن بین جمعیت‌های مورد مطالعه استفاده شد. پس از حصول نتایج مطالعه مولکولی، از پایه‌های منتخب قلمه تهیه شد و در نهالستان ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع چمستان نگهداری و نهال‌های تولید شده در قالب طرح آزمایشی تکراردار در محل کلکسیون دائمی این دو گونه کاشته شدند. عملیات نگهداری شامل آبیاری و وجین علف‌های هرز در زمان‌های لازم در طول فصل رشد انجام شد. ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع چمستان نور با مساحت ۳۸۰ هکتار در عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۰۴ دقیقه شرقی با ارتفاع ۷۰ متر از سطح دریا قرار دارد. متوسط درجه حرارت سالانه ۸/۱۵ درجه سانتی‌گراد، متوسط بارندگی ۸۴۰ میلی‌متر، حداقل مطلق ۵۰/۸-، حداکثر

جدول ۲- شاخص‌های تنوع ژنتیکی به‌دست‌آمده در جامعه‌های سفیدپلت به‌ازای هر جایگاه ژنی ریزماهواره

میانگین	WPMs15	WPMs12	WPMs05	WPMs10	Pe 16	Pe 7	Pe 9	ORMP149	ORMP167	ORMP190	ORMP214	ORMP312	ORMP030	ORMP028	آغازگر
۵/۷۱۴	۸	۹	۱۰	۷	۵	۷	۷	۷	۲	۲	۵	۶	۲	۲	N
۳/۱۳	۳/۵۵	۳/۸۰	۵/۰۵	۳/۲۵	۲/۱۵	۲/۷۵	۴/۷۵	۳/۹۵	۱/۷۰	۱/۶۰	۳/۱۰	۴/۷۵	۱/۵۰	۱/۹۵	A
۰/۰۳۶	۰/۰۳۱	۰/۰۱۵	۰/۰۴۰	۰/۰۵۶	۰/۰۴۴	۰/۰۲۷	۰/۰۷۳	۰/۰۵۶	۰/۰۲۴	۰/۰۲۸	۰/۰۳۸	۰/۰۳۷	۰/۰۱۷	۰/۰۲۲	Null
۰/۳۵۰	۰/۳۷۱	۰/۵۰۲	۰/۶۸۹	۰/۴۶۳	۰/۱۷۹	۰/۲۵۹	۰/۴۱۲	۰/۴۷۷	۰/۰۶۹	۰/۰۷۵	۰/۴۵۶	۰/۶۳۴	۰/۰۷۰	۰/۲۴۸	H <sub>0</sub>
۰/۴۲۷	۰/۵۶۸	۰/۵۱۶	۰/۷۶۵	۰/۶۲۶	۰/۲۱۶	۰/۳۰۲	۰/۵۸۱	۰/۵۸۷	۰/۰۸۵	۰/۱۲۰	۰/۵۱۸	۰/۷۱۵	۰/۰۸۵	۰/۲۹۸	H <sub>c</sub>
۰/۳۹۵۸	۰/۵۱۷۳	۰/۴۷۹۲	۰/۷۲۵۶	۰/۵۵۴۱	۰/۲۰۱۲	۰/۲۸۹۹	۰/۵۵۷۶	۰/۵۴۴۹	۰/۰۸۲۷	۰/۱۱۲۵	۰/۴۶۶۴	۰/۶۷۵۳	۰/۰۸۱۶	۰/۲۵۳	PIC

N- تعداد آلل‌های مشاهده شده، A- تعداد متوسط آلل‌های هر مکان ژنی، Null- فراوانی آلل‌های Null، Ho- هتروزیگوسیتی مشاهده شده، He- هتروزیگوسیتی مورد انتظار، PIC- چندریختی

جدول ۳- تجزیه واریانس مولکولی جمعیت‌های سفیدپلت

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درصد واریانس	سطح معنی‌داری
بین جمعیت‌ها	۱۹	۱۲۴/۴۵۴	۶/۵۵۰	۱۲	۰/۰۱
درون جمعیت‌ها	۲۹۴	۶۲۱/۳۱۷	۲/۱۱۳	۸۸	
جمع کل	۳۱۳	۷۴۵/۷۷۱		۱۰۰	

جدول ۴- معیارهای تنوع ژنتیکی برآورد شده برای هر جمعیت

نسبت M (M-Ratio)	شاخص درون آمیزی (F <sub>IS</sub> )	هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)	هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho)	تعداد آلل‌های نول (Null)	تعداد آلل‌های اختصاصی (Ap)	غناي آللی (AR)	تعداد آلل‌های مؤثر (Ae)	متوسط تعداد آلل‌ها (A)	تنوع کلنی (R)	تعداد ژنوتیپ واحد (G)	تعداد کل افراد	کد	جمعیت
۰/۲۵۶	b۰/۰۳۷۲	۰/۳۵۱	۰/۳۰۱	۰/۰۶۲	۰	۲/۳۷۷	۱/۷۱۲	۲/۶۴۳	۰/۸۰	۱۳	۱۶	RE	رضوان شهر
۰/۰۰۱*	b۰/۰۶۲۱	۰/۳۹۰	۰/۳۴۶	۰/۰۴۸	۰	۲/۴۵۷	۱/۸۲۲	۲/۷۱۴	۰/۷۱	۱۳	۱۸	RS	رشت
۰/۵۰۵	b۰/۰۵۱۴	۰/۴۱۸	۰/۳۸۲	۰/۰۴۶	۱	۲/۸۹۲	۲/۰۰۹	۳/۷۱۴	۱	۲۲	۲۲	AS	آستانه
۰/۰۴۶*	a۰/۰۶۳۷	۰/۴۱۴	۰/۴۱۴	۰/۰۱۹	۰	۲/۷۱۶	۲/۰۴۱	۳/۲۱۴	۰/۸۲	۱۵	۱۸	LH	لاهیجان
۰/۱۱۱	b۰/۰۳۷۱	۰/۴۰۲	۰/۴۰۳	۰/۰۳۳	۱	۲/۶۷۸	۱/۹۵۷	۳/۱۴۳	۰/۸۴	۱۷	۲۰	LN	لنگرود
۰/۰۴۷*	b۰/۰۲۲۶	۰/۳۷۷	۰/۳۷۹	۰/۰۱۲	۰	۲/۵۳۹	۱/۸۴۶	۲/۷۸۶	۰/۸۲	۱۵	۱۸	RO	رودسر
۰/۱۲۲	b۰/۰۴۶۳	۰/۲۷۸	۰/۲۷۰	۰/۰۱۳	۰	۲/۲۱۳	۱/۴۸۳	۲/۲۸۶	۰/۵۰	۸	۱۵	CH	چابکسر
۰/۰۲۷*	b۰/۰۱۷۶	۰/۳۴۵	۰/۳۸۳	۰/۰۰۹	۱	۲/۴۸۷	۱/۸۳۳	۲/۸۵۷	۰/۶۸	۱۴	۲۰	RM	رامسر
۰/۵۴۹	b۰/۰۶۲۶	۰/۳۱۹	۰/۳۰۰	۰/۰۴۲	۰	۲/۱۷۴	۱/۶۶۳	۲/۲۸۶	۰/۶۴	۱۰	۱۵	TO	تنکابن
۰/۱۸۲	a۰/۰۵۰۰	۰/۳۸۴	۰/۳۴۵	۰/۰۳۶	۱	۲/۹۱۰	۱/۸۷۲	۳/۸۵۷	۰/۸۴	۱۷	۲۰	NO	نور
۰/۰۹۷	b۰/۰۵۲۶	۰/۴۰۴	۰/۳۷۹	۰/۰۱۹	۰	۲/۹۲۲	۱/۹۷۹	۳/۳۵۷	۰/۷۵	۱۳	۱۷	AM	آمل
۰/۰۳۰*	a۰/۰۵۰۵	۰/۳۷۰	۰/۳۲۷	۰/۰۳۲	۰	۲/۸۴۵	۱/۸۵۵	۳/۳۵۷	۰/۹۳	۱۴	۱۶	JO	جویبار
۰/۰۳۵*	a۰/۰۴۴۹	۰/۳۶۰	۰/۳۵۷	۰/۰۲۹	۱	۲/۴۶۶	۱/۸۳۵	۲/۷۱۴	۰/۹۳	۱۵	۱۶	SA	ساری
۰/۱۷۲	a۰/۰۷۵۸	۰/۴۱۰	۰/۳۶۸	۰/۰۳۵	۰	۲/۹۹۷	۲/۱۲۶	۴	۱	۲۰	۲۰	NE	نکا
۰/۰۴۷*	b۰/۰۶۰۸	۰/۴۲۹	۰/۳۴۴	۰/۰۶۲	۰	۲/۷۹۷	۲/۱۹۴	۳/۰۷۱	۰/۹۴	۱۶	۱۷	BE	بهشهر
۰/۲۳۸	a۰/۱۴۲۲	۰/۳۸۲	۰/۳۱۰	۰/۰۶۲	۰	۲/۷۱۲	۱/۸۱۱	۳/۲۱۴	۱	۱۵	۱۵	KO	کردکوی
۰/۰۳۲*	b۰/۰۸۵۳	۰/۳۰۳	۰/۲۶۴	۰/۰۲۱	۱	۲/۳۲۰	۱/۶۱۰	۳/۰۷۱	۱	۲۰	۲۰	RA	رامیان
۰/۱۱۱	b۰/۰۵۹۴	۰/۴۱۱	۰/۳۴۱	۰/۰۵۳	۰	۲/۶۸۹	۱/۹۳۸	۳/۴۲۹	۱	۲۰	۲۰	MI	مینودشت
۰/۱۲۴	a۰/۱۰۹۹	۰/۴۰۶	۰/۳۴۷	۰/۰۵۰	۰	۲/۶۶۰	۱/۹۵۳	۳/۳۵۷	۱	۲۱	۲۱	GA	گالیکش
۰/۰۲۴*	b۰/۰۳۸۷	۰/۴۵۶	۰/۴۰۲	۰/۰۴۱	۰	۳/۰۲۸	۲/۲۵۲	۳/۵۷۱	۱	۱۶	۱۶	LO	لوه
	۰/۰۵۹	۰/۳۸۰	۰/۳۴۸	۰/۰۳۶		۲/۶۴۴	۱/۸۸۹	۳/۱۳۲					میانگین

الگوهای مکانی هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) و غنای آلی (Ar) در شکل ۱ تفاوت‌های میان جمعیت‌های سفیدپلت مستقر در نواحی غربی، مرکزی و شرقی هیرکانی را نشان می‌دهد. ضریب درون‌آمیزی (F<sub>IS</sub>) از ۰/۰۲ تا ۰/۱۱ و بر اساس معیار DIC در ۷ جمعیت لنگرود، چابکسر، نور، جویبار، سلری، نکا و بهشهر درون‌آمیزی عامل احتمالی انحراف از تعادل هاردی - واینبرگ بود (جدول ۴).

کمترین تمایز ژنتیکی بین رامسر و لنگرود (۰/۰۱۸) و بیشترین بین چابکسر و آمل (۰/۲۲۴) بوده است. نتایج نسبت مهاجرت در شکل ۱ نشان داده شده است. سهم متوسط مهاجرت کم ۰/۰۰۸ - بود که مطرح کننده این است که فقط ۰/۸ درصد افراد در یک جمعیت مهاجر هستند. در برخی جمعیت‌ها نسبت مهاجرت در سطوح بالاتری دیده شد مانند جمعیت رامسر (۰/۰۶۲)، چابکسر (۰/۰۴۰)، گالیکش و رامیان (۰/۰۳۱). به‌طور کلی جریان ژن نامتقارن و شدت آن بین جمعیت‌های غربی و شرقی جنگل هیرکانی کم بود. آزمون Mantel نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین فاصله ژنتیکی و فاصله جغرافیایی ( $r = -0.0468$ ) و  $P = 0.6670$  در سفیدپلت وجود ندارد. در حالی که با آنالیز CIRCUTSPACE، ارتفاع از سطح دریا مانعی برای وقوع جریان ژن ( $r = 0.1579, P = 0.0430$ ) در سراسر دامنه شرقی و غربی گسترش این گونه محسوب می‌شود.

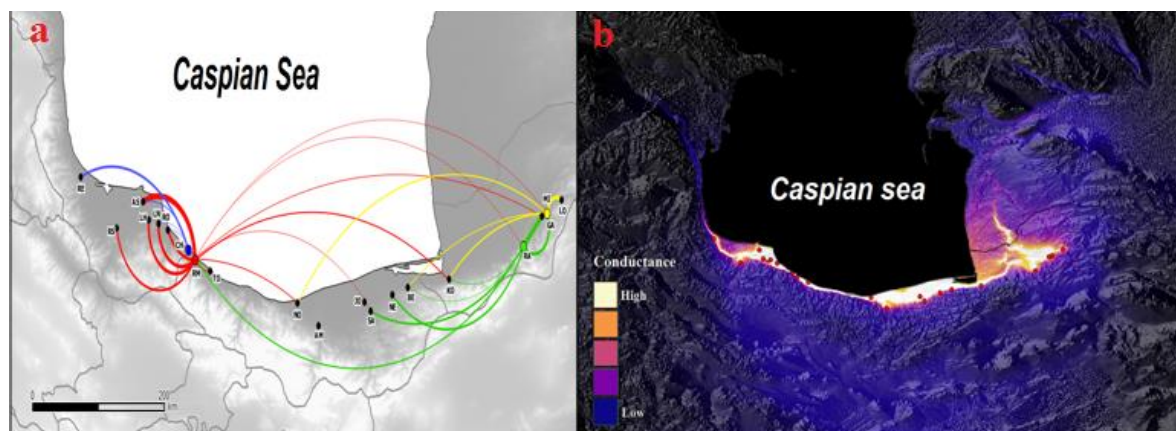
#### احداث کلکسیون سفیدپلت

از تعداد ۲۴ پایه درخت منتخب سفیدپلت در ۲۴ جمعیت مجزا قلمه تهیه شد و نهال‌های حاصل از آنها در قالب یک طرح آزمایشی تکراردار در ایستگاه تحقیقات جنگل و مرتع چمستان کاشته شد.

بیشترین و کمترین فراوانی آلل‌های نول به ترتیب در آغاز گره‌های Pe9 (۷/۳٪) و WPMS12 (۱/۵٪) بود. میانگین فراوانی آلل نول برای کلیه جمعیت‌های مورد بررسی برابر ۳/۶ درصد بود (جدول ۴). به دلیل فراوانی تکثیر غیرجنسی و وجود پاجوش‌های فراوان منشعب از یک درخت در محیط اطراف آن و به منظور افزایش تخمین تنوع ژنتیکی در کل جمعیت‌ها، فاصله مناسب بین درختان در نظر گرفته شد تا از نمونه‌گیری پایه‌های مشابه (کلن) اجتناب شود. این راهبرد منجر به چشم‌پوشی از گروه‌های کوچک کلونال می‌شود. با این حال، گروه‌های کلون بزرگتر در بیشتر جمعیت‌ها مشاهده شدند. کمترین تنوع کلونال ( $R = 0.05$ ) در جمعیت چابکسر (CH) دیده شد که در آن هشت ژنوتیپ منحصر به فرد در بین ۱۵ نفر مشاهده شد و بالاترین مقادیر در AS, NE, KO, RAMI, GA و ( $R = 1$ ) شناسایی شد. شکل ۱ تنوع ژنتیکی جمعیت‌های مختلف سفیدپلت را نشان می‌دهد.

تنوع ژنتیکی برآورد شده برای هر جمعیت در جدول ۴ آمده است. تنوع ژن (He) از ۰/۲۷۸ برای چابکسر تا ۰/۴۵۶ در لوه متغیر بود، در حالی که هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H<sub>o</sub>) بین ۰/۲۶۴ در رامسر تا ۰/۴۱۴ در لاهیجان در نوسان بود. متوسط تعداد آلل در هر جمعیت (A)، ۳/۱۳۲ بود که از ۲/۲۸۴ در چابکسر و تنکابن تا ۴ در نکا متغیر بود. بیشترین مقادیر غنای آلی (AR) در لوه برابر ۳/۰۳ بود، در حالی که کمترین مقدار غنای آلی در تنکابن برابر ۲/۱۷ برآورد شد. آلل‌های اختصاصی در ۶ جمعیت آستانه اشرفیه، لنگرود، رامسر، نور، ساری و رامیان دیده شد. بر اساس M-ratio، ۹ جمعیت رامسر، لنگرود، رودسر، رامسر، جویبار، ساری، بهشهر، رامیان و لوه کاهش قابل توجهی در اندازه جمعیت مؤثر نشان دادند که بیانگر تنگنای ژنتیکی است (جدول ۴).





شکل ۱- (a) مسیر جریان ژنی محاسبه شده توسط نرم‌افزار BAYESASS بین جمعیت‌های سفیدپلت

خط‌های عرضی ضخیم‌تر بالاترین مسیر جریان ژنی بین جمعیت‌ها را نشان می‌دهد، در حالی که خط‌های نازک‌تر نشان‌دهنده سطح پایین مهاجرت است. هر رنگ نشان‌دهنده یک جمعیت هدف است. RM (نقطه قرمز)، RA (نقطه سبز) و GA (نقطه زرد) اهداف هستند. شکل (b) نتایج حاصل از CIRCUITSCAPE است و به ترتیب بیشترین و کمترین رسانایی را در رنگ سفید و سیاه نشان داد. لکه‌های سفید نشان‌دهنده الگوی احتمالی جریان ژن و نقاط قرمز جمعیت‌های مورد مطالعه هستند.

## بحث

پسروی ژنتیکی گزارش شده در این گونه که احتمالاً بیشتر به دلیل قطعه‌قطعه شدن ناشی از فعالیت انسان و کاهش جمعیت این درختان است، در کمبود هتروزیگوت‌ها نیز مشاهده می‌شود که در برخی از توده‌ها به دلیل درون‌آمیزی والدین ایجاد شده است. برخی از جمعیت‌های مورد مطالعه، اثر تنگناها را نمایان کردند که جمعیت را به سمت از بین رفتن تنوع سوق می‌دهند و حتی ممکن است به انقراض کمک کنند. اینکه آیا کاهش تنوع سفیدپلت با فشار انسانی ارتباط دارد یا بیشتر به وقایع آب و هوایی باستانی‌تر مربوط است به آخرین دوره یخبندان مرتبط می‌شود و کاملاً مشخص نیست. البته قابل توجه است که غلبه تکثیر غیرجنسی در زادآوری یک گونه می‌تواند یکی از عوامل اساسی در کاهش تنوع ژنتیکی محسوب شود (Dering et al., 2017). در مطالعات مولکولی بر توده‌های صنوبر کرمانشاه، Alimohammadi و همکاران (۲۰۱۲) تولیدمثل غیرجنسی (تکثیر توسط قلمه) را عامل از دست رفتن تنوع ژنتیکی معرفی کردند. اگرچه تلاش ما در توزیع مناسب نمونه‌ها بود، اما گاهی در مسافت‌های نزدیک ۱۰۰ متر هم کلن‌های مشابه رؤیت شد.

تعیین تنوع ژنتیکی و حفظ گونه‌های بومی در پناهگاه‌های اقلیمی از اولویت بالایی برخوردار است (IUCN, 2019; Sagheb-Talebi et al., 2013). در این تحقیق سطح پایین تری از تنوع ژنتیکی برای سفیدپلت ( $H_e = 0.38$ ) در مقایسه با جمعیت‌های طبیعی گونه مشابه آن یعنی *P. alba* در اروپا (Dering et al., 2015) ( $H_e = 0.622$ ) شناسایی شد. جمعیت‌های کوچک، جدا شده و پراکنده به دلیل رانش ژنتیکی تصادفی و درون‌آمیزی از کاهش تنوع ژنتیکی رنج می‌برند (Eckert et al., 1993; Ellstrand and Elam, 2008). به احتمال زیاد، همه اینها به‌طور همزمان بر جمعیت طبیعی فعلی سفیدپلت که دارای توزیع بسیار پراکنده در شمال هستند، اثر می‌گذارند. بیشتر جمعیت‌های مورد مطالعه در مناطق پرجمعیت و صنعتی ساحل دریای خزر واقع شده‌اند که مانع اتصال ژنتیکی می‌شوند. فعالیت‌های گسترده بشر در قرون گذشته آشفته‌گی‌های شدید ناشی از جایگزینی زراعت را به‌ویژه برنج به‌جای گونه‌های جنگلی موجب شده است (Leroy et al., 2011).

محیطی مانند کوه‌ها و مناطقی که توسط فعالیت انسان تغییر می‌کنند مرتبط کرد. چنین مناطقی به‌عنوان موانعی در برابر جریان ژن عمل می‌کنند که می‌توانند از اثر رانش ژنتیکی جلوگیری کنند. نتایج Circuitspace، ارتفاع را یک عامل محدود کننده در جریان ژن شناسایی کرد. مناطقی که بالاترین قابلیت جریان ژنی را دارند، نواری را در دامنه‌های شمالی کوه‌های البرز مرکزی در امتداد ساحل دریای خزر تشکیل می‌دهند. باریک‌ترین راهرو در قسمت مرکزی بین جمعیت تنکابن و نور وجود دارد. وقتی فاصله بین ساحل و کوه‌ها به‌ویژه در مناطق مرکزی هیرکانی کم می‌شود، شهرنشینی گسترش می‌یابد. دقیقاً در آنجا مرز بین خوشه‌های غربی و شرقی وجود دارد. گونه‌های در معرض تهدید با تنوع ژنتیکی کم مانند سفیدپلت که در زیستگاه‌های در معرض خطر واقع شده‌اند، احتمالاً آسیب‌پذیری بیشتری به تغییرات اقلیم نشان می‌دهند. از دست رفتن زیستگاه‌ها به‌وسیله فعالیت‌های مخرب انسان دلیل مضاعفی در تهدید عمده به منابع ژنتیکی سفیدپلت است که می‌تواند بر ظرفیت مهاجرت و توزیع الگوهای طبیعی جریان ژن اثر منفی بگذارد. جنگل‌های هیرکانی به‌عنوان مهمترین منطقه پناهگاهی (Leroy and Arpe, 2007) از گونه‌های بومی در معرض خطر مانند سفیدپلت حمایت می‌کند (Saghebalebi et al., 2013). از این رو ما توصیه می‌کنیم که علاوه بر احداث کلکسیون سفیدپلت، حفاظت جمعیت‌های این گونه در درون رویشگاه خودشان باید با اولویت حفظ منابع ژنتیکی سفیدپلت در مقابل تغییرات اقلیمی و فعالیت‌های مخرب انسان باشد.

#### سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت صندوق حمایت از پژوهشگران کشور (با شماره ثبت پروژه ۹۷۰۰۲۲۶۷) انجام شده است. به این وسیله سپاسگزاری خود را اعلام می‌داریم.

کمترین تنوع کلونال در چابکسر ( $R = 0.50$ ) گزارش شد که در آن تنها هشت ژنوتیپ منحصر به فرد برای ۱۵ فرد مشاهده شد. در این جمعیت و جمعیت‌های رامسر و تنکابن، با میزان قابل توجهی از تولید مثل غیرجنسی (ریشه‌جوش و پاچوش)، مقادیر کمتری از تنوع آلی و ژنتیکی مشاهده شد. به‌طور کلی قسمت شرقی هیرکانی تنوع ژنتیکی و آلی را در سطح بالاتر نگه داشته است. این نتیجه را می‌توان به تأثیر کمتر انسان بر جمعیت سفیدپلت واقع در بخش مرکزی و شرقی محدوده یا به عوامل اقلیمی و ادافیکی نسبت داد. نتایج مشابه در مورد گونه لُرک در منطقه قفقاز گزارش شده که در آن شیب تنوع ژنتیکی از پایین به بالا بیشتر شده است (Maharramova et al., 2018). جریان ژن که به‌طور کلی به نفع تنوع ژنتیکی کار می‌کند، در قسمت غربی و شرقی دامنه دارای الگوهای متضادی است. بنابراین به نظر می‌رسد، تنها جمعیت رامسر در بخش غربی مهمترین گیرنده مهاجران از مناطق اطراف است که یک جمعیت منفرد در منطقه می‌باشد.

صنوبرها به دلیل دوپایه و آنوفیل بودن اساساً دارای جریان ژن بالا هستند (Dering et al., 2015; Zhu et al., 2016). با این حال، وقتی مجزا شدن توده‌ها بیش از مسافت امکان‌گرفته‌افشانی شود، این جریان ژن تضعیف خواهد شد. محدودیت جریان ژن ممکن است به دلیل کاهش جریان ژن و به دلیل بذر هم باشد که اخیراً نشان داده شده است که حتی نقش مهمتری نسبت به جریان ژن به دلیل گرده ایفا می‌کند (Chybicki and Oleksa, 2018). از این رو نه تنها مسافتی که بین بقایای سفیدپلت به دلیل تکه‌تکه شدن زیستگاه‌ها بوجود آمده، بلکه فقدان زیستگاه‌های مناسب برای احیای بذرهای مهاجرت کرده (Asadi et al, 2016)، ممکن است عامل جدایی زیاد در سفیدپلت باشد. ناهمگنی محیط (کوه‌ها، تبدیل مناطق به مزارع زراعی) جریان ژن را مختل می‌کند و نتایج این پژوهش نشان داد که جریان ژن در گونه سفیدپلت حتی بین جمعیت‌های نزدیک به هم می‌خورد. بنابراین می‌توان آن را با الگوهای

of *Populus nigra* (Salicaceae) along a dynamic system. *Journal of Ecology*, 91: 447-456

- IUCN. 2019. Antelope Specialist Group of 2016. *Connochaetes taurinus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e. T5229A50185086. Gland, Switzerland.
- Jiang, D., Wu, G., Mao, K., Feng, J. 2015. Structure of genetic diversity in marginal populations of black poplar (*Populus nigra* L.). *Biochem. Syst. Ecol.* 61, 297-302.
- Leroy, S.A., Arpe, K. 2007. Glacial refugia for summer-green trees in Europe and south-west Asia as proposed by ECHAM3 time-slice atmospheric model simulations. *Jour. Biogeogr.* 34, 2115-2128.
- Leroy, S.A.G., Lahijani, H.A.K., Djamali, M., Naqinezhad, A., Moghadam, M.V., Arpe, K., Shah-Hosseini, M., Hosseindoust, M., Miller, C.S., Tavakoli, V. 2011. Late Little Ice Age palaeoenvironmental records from the Anzali and Amirkola Lagoons (south Caspian Sea): Vegetation and sea level changes. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 302, 415-434.
- Maharramova, E., Huseynova, I., Kolbaia, S., Gruenstaedl, M., Borsch, T., Muller, L.A. 2018. Phylogeography and population genetics of the riparian relict tree *Pterocarya fraxinifolia* (Juglandaceae) in the South Caucasus. *Syst. Biodivers.* 16, 14-27.
- Nazari, M., Fallah, H. 2016. Identifying indicator plants and their importance for expressing *Populus caspica* habitats in Hyrcanian forests. *Natural Ecosystems of Iran.* 6, (4): 45-56 (In Persian).
- Peakall, R., Smouse, P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research dan update. *Bioinformatics* 28, 2537e2539.
- QGIS Development Team. 2012. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Found. Proj.
- Saghebalebi, K., Sajedi, T., Pourhashemi, M. 2013. *Forests of Iran: A Treasure from the Past, a Hope for the Future*. Springer Science & Business Media. Vancouver, BC, Canada.
- Smulders, M.J.M., Van Der Schoot, J., Arens, P., Vosman, B. 2001. Trinucleotide repeat microsatellite markers for black poplar (*Populus nigra* L.). *Mol. Ecol. Notes* 1, 188-190.
- Szczenińska, M., Sramko, G., Wołosz, K., Sawicki, J. 2016. Genetic diversity and population structure of the rare and endangered plant species *Pulsatilla patens* (L.)

## منابع مورد استفاده

- Alimohammadi, A., Asadi, F., and Aghdaei, R. T. 2012. Genetic diversity in *Populus nigra* Plantations from west of Iran. *Annals of Forest Research.* 56(1): 165-178.
- Asadi, F., Naderi-Shahab, N. A., and Mirzaie-Nodoushan, H. 2005. Identity and genetic diversity of *Populus* species clones using microsatellite marker. *Iranian Journal of Pajouhesh & Sazandegi*, 66: 49-55. (In Persian).
- Asadi, F., Mirzaie-Nodoushan, H., and Mokhtari, J. 2016. Comparison of growth behavior of *Populus caspica* and their progenies. *Journal of Forest and Wood Products.* No 69(4): 713-723.
- Chybicki, I. (2016). INEST 2.0 [Computer Software].
- Chybicki, I.J., Oleksa, A. 2018. Seed and pollen gene dispersal in *Taxus baccata*, a dioecious conifer in the face of strong population fragmentation. *Ann. Bot.* 122, 409-421.
- Castiglione S, Ciatelli A, Lupi R, Patrignani, G., Fossati, T., Brundu, G., Sabatti, M., van Loo, M., and Lexer, C. 2010 Genetic structure and introgression in riparian populations of *Populus alba* L. *Plant Biosyst* 144:656-668.
- Dering, M., Chybicki, I.J., Rączka, G. 2015. Clonality as a driver of spatial genetic structure in populations of clonal tree species. *J. Plant Res.* 128, 731-745.
- Dering, M., Latalowa, M., Boratynska, K., Kosinski, P., Boratynski, A. 2017. Could clonality contribute to the northern survival of grey alder [*Alnus incana* (L.) Moench] during the Last Glacial Maximum? *Acta Soc. Bot. Pol.* 86 (1).
- Dumolin, S., Demesure, B., Petit, R.J. 1995. Inheritance of chloroplast and mitochondrial genomes in pedunculate oak investigated with an efficient PCR method. *Theor. Appl. Genet.* 91, 1253-1256.
- Eckert, C.G., Samis, K.E., Loughheed, S.C. 2008. Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Mol. Ecol.* 17, 1170-1188.
- Ellstrand, N.C., Elam, D.R. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24, 217-242.
- Fallah, H., Tabari, M., Azadfar, D., Jalali, S. 2011. Distribution and ecological features endangered species *Populus caspica* Bornm. in the Hyrcanian forests. *Natural Ecosystems of Iran*, 2 (1): 41-53. (In Persian).
- Imbert, E. and Lefevre, F. 2003. Dispersal and gene flow

- populiculture. Colloque organise 29 et 30 mars 1995, Ecole superieure du Bois, Nantes, France. Comptes Rendus de l'Academie-d'Agriculture de France. 81 (3): 137-152;
- Wu, Y., Wang, J., Liu, J. 2008. Development and characterization of microsatellite markers in *Populus euphratica* (Populaceae). Mol. Ecol. Resour. 8, 1142–1144.
- Zhu, X.H., Cheng, S.P., Liao, T., Kang, X.Y. 2016. Genetic diversity in fragmented populations of *Populus talassica* inferred from microsatellites: Implications for conservation. Genet Mol Res 15, 27899.
- Zolfaghari, R., Akbarinia, M., Mardi, M. and Ghanati, F. 2009. Genetic diversity in Persian oak (*Quercus branti* Lindl) from Kohkiluyeh and Boyer-Ahmad using SSR. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16:172-181.(In Persian).
- Mill in East Central Europe. PLoS One 11 (3).
- Shah-Ghobadi, H., Shabaniyan, N., Khadivi, A., and Rahmani, M. S. 2018. Analysis of genetic diversity of *Pistacia atlantica* Desf. populations from Zagros forests using ISSR, IRAP and SCoT molecular markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 26 (1): 176-195.(In Persian).
- Tuskan, G.A., Gunter, L.E., Yang, Z.K., Yin, T., Sewell, M.M., DiFazio, S.P. 2004. Characterization of microsatellites revealed by genomic sequencing of *Populus trichocarpa*. Can. J. For. Res. 34, 85–93.
- Villar, M; F, Lefevre., S, Augustin., P, Bonduelle., A, Delplanque., H, Duval., P, Faivre-Rampant., MC, Goue., A, Legionnet., M, Menard., X, Nesme., G, Pilate., J, Pinon., A, Valadon., E, Teissier-du-Cros., ET, Du-Cros. 1995. Genetic improvement of poplar in France: a perspective. Etat et perspectives de la

## Genetic evaluation of *Populus caspica* Bornm. In Iran and construction of a collection for its conservation

F. Asadi<sup>1\*</sup>, S. Alipour<sup>2</sup>, Z. Badehian<sup>3</sup>, H. Yosef-Zadeh<sup>4</sup> and K. Espahbodi<sup>5</sup>

1\*- Corresponding author, Assoc. Prof., Natural Resources Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sari, I.R. Iran., Email: farhadasadi14@yahoo.com

2- PhD graduated, Natural Resources College, University of Lorestan, KhoramAbad, I.R. Iran

3- Assist. Prof., Natural Resources College, University of Lorestan, KhoramAbad, I.R. Iran

4- Assist. Prof., Natural Resources College, Tarbiat Modares University, Noor, I.R. Iran

5- Assoc. Prof., Natural Resources Department, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Sari, I.R. Iran

Received: 04.11.2020

Accepted: 23.01.2021

### Abstract

The destruction of Hyrcanian forests has led to the fragmentation of the Caspian poplar (*Populus caspica* Bornm.) habitat and the destruction of a large part of its genetic resources. This species is distributed in the southern regions of the Caspian Sea, although it has been reported in the list of endangered trees. To select various trees and conserve their gene pools via the collection, their diverse habitats throughout the southern Caspian strip from Astara to Golestan forest were studied, and subsequently, 20 habitats were identified. DNA extraction from the leaves of 359 trees belonging to these habitats was then extracted. After homogeneity removal, genetic parameters were estimated for 314 trees using 14 microsatellite markers. These primers showed 80 alleles in 314 trees of *P. caspica*. Expected heterozygosity values in each locus ranged from 0.085 to 0.765, while the observed heterozygosity ranged from 0.069 to 0.689. The highest and lowest amount of allelic richness with values of 3.03 and 2.17 were estimated in Loveh and Tonekabon, respectively. The inbreeding coefficient was a possible factor in the Hardy-Weinberg equilibrium deviation. Only 0.8% of trees in a population were immigrants. In general, gene flow was asymmetric and its severity was low. Mantel test showed that there was no significant correlation between genetic distance and geographical distance. However, altitude was a serious barrier to gene flow across the eastern and western slopes of the Caspian poplar distribution. Finally, to preserve its genetic resources, based on the results of molecular, some stocks of this species were clonally propagated and planted in a relevant collection.

**Keywords:** Wood production, Conservation, Gene pool, Microsatellite.