دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۷، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۵٤-۱۳۹ (۱۳۸۸)

بررسی تمایز فرم تنه درخت راش توسط نشانگرهای ژنی ایزوآنزیمی

پروین صالحی شانجانی*[۱]، محمدحسن عصاره[۲] و محسن کلاگری[۳]

۱- نویسنده مسئول مکاتبات: استادیارپژوهشی، بانک ژن منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران
پست الکترونیک: psalehi@rifr-ac.ir
۲- دانشیارپژوهشی، گروه زیست فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران
۳- استادیارپژوهشی، گروه تحقیقات صنوبر و درختان سریع‌الرشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۷/۲۷

چکیده

گونه راش (*Fagus orientalis* Lipsky) یکی از درختان مهم جنگل‌های ایران بوده و اهمیت ویژه‌ای به لحاظ اکولوژیکی و اقتصادی دارد. در توده‌های راش، درختانی با مورفولوژی خاص تنه (مثل تنه‌های چنگالی) اغلب به صورت گروهی مشاهده می‌شوند که علت آن انتشار محدود گرده و به ویژه بذر در توده‌های طبیعی و ساختار فامیلی می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش بررسی وجود رابطه بین گوناگونی مورفولوژیکی تنه و تنوع ژنتیکی است. در کل ٦۸ درخت بدفرم (چنگالی) و خوش‌فرم (میانرو) از یک توده راش در جنگلهای خزری ایران با استفاده از الکتروفورز ژل نشاسته ۱٦ لوکوس آنزیمی مطالعه گردید. مقایسه عاملهای تنوع ژنتیکی بین درختان بدفرم و خوش‌فرم تفاوت مهمی از نظر میانگین تعداد آلل در لوکوس، تعداد آلل با فراوانی ≤۹۵٪ در لوکوس، تعداد مؤثر آلل، اندیکس شانون، هتروزیگوزیتی مورد انتظار را نشان نداد. با این وجود، در گروه درختان بدفرم آلل خصوصی مشاهده گردید که برای فرایندهای سازگاری آینده اهمیت دارد. همان‌گونه که انتظار می‌رفت، میزان دگرلقاحی برای تمام درختان بررسی شده بالا بود. نبودن تمایز ژنتیکی آشکار بین گروهای بدفرم و خوش‌فرم درختان راش نشان می‌دهد که کاربرد نتایج مارکرهای آنزیمی در تمایز ویژگیهای سازگاری بایستی با احتیاط دنبال شود. مشاهده آلل خصوصی در گروه درختان بدفرم ما را به ادامه تحقیق بر روی این موضوع با سایر مارکرها ترغیب می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، جنگل‌های خزری، چنگالی شدن، راش، مارکرهای آنزیمی.

مقدمه

اصطلاح "چنگال" در یک درخت، به محوری اطلاق می‌شود که به دو یا چند محور هم‌اندازه تقسیم شده و این چند محور با هم زاویه‌های حاده ایجاد کنند. چنگالها روی تنه یا روی شاخه‌ها در زمانهای مختلفی از زندگی یک درخت می‌توانند تشکیل شوند. ایجاد چنگال بر روی تنه نقصی است که باعث بدفرم‌شدن درخت شده و طول تنه را کاهش می‌دهد (Drénou, 2000).

از آنجایی‌که در توده‌های راش، درختانی با مورفولوژی خاص تنه (مثل تنه‌های چنگالی) اغلب به صورت گروهی

مشاهده می‌شوند بنظر می‌رسد ویژگی بدفرم شدن توارثی باشد. شناخت پدیده چنگالی شدن در راش و وراثت‌پذیری آن در هر دو توده‌های مصنوعی و طبیعی اهمیت داشته و مطالعه ژنتیکی بودن چنگالی شدن در توده‌های طبیعی از آن جهت مهم است که می‌تواند بر روی مدیریت و عملیات پرورشی توده‌های طبیعی تأثیر بگذارد.

چنگالی شدن از مباحث بسیار بحث‌برانگیز و مهمی است که نیازمند مطالعه کاوشگرانه است. پیدایش پدیده چنگالی شدن متأثر از عوامل بسیاری است که می‌توان به ویژگیهای خود گونه، مدیریت ناصحیح و تغییرات ناگهانی در محیط پیرامون درخت مثل خشکی‌های شدید، سرماهای حاد یا طوفان و حمله حشرات نسبت داد (Nicolini *et al.*, 2001). مطالعات نشان داده‌اند که بدفرم‌شدن تنه راش ارتباط مستقیمی با توان آسیب‌دیدگی جوانه به یژه در دوره نهالی دارد (Miller, 1953). زمان شکوفایی جوانه از ویژگی‌های فنوتیپی است که رابطه زیادی با سازگاری درخت داشته و توارث‌پذیری بالایی دارد (Billington & Pelham, 1991؛ Howe *et al.*, 2000؛ Wuehlisch *et al.*, 1995؛ Kramer, 2005). نتایج چندین آزمون استانی در راش اروپا نشان داده است که زمان شکوفایی جوانه و بنابراین خطر آسیب سرمازدگی دیررس بهاره بر زنده‌مانی، رشد و از همه مهمتر فرم تنه تأثیر دارد. به طوری که بنظر می‌رسد تأخیر در باز شدن جوانه‌ها عامل حفاظتی خوبی در برابر آسیب ناشی از یخ‌زدگی بهاره دیررس باشد (Jazbec *et al.*, 2007).

کاربرد مارکرهای مولکولی نقش مهمی در بررسی تنوع ژنتیکی موجودات زنده دارد. آلوزیم‌ها اشکال مختلف آنزیمی هستند که به وسیله آلل‌های مختلف یک لوکوس به رمز درآمده و به‌عنوان نشانگرهای ژنتیکی قابل استفاده می‌باشند. بررسی گوناگونی آلوزیمی که ناشی از تغییرات در توالی‌های DNA رمزکننده پروتئین می‌باشد از روش‌های متداول در زیست‌شناسی جوامع گیاهیست (Tanksely, 1983؛ Wendel & Weeden, 1989). کاربرد الکتروفورز ژل نشاسته (Smithies, 1955)، ظاهرسازی هیستوشیمیایی آنزیم‌ها روی ژل (Hunter & Markert, 1957) و مطالعات کلاسیک Harris (۱۹٦٦)، Lewontin و Hubby (۱۹٦٦) تحول عظیمی در شناخت فرایندهای تکامل ایجاد نمود (Wang & Szmidt, 2001). امروزه هنوز هم نشانگرهای ایزوزیمی اغلب یکی از بهترین ابزارها برای پاسخ به سؤالات موجود در ژنتیک حفاظت درختان جنگلی شناخته می‌شوند (Young *et al.*, 2000). برخی پژوهش‌ها با اشاره به رابطه بین گوناگونی فراوانی‌های آللی برخی آنزیمها و شرایط محیطی، به نقش احتمالی سازگاری آن آلل‌ها تأکید می‌کنند (Thièbaut *et al.*, 1982؛ Comps *et al.*, 1990, 1991؛ Gömöry *et al.*, 1992؛ Belleti & Lanteri, 1996). اولین مطالعه در مورد تنوع ژنتیکی پراکسیدازها و گلوتامات اکسالواستات-ترانس‌آمینازها به وسیله Thiébaut و همکاران (۱۹۸۲) بر روی یک گروه از جوامع راش در فرانسه انجام شد. نتایج فوق که حاکی از وجود رابطه بین فراوانی آلوزیم‌های پراکسیداز و دما و رطوبت هوا بود با آزمایش دیگری با جوامع بیشتر توسط Felber و Thiébaut (۱۹۸٤) تأیید شد. Müller-Starck (۱۹۸۵ و ۱۹۸۹) با مطالعه جوامع آسیب‌دیده و ظاهراً سالم راش در آلمان نشان داد که هتروزیگوزسیتی درختان بردبار به تنش، بیشتر از درختان حساس است.

با توجه به نقش آنزیمها در فیزیولوژی و سازگاری گیاه و نیز وجود شواهد بسیار که حاکی از متفاوت بودن پاسخهای آلوزیمی گیاهان مقاوم و حساس به تنشهاست. هدف از

انجام این تحقیق این است که با بررسی تنوع ژنتیکی ۱۰ آنزیم در درختان بدفرم و خوش‌فرم جمعیت خیرود در ارتفاع ۱۲۰۰ متر از سطح دریا، امکان استفاده از نشانگرهای ایزوزیمی ژنی در تمایز فرم درخت مطالعه گردد.

مواد و روشها

نمونه گیاهی از ٦٨ درخت راش شامل ۳۸ درخت خوش‌فرم (تنه بدون انشعاب و میانرو) و ۳۰ درخت بدفرم (۱۰ متر اول تنه دو یا چند شاخه و چنگالی) از ارتفاع ۱۲۰۰ متری از سطح دریا در جنگل خیرودکنار نوشهر جمع‌آوری گردید. استخراج آنزیم از بافت جوانه خواب و بافت پوستی شاخه‌های هر درخت انجام شد و همگناها به وسیله دستگاه الکتروفورز افقی ژل نشاسته ۱۲٪ تفکیک گردیدند (صالحی شانجانی ۱۳۸۱).

گوناگونی ژنتیکی جمعیت‌های راش با استفاده از ۱۰ سیستم آنزیمی رمز کننده ١٦ لوکوس ژنی به این ترتیب مطالعه شدند: آزمون ژنی وراثت تک‌تک ایزوآنزیم‌ها و تفسیر زیموگرام‌ها از روش Thiébaut و همکاران (۱۹۸۲) (برای پراکسیداز) Merzceau و همکاران (۱۹۸۹) (برای منادیون ردوکتاز، ایزوسیترات دهیدروژناز، فسفوگلوکز ایزومراز، مالات دهیدروژناز و فسفوگلوکوموتاز)، Müller-Starck و Starke (۱۹۹۳) (برای شیکیمات دهیدروژناز، ٦- فسفوگلوکونات دهیدروژناز، لوسین آمینوپپتیداز و آنزیم گلوتامات- اکسالواستات ترانس آمیناز) انجام گردید. لوکوس‌ها به وسیله نام اختصاری آنزیم نام‌گذاری شده و براساس سرعت حرکت (کاتدی‌ترین ناحیه به‌عنوان لوکوس A و دومین لوکس قبل آن B و غیره) حرف‌گذاری شدند (صالحی شانجانی، ۱۳۸۲، ۱۳۸٤ و ۱۳۸٦).

روش‌های آماری

برای هر فرد، ژنوتیپ‌های دیپلوئید شماره‌گذاری و فراوانی‌های آللی محاسبه شد. فراوانی‌های آللی در میان گروه درختان خوش‌فرم و بدفرم با استفاده از آزمون مربع‌کای بررسی گردید (Raymond & Rousset, 1995). میانگین تعداد آلل‌ها در لوکوس (Na)، تعداد آللها با فراوانی مساوی یا بیش از ۵٪، آللهای خصوصی[1] (با فراوانی کمتر از ۵٪)، پلی‌مورفیسم لوکوس‌ها، تعداد مؤثر آلل، اندیکس شانون و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He)، مشاهده شده (Ho) و کل (He) با نرم‌افزار GeneAlex (Peakal & Smouse, 2006) محاسبه گردید. مقادیر آماری F ارائه شده توسط Wright (۱۹۳۱ و ۱۹۵۱) با استفاده از مقدار هتروزیگوزیتی، سه سطح لقاح درون‌گروهی Fit: شاخص ثبوت درون گروهی، Fis: شاخص ثبوت کل جمعیت و Fst: کاهش شاخص ثبوت بین گروه‌های درختان بدفرم و خوش‌فرم را نشان می‌دهد (Brown & Weir, 1983؛ Barrett & Shore, 1990). مقادیر فوق برای بررسی هر گونه انحراف از مقادیر هاردی-وینبرگ در جمعیت و تمایز ژنتیکی بین درختان بدفرم و خوش‌فرم به‌کار می‌روند. آزمون Assignment (Paetkau *et al*., 1995) که در آن با استفاده از توزیع آللهای مشاهده شده برای تمایز بین درختان بدفرم و خوش‌فرم استفاده می‌شود محاسبه گردید. اطلاعات حاصل از داده‌های آلوزیمی درختان به روش تجزیه خوشه‌ای با نرم‌افزار NTSYS-pc (Rohlf, 2004) مطابق Nei و Li (۱۹۷۹) تحلیل شد. برای مطالعه تشابه ژنتیکی فاصله بین افراد از ضریب جاکارد (Jacard) و برای تعیین ادغام گروه‌ها از UPGMA استفاده گردید.

1- Private alleles

جدول ۱- اطلاعات کلی در مورد سیستم‌های آنزیمی، شماره آنزیمی (EC) و تعداد آلل‌های مشاهده شده

	سیستم آنزیمی	طبقه آنزیمی	شماره EC	لوکوس‌های پلی‌مورفیک	تعداد آلل مشاهده شده	ساختمان چهارم	گروه‌بندی آنزیم
۱	پراکسیداز	اکسیدوردوکتازها	۱.۱۱.۱.۷	PX-A	۲	منومر	متابولیسم ثانوی
				PX-B	۲	منومر	
۲	لوسین آمینوپپتیداز	هیدرولازها	۳.٤.۱۱.۱	LAP-A	۲	منومر	متابولیسم ثانوی
				LAP-B	۲	منومر	
۳	گلوتامات اکسالواستات ترانس آمیناز	ترانسفرازها	۲.٦.۱.۱	GOT-A	۲	دیمر	متابولیسم اولی
				GOT-B	۱	دیمر	
٤	منادیون ردوکتاز	اکسیدوردوکتازها	۱.٦.۹۹.۲	MNR-A	۲	تترامر	متابولیسم ثانوی
٥	ایزوسیترات دهیدرژناز	اکسیدوردوکتازها	۱.۱.۱.٤۲	IDH-A	۱	دیمر	متابولیسم اولی
٦	مالات دهیدوژناز	اکسیدوردوکتازها	۱.۱.۱.۳۷	MDH-A	۲	دیمر	متابولیسم اولی
				MDH-B	۲	دیمر	
				MDH-C	۲	منومر	
۷	فسفوگلوکوز ایزومراز	ایزومرازها	٥.۳.۱.۹	PGI-A	۲	دیمر	متابولیسم اولی
				PGI-B	۲	دیمر	
۸	فسفوگلوکوز موتاز	ترانسفرازها	۲.۷.٥.۱	PGM-A	۲	منومر	متابولیسم اولی
۹	شیکیمات دهیدروژناز	اکسیدوردوکتازها	۱.۱.۱.۲٥	SKDH-A	۳	منومر	متابولیسم ثانوی
۱۰	فسفو گلوکونات دهیدروژناز	اکسیدوردوکتازها	۱.۱.۱.٤٤	6PGDH-A	۳	دیمر	متابولیسم اولی

جدول ۲- فراوانی آللی درختان خوش‌فرم و بدفرم

لوکوس	آلل	بدفرم	خوش‌فرم
Px-A	A	۰/۳۱۷	۰/۳۱٦
	B	۰/٦۸۳	۰/٦۸٤
Px-B	A	۰/۷٦۷	۰/۷٦۳
	B	۰/۲۳۳	۰/۲۳۷
Lap-A	B	۰/۹۰۰	۰/۹۳٤
	C	۰/۱۰۰	۰/۰٦٦
Lap-B	B	۰/٦۸۳	۰/٦۱۸
	C	۰/۳۱۷	۰/۳۸۲
Got-A	B	۰/۷۳۳	۰/٦٥۸
	C	۰/۲٦۷	۰/۳٤۲
Got-B	B	۱/۰۰	۱/۰۰
Mnr-A	A	۰/۲۱۷	۰/۱٥۸
	B	۰/۷۸۳	۰/۸٤۲
Idh-A	B	۱/۰۰	۱/۰۰
Mdh-A	C	۰/٥۳۳	۰/٥۲٦
	E	۰/٤٦۷	۰/٤۷٤

ادامه جدول ۲- فراوانی آللی درختان خوش‌فرم و بدفرم

لوکوس	آلل	بدفرم	خوش‌فرم
Mdh-B	A	۰/۰۵۰	۰/۰۰
	C	۰/۹۵۰	۱/۰۰
Mdh-C	A	۰/۰۱۷	۰/۰۱۳
	B	۰/۹۸۳	۰/۹۸۷
Pgi-A	B	۰/۹۱۷	۰/۹۴۷
	C	۰/۰۸۳	۰/۰۵۳
Pgi-B	A	۰/۰۳۳	۰/۰۲۶
	B	۰/۹۶۷	۰/۹۷۴
Pgm-A	A	۰/۰۳۳	۰/۰۱۳
	B	۰/۹۶۷	۰/۹۸۷
Skdh-A	B	۰/۸۳۳	۰/۸۴۲
	C	۰/۰۶۷	۰/۰۵۳
	D	۰/۱۰۰	۰/۱۰۵
6Pgd-A	B	۰/۴۸۳	۰/۵۳۹
	C	۰/۵۰۰	۰/۴۴۷
	D	۰/۰۱۷	۰/۰۱۳

جدول ۳- عاملهای تنوع و تمایز ژنتیکی براساس لوکوسها (ستاره‌دارها نشان انحراف (با سطح اطمینان بالای ۹۵٪) از ساختار ژنوتیپی مورد انتظار از قانون هاردی-وینبرگ است، اعداد تیره نشان‌دهنده نقصهای هتروزیگوزیتی مهم است).

	Ht	He	Ho	Fis	Fit	Fst	Nm
Px-A	۰/۴۳۲	۰/۴۳۲	۰/۵۴۶	−۰/۲۶۴*	−۰/۲۶۴	۰/۰۰	۲۸۱۰۰۹/۵۰۰
Px-B	۰/۳۶۰	۰/۳۶۰	۰/۱۷۹	۰/۵۰۲*	۰/۵۰۲	۰/۰۰	۱۴۶۰۵/۷۵۰
Lap-A	۰/۱۵۲	۰/۱۵۱	۰/۱۶۶	−۰/۰۹۵	−۰/۰۹۰	۰/۰۰۴	۶۴/۷۰۷
Lap-B	۰/۴۵۴	۰/۴۵۲	۰/۴۶۷	−۰/۰۳۲	−۰/۰۲۷	۰/۰۰۵	۵۳/۶۷۹
Got-A	۰/۴۲۳	۰/۴۲۱	۰/۳۵۱	۰/۱۶۶*	۰/۱۷۱	۰/۰۰۷	۳۶/۹۵۵
Got-B	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	–	–	–	–
Mnr-A	۰/۳۰۴	۰/۳۰۳	۰/۲۲۲	۰/۲۶۷*	۰/۲۷۱	۰/۰۰۶	۴۳/۸۱۵
Idh-A	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	–	–	–	–
Mdh-A	۰/۴۹۸	۰/۴۹۸	۰/۶۴۹	−۰/۳۰۳*	−۰/۳۰۳	۰/۰۰	۵۰۵۸/۲۵۰
Mdh-B	۰/۰۴۹	۰/۰۴۸	۰/۰۵۰	−۰/۰۵۳	−۰/۰۲۶	۰/۰۲۶	۹/۵۰۰
Mdh-C	۰/۰۲۹	۰/۰۲۹	۰/۰۳۰	−۰/۰۱۵	−۰/۰۱۵	۰/۰۰	۲*۱۱۹/۹۳۷
Pgi-A	۰/۱۲۷	۰/۱۲۶	۰/۱۳۶	−۰/۰۷۷	−۰/۰۷۳	۰/۰۰۴	۶۶/۹۶۹
Pgi-B	۰/۰۵۸	۰/۰۵۸	۰/۰۶۰	−۰/۰۳۱	−۰/۰۳۱	۰/۰۰	۵۸۷/۳۱۳
Pgm-A	۰/۰۴۵	۰/۰۴۵	۰/۰۴۶	−۰/۰۲۸	−۰/۰۲۴	۰/۰۰۴	۵۵/۵۳۰
Skdh-A	۰/۲۸۴	۰/۲۸۴	۰/۲۲۲	۰/۲۱۹*	۰/۲۱۹	۰/۰۰	۹۴۱/۷۴۵
6Pgd-A	۰/۵۱۴	۰/۵۱۲	۰/۵۰۴	۰/۰۱۷	۰/۰۲۰	۰/۰۰۳	۸۶/۳۴۵
میانگین				۰/۰۲۰	۰/۰۲۴	۰/۰۰۴	۵۹/۵۰۳

جدول ٤- مقایسه ویژگیهای ژنتیکی در درختان خوش‌فرم و بدفرم راش

جمعیت	خوش‌فرم	بدفرم
میانگین تعداد آلل در لوکوس	۱/۹٤ ± ۰/۱٤	۲ ± ۰/۱۳
میانگین تعداد آلل با فراوانی ≤ ۵٪ در لوکوس	۱/٦۹ ± ۰/۱۵	۱/۷۵ ± ۰/۱٤
تعداد موثر آلل	۱/۳۹ ± ۰/۰۱	۱/٤ ± ۰/۰۹
اندیکس شانون	۰/۳۵ ± ۰/۰۷	۰/۳۸ ± ۰/۰۷
تعدادآلل خصوصی	۰	۰/۰٦ ± ۰/۰٦
هتروزیگوزیتی	۰/۲۲ ± ۰/۰۵	۰/۲٤ ± ۰/۰۵

نتایج

پلی‌مورفیسم سیستم‌های آنزیمی

تعداد ۱۰ سیستم آنزیمی رمز کننده ۱٦ لوکوس در این پژوهش بکار گرفته شده است تا امکان استفاده از آنزیم‌ها به‌عنوان مارکری برای درختان خوش‌فرم از بدفرم بررسی گردد (جدول ۱). مشاهده باندها بر روی ژل نشان می‌دهد که پراکسیداز (PX) به وسیله ۳ لوکوس ژنی رمز می‌شود، به طوری که ۳ ناحیه فعالیت روی ژل ظاهر می‌شود که دو ناحیه دارای فعالیت کافی و پایدار هستند و تحت عنوان PX-A و PX-B بررسی می‌شوند. بیان ناحیه سوم وابسته به فصل رویشی است که در این مطالعه لحاظ نگردید. آنزیم‌های تولید شده به وسیله هر دو لوکوس منومر می‌باشند. دو آلل با تحرک نسبی۱۰۰ و ۱۰۵ در PX-A و ۲ آلل با تحرک نسبی ۳۹ و ۵۲ در PX-B مشاهده شدند. لوسین آمینوپپتیداز به وسیله ۲ لوکوس آنزیمی (LAP-A و LAP-B) رمز می‌شود. در هر دو لوکوس دو شکل آللی با تحرک نسبی۱۰۰ و ۹۷ در لوکوس LAP-A و تحرک نسبی۱۰۰ و ۹۸ در لوکوس LAP-B مشاهده گردید. ساختار آنزیمی تولید شده به وسیله هر دو لوکوس مونومر می‌باشد. ایزوآنزیم‌های گلوتامات-اکسالواستات ترانس آمیناز به دو لوکوس (GOT-A و GOT-B) شامل دو آلل با تحرک نسبی۱۰۰ و ۹۵ در لوکوس GOT-A و یک آلل در لوکوس GOT-B (عدم پلی‌مورفیسم) نسبت داده می‌شوند. آنزیم‌های حاصل از هر دو لوکوس دیمر هستند. منادیون ردوکتاز به وسیله یک لوکوس MNR-A با ۲ آلل دارای تحرک نسبی ۱۰۰ و ۷٤ رمز می‌شود و ساختار آنزیمی آن تترامری است. ایزوزیم‌های ایزوسیترات دهیدروژناز به وسیله دو لوکوس ژنی رمز می‌شود که ناحیه اول فعالیت (IDH-A) منومورف و ناحیه دوم فعالیت روی ژل (IDH-B) رنگ‌پذیری کمی داشت و قابل بررسی نبود. مالات دهیدروژناز به وسیله ۳ لوکوس آنزیمی (MDH-A[1]، MDH-B و MDH-C) رمز می‌شود. در هر سه لوکوس ۲ شکل آللی مشاهده گردید. بیان فنوتیپی لوکوس MDH-A بسیار مشابه به MDH-B است و هر دو آنزیم تولید شده به وسیله این لوکوس‌ها دیمری می‌باشند. در حالی که آنزیم حاصل از لوکوس MDH-C منومری است. در لوکوس MDH-C در حقیقت ٤ شکل آللی وجود دارد.

۱- MDH-A به‌عنوان اولین لوکوس در تمام جوامع غربی و مرکزی راش اروپایی کاملاً منومورفیک است. به‌طوری‌که بسیاری از محققان از ارزیابی آن ممانعت نموده‌اند. در صورتی که این لوکوس در راش شرقی جوامع بالکان پلی‌مورفیک می‌شود (Vyšny, 1997).

ولی از آنجایی که سرعت مهاجرت آلل اول و دوم و نیز آلل سوم و چهارم بسیار شبیه هم است فقط دو آلل تفسیر گردید. در لوکوس MDH-C، بیشترین فراوانی آللی متعلق به آلل B می‌باشد. دو لوکوس به آنزیم فسفوگلوکز ایزومراز (PGI-B, PGI-A) نسبت داده می‌شود که ۲ شکل آللی در لوکوس‌های PGI-B, PGI-A مشاهده گردید. آنزیم تولید شده به وسیله هر دو لوکوس دیمر بود. فسفوگلوکو موتاز در یک لوکوس (PGM-A) با ۲ آلل که دارای تحرک نسبی ۱۱۲ و ۱۰۰ است رمز می‌شود. ساختار آنزیم منومری است. شیکیمات دهیدروژناز در یک لوکوس، SKDH-A، با ۳ آلل که دارای تحرک نسبی ۱۰۰، ۸۶ و ۷۲ است رمز می‌شود. آنزیم ساختمان منومری دارد. ۶- فسفوگلوکونات دهیدروژناز به وسیله ۳ لوکوس رمز می‌شود که 6PGD-A با ۳ آلل که دارای تحرک نسبی ۱۰۰، ۹۰ و ۸۰ هستند مورد مطالعه قرار گرفت. ساختمان آنزیم دیمری می‌باشد. در هیچ‌یک از لوکوس‌های آنزیم‌های مطالعه شده اختلاف مهمی (در سطح ۹۵٪) در فراوانی‌های آللی در بین درختان خوش‌فرم و بدفرم مشاهده نگردید (جدول ۲).

ویژگی‌های ژنتیکی در جمعیت راش خیرودکنار نوشهر

جدول ۳ هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار از معادله هاردی- وینرگ را در سطح لوکوس‌ها نشان می‌دهد. هتروزیگوسیتی کل در ۱۶ لوکوس به طور چشمگیری از ۴/۵٪ در لوکوس PGM-A تا ۵۱/۴٪ در لوکوس 6PGD-A متغیر است. نتایج نشان می‌دهد اگرچه سهم هر یک از لوکوس‌ها برای تشکیل هتروزیگوسیتی متفاوت بود ولی در کل تعداد لوکوس‌هایی که میزان هتروزیگوسیتی مشاهده شده بیشتر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار باشد بیشتر است. به طوری که در لوکوس‌های PX-B، GOT-A، MNR-A، SKDH-A و 6PGD-A نقص هتروزیگوسیتی مشاهده می‌شود.

مقادیر آماری F نشان می‌دهد که جمعیت خیرود در تعادل بوده و یا نقص جزئی در هتروزیگوت دارند (جدول ۳). عموماً مقدار مثبت جزئی Fis و Fit نشان‌دهندهٔ انحراف جزئی از معادله هاردی- وینبرگ به طرف افزایش هموزیگوت‌ها است. به علاوه نتایج نشان دادند که اگرچه مقادیر Fis نشان‌دهندهٔ نقص جزئی هتروزیگوت‌ها است ولی تعداد لوکوس‌هایی که زیادی[1] هتروزیگوت (با مقادیر منفی Fis) نشان می‌دهند بیشتر از تعداد لوکوس‌هایی با نقص[2] هتروزیگوت (با مقادیر مثبت Fis) است. مقدار Fst بیان کنندهٔ چگونگی شرکت تک‌تک لوکوس‌ها در تمایز ژنتیکی می‌باشد، از آن میان لوکوس MDH-B متمایزترین لوکوس می‌باشد. مقادیر کم Fst نشان‌دهندهٔ درجهٔ پایین پلی‌مورفیسم است.

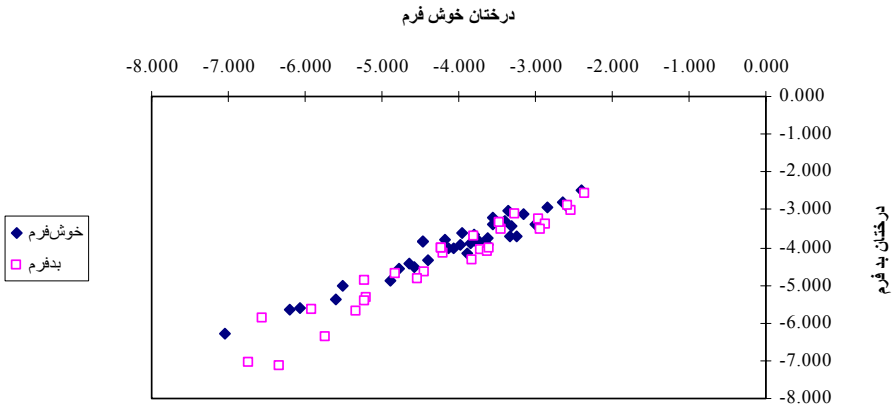
جدول ۳ همچنین جریان ژن ۱۶ لوکوس را در جمعیت خیرود نشان می‌دهد. مقادیر محاسبه شده برای جریان ژن در میان لوکوس‌ها متغیر است، به طوری که از ۹/۵ در لوکوس MDH-B تا ۲۸۱۰۰۹/۵ در لوکوس PX-A با میانگین ۵۹/۵ متغیر است. میانگین جریان ژن در لوکوسهای مختلف نشان می‌دهد که کمترین ژن از طریق لوکوس MDH-B و بیشترین ژن از طریق لوکوس PX-A جریان دارد. آنالیز تک‌تک ژنوتیپها بوسیله آزمون Assignment، نشان داد که میزان جریان ژن بین پایه‌ها زیاد می‌باشد، به طوری که تمایز بین پایه‌های بدفرم و خوش‌فرم امکان‌پذیر نمی‌باشد (شکل ۱).

1- Excess
2- Deficit

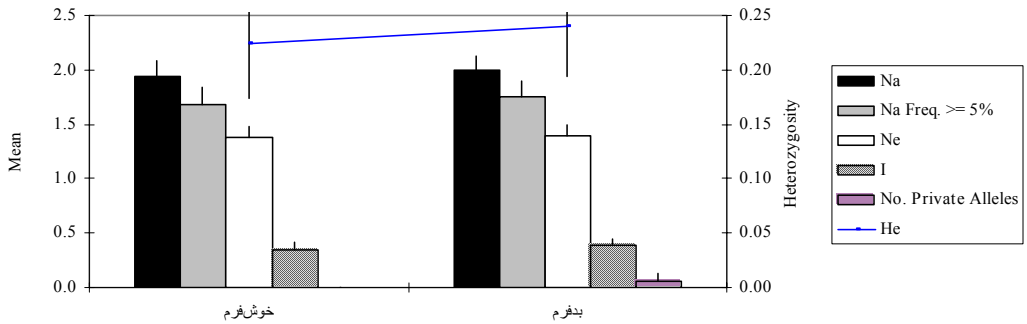
تنوع و تمایز ژنتیکی بین درختان بدفرم و خوش‌فرم

نتایج مقادیر تنوع آللی و ژنتیکی در جدول ٤ در بین گروههای خوش‌فرم و بدفرم درختان راش منطقه خیرود نشان می‌دهد که در کل ۳۲ شکل آللی در ۱٦ لوکوس ژنی مشاهده شد که درصد پلی‌مورفیسم آنها در درختان بدفرم (٪۸۷/۵) بیش از درختان خوش‌فرم بود. اگرچه میانگین تعداد آلل در لوکوس، تعداد آللها با فراوانی بیش از ۵٪، تعداد آلل مؤثر، اندیکس شانون، هتروزیگوزیتی درختان بدفرم اندکی بیش از درختان خوش‌فرم بود ولی اهمیت آن در سطح ۱٪ معنی‌دار نبود (شکل ۲). تنها در یک لوکوس، آلل خصوصی با فراوانی کمتر از ۵٪ مشاهده شد که مربوط به لوکوس MDH-B بوده و فقط در درختان بدفرم وجود داشت.

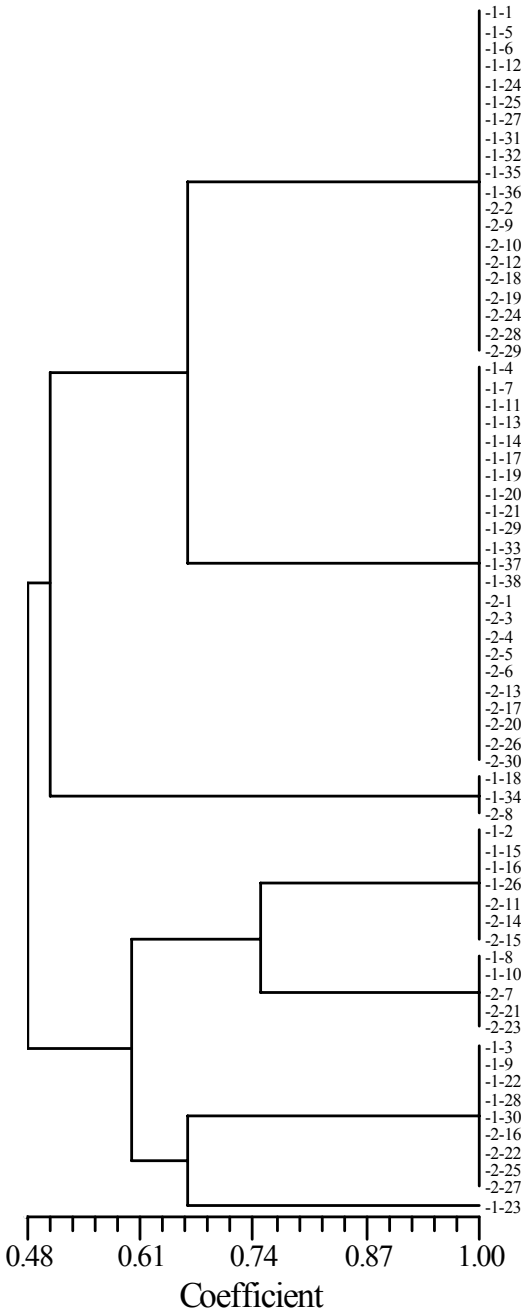
برای تشریح طرح تمایز درختان بدفرم و خوش‌فرم راش، شباهت ژنتیکی بین درختان مختلف براساس گوناگونی تک تک لوکوسها و نیز کل لوکوسها محاسبه و دندروگرامهای مربوطه رسم گردید. هیچ‌یک از دندروگرامهای حاصل از تک تک لوکوسها و کل لوکوسها نتوانست تمایز خاصی را بین درختان بدفرم و خوش‌فرم نشان دهد (شکل‌های ۳ و ٤). در اینجا از میان دندروگرامهای حاصل از تک تک آنزیمها فقط دندروگرام حاصل از شباهت ژنتیکی براساس آنزیم پراکسیداز به‌عنوان نمونه درج گردیده است (شکل ۳). همان‌گونه که در شکلهای ۳ و ٤ مشاهده می‌گردد، خوشه‌های بسیاری در هر دو دندروگرام تشکیل شده است که در هیچ یک تمایز خاصی بین درختان بدفرم و خوش‌فرم مشاهده نگردید



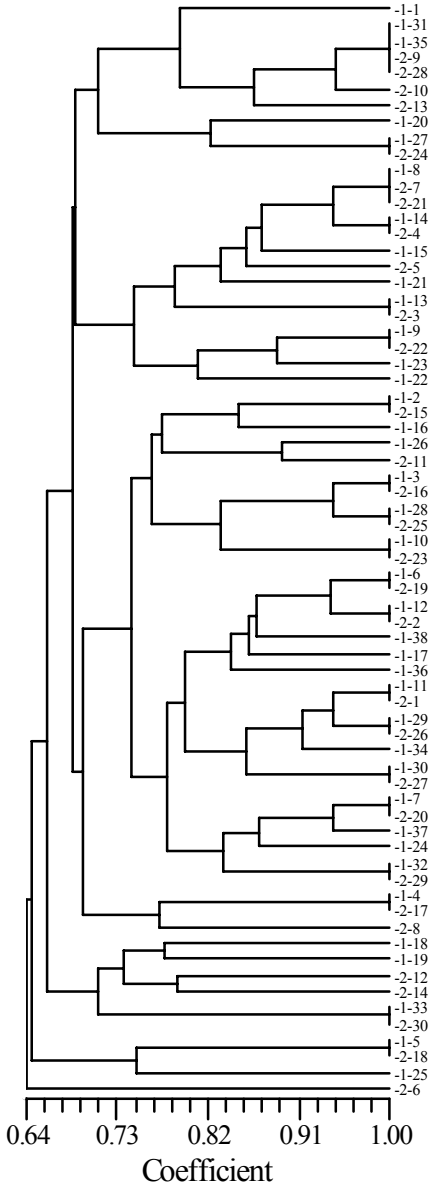
شکل ۱- لگاریتم فراوانی‌های مورد انتظار (ضرایب) در ژنوتیپهای خوش‌فرم و بدفرم



شکل ۲- مقایسه میانگین مقادیر تنوع ژنتیکی در گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم راش



شکل ۳- دندروگرام ۳۰ درخت بدفرم (با پیشوند ۲) و ۳۸ درخت خوش‌فرم (با پیشوند ۱) حاصل از مقادیر فراوانی آللی لوکوسهای آنزیم پراکسیداز



شکل ٤- دندروگرام ۳۰ درخت بدفرم (با پیشوند ۲) و ۳۸ درخت خوش‌فرم (با پیشوند ۱) حاصل از مقادیر فراوانی آللی کل لوکوس‌های مورد مطالعه

بحث

ساختار ژنتیکی جوامع راش بوسیله مدل "جدا شدگی به وسیله فاصله" که توسط Wright (۱۹۴۳ و ۱۹۴۶) ارائه شده است توضیح داده می‌شود (Gregorius *et al*., 1986؛ Guguen *et al*., 1988؛ Comps *et al*., 1990, 1991). براساس این مدل، احتمال لقاح بین دو فرد ارتباط معکوسی با فاصله جغرافیایی آنها دارد. بنابراین بیشترین احتمال تولیدمثل در جوامع راش ناشی از لقاح بین افراد خویشاوند است که باعث افزایش میزان خویشاوندی می‌شود. نقص هتروزیگوت مشاهده شده در بسیاری از جوامع راش درستی این فرضیه را تأیید می‌نماید (Merzeau *et al*., 1994). گونه راش به‌عنوان یک گونه بادگرده‌افشان به‌رغم توان انتشار بالای گرده به نقاط دوردست ولی انتشار محلی بذر دارای گوناگونی ژنتیکی کمتری در بین جوامع بوده و گوناگونی ژنتیکی آنها بیشتر در بین گروه‌هایی از افراد خویشاوند است که در فاصله چند متری از هم قرار دارند، یعنی در آنها ساختار فامیلی مشاهده می‌شود (Hamrick *et al*., 1993؛ Hamrick & Nason, 1996, 2000).

وجود ساختار فامیلی راش توسط مارکرهای مولکولی نیز قابل جستجو است. به طوری که مطالعه توزیع فضایی گوناگونی ژنتیکی توده‌های طبیعی راش توسط مارکرهای آلوزیمی و میکروساتلایتی حاکی از وجود ساختار فامیلی در بین گروه‌های مختلف درختان یک توده است (Wang, 2004؛ Vornam *et al*., 2004؛ Asuka *et al*., 2005). از آنجایی‌که در توده‌های راش، درختانی با مورفولوژی خاص تنه (مثل تنه‌های چنگالی) اغلب به صورت گروهی مشاهده می‌شوند پس مطالعات فوق می‌تواند به صورت غیرمستقیم تأییدی بر توارثی بودن فرم درخت باشد. ولی چنین مشاهداتی کافی نبوده و نیازمند مشاهدات مستندتری است. بدین منظور در این تحقیق تنوع و تمایز آلوزیمی ۱۶ لوکوس آنزیمی در درختان خوش‌فرم و بدفرم مطالعه گردیده و نتایج هیچ تفاوتی از نظر عاملهای ژنتیکی را نشان نداد.

مطالعات نشان داده‌اند که راش به دماهای خیلی پایین زمستانه (حتی در مرحله بلوغ) حساس است (Pukacki, 1990). این حساسیت در مرحله نهالی بیشتر نمایان می‌شود. به طوری که نهال‌های راش به سرمازدگی دیررس بسیار حساس‌تر می‌باشند. نهال‌هایی که در اوایل بهار زودتر شکوفا می‌شوند بیشتر در معرض آسیب سرمازدگی قرار می‌گیرند، این مسئله باعث کاهش ارتفاع درختان (Hristov & Botev, 1981) و نامنظمی در فرم تنه (Myczkowski, 1955) می‌شود. ازآنجایی‌که زمان شکوفایی جوانه یکی از ویژگیهای فنوتیپی است که رابطه زیادی با سازگاری درخت داشته و توارث‌پذیری بالایی دارد (Billington & Pelham, 1991؛ Wuehlisch *et al*., 1995؛ Howe *et al*., 2000؛ Saxe *et al*., 2001؛ Chmura & Roźkowski, 2002؛ Ningre & Colin, 2007)، پس درختان بدفرم از لحاظ ژنتیکی می‌باید با درختان خوش‌فرم تفاوت داشته باشند. برای اثبات فرضیه مطروح شده در این پژوهش از مارکرهای ایزوآنزیمی استفاده شد، زیرا برخی پژوهش‌ها با اشاره به رابطه بین گوناگونی فراوانی‌های آللی برخی آنزیمها و شرایط محیطی، به نقش احتمالی سازگاری آن آلل‌ها تأکید می‌کنند (Thièbaut *et al*., 1982؛ Comps *et al*., 1990, 1991؛ Gömöry *et al*., 1992a؛ Belleti & Lanter, 1996). مطالعه Müller-Starck (۱۹۸۵ و ۱۹۸۹) نیز بر روی جوامع آسیب‌دیده و ظاهراً سالم راش اروپا در آلمان

نشان داد که هتروزیگوزسیتی درختان بردبار به تنش بیشتر از درختان حساس است. به‌رغم این نتایج مطالعه تنوع و تمایز آلوزیمی ۱۶ لوکوس آنزیمی در درختان خوش‌فرم و بدفرم در پژوهش حاضر هیچ تفاوت معنی‌داری را از نظر عاملهای ژنتیکی بین دو گروه درختان نشان نداده است. این نتایج موافق یافته‌هایی بود که Dounavi (۲۰۰۰) با بررسی ۹ لوکوس ژنی آنزیمی در درختان بدفرم و خوش‌فرم ۳ توده راش اروپا در آلمان نتوانست هیچ شواهدی از ارتباط بدفرم‌شدن با الگوهای ایزوآنزیمی پیدا کند. این مسئله می‌تواند ناشی از خنثی بودن گوناگونی آلوزیمی باشد.

بحث بر روی خنثی (بی‌اثر) بودن و یا سازگارکننده بودن گوناگونی آلوزیمی از مباحث بسیار بحث‌برانگیزی است که نظریات ضد و نقیضی در مورد آن داده شده است. به طوری که Kimura (۱۹۶۸ و ۱۹۶۹) اظهار می‌دارد پلی‌مورفیسم آنزیمی که در گونه‌های دگرلقاح مشاهده می‌شود ناشی از بی‌اثر یا تقریباً بی‌اثر بودن بیشتر موتاسیونهاست. درحالی‌که بسیاری از دانشمندان اعتقاد دارند گوناگونی ژنتیکی مشاهده شده قابلیت سازگاری دارد و آلل‌های متفاوت ویژگیهای بیوشیمیایی مختلفی نشان می‌دهند (Latter, 1975). در تأیید نظریه اول شواهد بسیاری نشان می‌دهند که اختلافات مهم در سطوح تنوع، تمایز و تکثر ژنتیکی میان جمعیتی گونه‌های راش وجود ندارد (Müller-Srarck & Ziehe, 1991؛ Comps *et al*., 1993؛ Larsen, 1996؛ Hazler *et al*., 1997؛ Gömöry *et al*., 1999؛ Salehi Shanjani *et al*., 2002). در پژوهشی که بر روی جمعیتهای مختلف راش شرقی در ایران انجام شد هیچ الگو و تمایزی در گوناگونی هیچ یک از لوکوسهای آنزیمی مشاهده نگردید (Salehi Shanjani *et al*., 2002. با این وجود مواردی نیز مشاهده می‌شوند که بر نقش احتمالی سازگاری آلل‌های ایزوآنزیمی تأکید می‌کنند. به‌طوری‌که با استفاده از چندین لوکوس ایزوزیمی پلی‌مورف نشان داده شده است که اختلاف درون و میان جمعیتی در مناطق جنوبی اروپا افزایش پیدا می‌کند که از آن میان به وجود رابطه میان گوناگونی فراوانی آللی آنزیم پراکسیداز به تغییرات محیطی متأثر از عرض‌جغرافیایی یا ارتفاع از سطح دریا اشاره بیشتری شده است (Barrière *et al*., 1985؛ Comps *et al*., 1990, 1991؛ Paule *et al*., 1995). در این پژوهش الگوی گوناگونی لوکوسهای مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری بین درختان بدفرم و خوش‌فرم نشان نداده است.

با توجه به اثبات وجود ساختار فامیلی در بین گروه‌های مختلف درختان یک توده توسط مارکرهای مولکولی DNA (Wang, 2004، Vornam *et al*., 2004؛ Asuka *et al*., 2005) ، نتایج این پژوهش هماهنگ با پژوهش قبلی (Dounavi, 2000) نشان می‌دهد که مارکرهای ژنی آنزیمی ابزار مناسبی برای مطالعه ژنتیکی بودن ویژگیهای سازگاری در درختان نیستند. بنابراین پیشنهاد می‌گردد برای مطالعه تمایز ویژگی فرم درخت از مارکرهای دیگر سازگاری استفاده گردد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مصوب مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور با عنوان بررسی ویژگیهای ژنتیکی فرم درخت راش می‌باشد. بدین‌وسیله از کلیه کسانی که ما را به نحوی در انجام این پژوهش یاری نمودند سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

–صالحی شانجانی، پ.، ۱۳۸٦ تنوع ایزوزیمی فسفو گلوکوز ایزومراز، فسفو گلوکو موتاز، شیکیمات دهیدروژناز و فسفو گلوکونات دهیدروژناز راش Fagus orientalis Lipsky در راشستان‌های ایران. مجله زیست شناسی ایران، ۱۹: ۳۷۹–۳۸٤.

–صالحی شانجانی، پ.، ۱۳۸٤ تنوع ایزوزیمی منادیون ردوکتاز ، ایزو سیترات دهیدروژناز و مالات دهیدروژناز راش شرقی *Fagus orientalis* Lipsky در ایران. مجله زیست شناسی ایران، ۱۷: ٤۰۲–٤۲۰.

–صالحی شانجانی، پ.، ۱۳۸۲ تنوع ایزوزیمی پراکسیداز، لوسین آمینو پپتیداز وگلوتامات اکسالواستات ترانس آمیناز گونه *Fagus orientalis* Lipsky در راشستان‌های ایران. مجله زیست شناسی ایران، ۱۵: ۱–۱۵.

–صالحی شانجانی، پ.، ۱۳۸۱. تنوع ژنتیکی راش و ارتباط آن با برخی ویژگیهای فیزیولوژیکی بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در راشستانهای ایران. پایان‌نامه دکتری دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم، تهران. ۲۲۰ صفحه.

–Kirby, G.C., 1975. Heterozygote frequencies in small subpopulations. Theoretical Population Biology, 8: 31-48.

–Thiébaut, B., 1984. Variabilité génétique " hêtre commun" (Fagus sylvatica L.) dans les milieux montagnards et de haute altitude en Europe. Colloque Ecologie et al Biogéographie des Milieux Montagnards et de Haute Altitude, Gabas. France et Documents d'Ecologie Pyrénéenne, 3-4: 513-521.

–Asuka, Y., Tomaru, N., Munehara, Y., Tani, N., Tsumura, Y. and Yamamoto, S., 2005. Half-sib family structure of Fagus crenata saplings in an old-growth beech–dwarf bamboo forest. Molecular Ecology, 14(8): 2565-2575.

–Barrett, S. C.H. and Shore, J. S., 1990. Isozyme variation in colonizing plants. In : Soltis, D. E. and Soltis, P. S., (Eds). isozymes in plant biology. Chapman and Hall, London. 280 p.

–Barrière, G., Comps, B., Comps, B., Cuguen, J., N'Tsiba, F. and Thiebaut, B., 1985. The genetical ecological variability of beech (Fagus sylvatica L.) in Europe. An alloenzymatic study: genetic isolations of beech-woods: 24-50. In: Muhs, H.J., (Eds.). Improvement and sylviculture of beech. Mitteilungen der Bundesforschngsanstalt für Forestwirtschaft. Grosshansdorf. 230 p.

–Belleti, P., and Lanteri, S., 1996. Allozyme variation among European beech (Fagus sylvatica L.) stands in Piedomont, north western Italy. Silvae Genetica, 45: 1-4.

–Billington, H.L. and Pelham, J., 1991. Genetic variation in the data of budburst in Scottish birch populations: implications for climate change. Functional Ecology, 5: 403-409.

–Brown, A.H.D., and Weir, B.S., 1983. Measuring genetic variability in plant populations. In: Tanksley, S.D. and Orton, L., (Eds.). Isozymes in plant genetics and breeding, part A, Elsevier, Amstredam, pp. 219-239.

–Chmura,D.J. and Rozkowski, R., 2002. Variability of Beech Provenances in Spring and Autumn Phenology. Silvae Genetica, 51: 2–3.

–Comps, B., Thiebaut, B. Paule, L., Merzeau, D., and Letouzey, J., 1990. Allozymic variability in beechwoods (Fagus sylvatica L.) over central Europe: spatial differentiation among and within populations. Heredity, 65: 407-417.

–Comps, B., Thiebaut, B., and Merzeau, D., 1991. Genetic variation in European beech stands (Fagus sylvatica L.): 110-124. In: Müller-Starck, G., and Ziehe, M.J.D., (Eds.). Genetic Variation in European populations of forest trees. Sauerlander's Verlag, Frankfurt, Germany. 180 p.

–Comps, B., Thiebaut, B., Sugar, I., Trinajstic, I. and Plazibat, M., 1993.Genetic variation of Croatian beech stands (Fagus sylvatica L.): spatial differentiation in connection with the environment. Annales des Sciences Forestières, 48: 15-28.

–Cuguen, J., Merzeau, D. and Thiebaut, B., 1988. Genetic structure of the European beech stand (Fagus sylvatica L.): F-statistics and importance of Mating system characteristics in their evolution. Heredity, 60: 91-100.

– Dounavi, A., 2000. Family structures in beech stands (Fagus sylvatica). Dissertation for PhD degree, Unoversity of Göttingen, 142 p.

–Drénou C., 2000. Pruning Trees: The Problem of Forks. Journal of Arboriculture, 26(5): 264-269.

–Felber, F. and Thiébaut, B., 1984. Etude préliminaire sur le polymorphisme enzymatique du Hêtre (Fagus sylvatica L.), Varibilité génétique de deux systemes de peroxydases enzymatique du Hêtre (Fagus sylvatica L.), Varibilité génétique de deux systemes de peroxydasesden relation avec les conditions écologiques. Oecolology of Plant, 5: 133-150.

–Gömöry, D., Paule, L., Brus, R., Zhelev, P., Tomovic, Z., and Gracan, J., 1999. Genetic structure and Taxonomy of beech on Balkan Peninsula. Journal of Evoltionary Biology, 12: 746-754.

–Gömöry, D., Vyšny, J., Comps, B. and Thiébaut, B., 1992. Geographical patterns of genetic differentiation and diversity in European beech

–Kimura, M., 1969. The rate of evolution considered from the standpoint of population genetics. Proceeding of national Academy of Science U.S.A., 63:1181–1188.

–Kramer, K., 2005. A genetic-ecological study on beech (Fagus sylvatica L.): a leap of faith to assess a species' adaptive potential to environmental change. QUEST & CLASSIC workshop on Modeling plant penology and large scale phenological observations. www.geog.le.ac.uk/staff/jk61/phenows1/Kramer.htm

–Larsen, A.B., 1996. Genetic structure of populations of beech (Fagus sylvatica L.) in Denmark. Scandinavian Journal of Forest Research, 11: 220-232.

–Latter, D.H., 1975. Influence of selection pressures on enzyme polymorphisms in Drosophila. Nature, 257:590 – 592.

–Lewontin, R. C. and Hubby, J. L. 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amounts of variation and degree of heterozygosity in natural populations of Drosophil pseudoobscura. Genetics, 54: 595-609.

–Merzeau, D., Comps, B., Theibaut, B., and Letouzey, J., 1994. Estimation of Fagus sylvatica L. mating system parameters in natural populations. Annal Science Forestry, 51: 163-173.

–Merzeau, D., Di Giusto, F., Comps, B., Thiébaut, B., Letouzey, J. and Cuguen, J., 1989. The allozyme variants of beech (Fagus Sylvatica L.): inheritance and application to a study of the mating system. Silvae Genetica, 38: 195-201.

–Miller A. D., 1953. Factors affecting the growth and form of young beech at Gardingr forest Wiltshire. Forestry, 26:111-122.

–Müller-Starck, G. and Starke, R., 1993. Inheritance of isozymes in European beech (Fagus sylvatica L.). Journal of Heredity, 84: 291-296.

–Müller-Starck, G. and Ziehe, M., 1991. Genetic variation in populations of Fagus sylvatica L., Quercus robur L. and Q. petera Liebl. In Germany: 125-140. In: Müller-Starck, G. and Ziehe, M., (Eds.). Genetic variation in European populations of forest trees. Sauerländer;s verlg, Frankfurt. 180 p.

–Müller-Starck, G., 1985. Genetic differences between “tolerant” and “sensitive” beeches (Fagus sylvatica L.) in an environmentally stressed adult forest stand. Silva Genetica, 34 : 241-247.

–Müller-Starck, G., 1989. Genetic implications of environmental stress in adult forest stands of Fagus sylvatica L.: 127-142. In: Scholz, F., Gregorius, H.R. and Rudin, D., (Eds). Genetic effects of air popllutants in forest tree populations. Springer, Berlin, Heidelberg. 255 p.

(Fagus sylvatica L.) populations in France. Biológia (Bratislava), 47: 571-579.

–Gregorius, H. R., Krauhausen, J., and Müller-Stark, G., 1986. Spatial and temporal genetic differentiation among the seed in a stand of Fagus sylvatica . Heredity, 57: 255-262.

–Hamrick, J .L. and Nason, J. D., 2000. Gene flow in forest tree: 90-100. In: Young, A., Boshier, D. and Bayle, T., (Eds.). Forest conservation Genetics: Principles and Practice. CSIRO Publishing, 150 p.

–Hamrick, J. L., and Nason, J. D., 1996. Consequences of dispersal in plants: 203-236. In: Rhodes, O.E., Chesser R.K. and Smith, M. (Eds.) Population Dynamics in ecological and time. University of Chicago Press, Chicago. 340 p.

–Hamrick, J.L., Murawski, D.A. and Nason, J.D., 1993. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. Vegetatio, 107/108: 281-297.

–Harris, H., 1966. Enzyme polymorphism in man. Proceeding of the Royal Society of London Series B Biological Sciences, 164: 298-310.

–Hazler, K., Comps, B., Sugar, I., Melovski, L., Tashev, A. and Gracan, J., 1997. Genetic structure of Fagus sylvatica L. populations in southeastern Europe. Silvae Genetica. 46: 58-98.

–Howe, G.T., Saruul, P., Davis, J. and Chen, T.H.H., 2000. Quantitative genetics of bud phenology, frost damage, and winter survival in an F2 family of hybrid poplars. Theoretical and Applied Genetics, 101: 632–642.

–Howe, G.T., Saruul, P., Davis, J., Chen, T.H.H., 2000. Quantitative genetics of bud phenology, frost damage, and winter survival in an F2 family of hybrid poplars. Theoretical and Applied Genetics, 101: 632-642.

–Hristov, H.P., Botev, N.I., 1981. Effect of the injuries from late spring frost on the increment of the European beech. Gorskostopanska Nauka, 18: 19–27.

–Hubby, J. L. and Lewontin, R. C., 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles at different lociin Drosophil pseudoobscura. Genetics, 54: 577-594.

–Hunter, R. L. and Markert, C. L., 1957. Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels. Science, 125:1294-1295.

–Jazbec, A., Šegotić, K., Ivanković, M., Marjanović, H. and Perić, S., 2007. Ranking of European **beech** provenances in Croatia using statistical analysis and analytical hierarchy process. Forestry, 80:151-162.

–Kimura, M., 1968. Evolutionary rate at the molecular level. Nature, 217:624–626.

–Saxe, H., Cannell, M.G.R., Johnsen, Ø., Ryan, M.G., Vourlttis, G., 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. New Phytologist, 149: 369–400.
–Smithies, O., 1955. Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal individuals. Biochemistry Journal, 61:629-641.
–Tanksely, S. D. 1983. Molecular markers in plant breeding. Plant molecular Biology Report, 1: 3-8.
–Thiébaut, B., Lumaret, R. and Vernet, P.H., 1982. The bud enzymes of beech (Fagus sylvatica L.) Genetic distinction and analysis of polymorphism in several French populations. Silvae Genetica, 31: 51-60.
–Vornam, B., Decarli, N. and Gailing, O., 2004. Spatial distribution of genetic variation in a natural beech stand (Fagus sylvatica L.) based on microsatellite markers. Genetics, 5: 561-570.
–Wang, K.S., 20054. Gene Flow in European Beech (Fagus sylvatica L.). Genetica, 122: 105-113.
–Wang, X.-R., and Szmidt, A. E., 2001. Molecular markers in population genetics of forest trees. Scandinavian Journal of Forest Research, 16: 199-220.
–Wendel, J.F. and Weeden, N.F., 1989. Visualization and interperetation of plant isozymes: 5-45. In Soltis, D. E. and Solits, P. S. (Eds.). Isozymes in plant biology, Chapman and hall, London. 210.
–Wright, S., 1931. Evolution in mendelian populations. Genetics, 16: 97-159.
–Wright, S., 1943. Isolation by distance, Genetics, 28: 114-138.
–Wright, S., 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. Genetics, 31: 39-59.
–Wright, S., 1951. The genetical structure of populations. Annals of Eugenetics, 15: 323-354.
–Wuehlisch, G.V., Krusche, D. and Muhs H.J., 1995. Variation in temperature sun requirement for flushing of beech provenances. Silva Genetica, 44:5-6.
–Young, A., Boshier, D., and Bayle, T., 2000. Forest conservation Genetics : Principles and Practice. CSIRO Publishing, 1: 102, 290.
–Myczkiowski, S., 1955. The influence of ecological factors upon the formation of the habit of beech – Fagus sylvatica L. Rocznik Sekcji Dendrologicznej Polskiego Towarzystwa Botanicznego, 10: 233–251.
–Nei, M., 1977. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. Annals of Human Genetics, 41: 225-233.
–Nicolini, E., Chanson, B. and Bonne, F., 2001. Stem Growth and Epicormic Branch formation in understory beech trees (Fagus sylvatica L.). Annals of Botany, 87: 737-750.
–Ningre, F. and Colin, F., 2007. Frost damage on the terminal shoot as a risk factor of fork incidence on common beech (Fagus sylvatica L.). Annals of Forest Science, 64: 79-86.
–Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C., 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology, 4:347-354.
–Paule, L., Gömöry, D. and Vyšny, J., 1995. Genetic diversity and differentiation of beech populations in Eastern Europe. In: Madsen, S., (Eds.). Genetics and Silviculture of Beech. Forskningsserien (Copenhagen), 11: 159-167.
–Peakal. R. and Smouse, P.E., 2006. GenAlEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6:288–295.
–Pukacki, P., 1990. Resistance to low temperatures: 185–192. In: Bial⁄obok S., (ed.), Buk zwyczajny (Fagus sylvatica L.). PWN Warszawa Pozna´n. 330 p.
–Raymond, M. and Rousset, F., 1995. An exact test of population differentiation. Evolution, 49: 1280-1283.
–Rohlf JF (2004) NTSYS-pc: 2.11 Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter Software, Setauket, N.Y.
–Salehi Shanjani, P., Paule, L., Khavari-nejad, R.A., Gömöry, D. and Sagheb-Talebi, K., 2002. Allozymic variability in beech (Fagus orientalis Lipsky) forests over Hyrcanian zone. Forest Genetics, 9: 297-297.

Differentiation of beech stem forms using isoenzyme gene markers

P. Salehi Shanjani[*1], M. H. Assareh[2] and M. Calagari[3]

1. [*]Corresponding author: Assis. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran, E-mail: psalehi@rifr-ac.ir
2. Assoc. Prof. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran
3. Assis. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran

Accepted: 19.10.2008 Received: 12.05.2008

Abstract

Oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky) is one of the major components of the Iranian forests and it is of both ecological and economical importance. In beech stands (*Fagus sylvatica* Lipsky) it is observed, that beech trees with specific trunk morphology, such as forked stems, often occur in groups, can be assumed due to a limited pollen and especially seed dispersal and distinct family structures. Aim of this work was the investigation of a possible relation between the variability of the trunk morphology and genetic variation of the species. A total of 68 forked and monopodial trees in a beech stands in Hyrcanian Forests of Iran were analyzed using 16 enzymatic gene loci. Comparison for genetic diversity measures between the forked and monopodial trees revealed no significant differences for mean number of alleles per locus, mean number of frequent alleles per locus, effective number of alleles, neither for Shanon index nor expected heterozygosity. However, it was found private allele in the forked trees group, which is very important for adaptation processes in future. The outcrossing rate estimated using isoenzyme gene markers was relatively high for all of the investigated individuals, as expected. The results of this analysis did not show any clear genetic differentiation between the forked and monopodial groups of beech trees that means there was no indication about enzymatic genotypes, which strongly promote the formation of forked stems; this shows that application of isoenzyme gene markers in differentiation of adaptive treats should be considered with caution. However observation of private allele in forked trees group persuades us to continue this subject using other markers.

Key words: beech, *Fagus orientalis* Lipsky, genetic variation, Hyrcanian forests, Isoenzyme gene markers