DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2014.5069

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۱، شمارهٔ ۲، صفحهٔ ۲۶۹-۲۵۷ (۱۳۹۲)

بررسی تنوع هاپلوتیپی در گروه‌های درختان چنگالی و میان‌رو جمعیت‌های مختلف راش (*Fagus orientalis* Lipsky) توسط نشانگرهای ریزماهواره کلروپلاستی

پروین صالحی شانجانی[1*] و محمدحسن عصاره[2]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران
پست‌الکترونیک: psalehi1@gmail.com
۲- استاد، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت:۱۳۸۹/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۱/۱۵

چکیده

بیش از سه دهه است که جنگل‌بانان ایرانی برای اصلاح مدیریت جمعیت‌های پهن‌برگ جنگل‌های خزری که راش (*Fagus orientalis* Lipsky) از مهمترین گونه‌های درختی آن است تلاش می‌نمایند. جنگل‌شناسی راش نیازمند مهارت است، به‌طوری‌که کوچکترین اشتباه در آن باعث بروز پدیده چنگالی شدن تنه و کاهش کیفیت راش می‌شود. چنگالی شدن می‌تواند وابسته به ویژگی‌های ژنتیکی خود گونه و یا ناشی از عوامل خارجی باشد که توسط مدیریت صحیح قابل تعدیل است. هدف از این پژوهش، بررسی وجود رابطه بین گوناگونی مورفولوژی تنه و ویژگی‌های ژنتیکی است. گوناگونی ژنتیکی در ۱۷۶ درخت چنگالی و میان‌رو راش از ۱۳ جمعیت که در طول گستره طبیعی راش در جنگل‌های خزری پراکنده بودند براساس نه جایگاه ریزماهواره کلروپلاستی، که قبلاً شناخته و تعیین توالی شده بودند، مطالعه شد. از نه مکان ریزماهواره کلروپلاستی مورد مطالعه دو جایگاه ccmp4 و ccmp7 به‌ترتیب با دو و شش آلل، چندشکلی نشان دادند که با ترکیب آنها ۱۰ هاپلوتیپ مختلف ایجاد شد. نتایج نشان داد که فاصله ژنتیکی بیشتر جمعیت‌ها قابل توجه است. درحالی‌که چنین وضعیتی بین درختان چنگالی و میان‌رو هر جمعیت مشاهده نگردید. ترسیم فضایی پراکنش هاپلوتیپ‌ها توسط آزمون‌های پرموتیشن، اثبات نمود که فاصله ژنتیکی با فاصله فضایی افزایش می‌یابد. بعلاوه اینکه وجود شیب جغرافیایی در ویژگی‌های ژنتیکی بوسیله آزمون مانتل ثابت گردید، به‌طوری‌که ضریب همبستگی بین ماتریس‌های فاصله ژنتیکی و جغرافیایی از نظر آماری معنی‌دار شد (R^2= ۰/۱۱۶، P= ۰/۰۱). به‌رغم وجود ناهمگونی زیاد در سطوح تنوع و غنای آللی در میان جمعیت‌ها، هیچ تفاوت معنی‌داری بین درختان راش چنگالی و میان‌رو مشاهده نگردید.

واژه‌های کلیدی: تنوع ژنتیکی، جنگل‌های خزری، راش، *Fagus orientalis*، ریزماهواره کلروپلاستی.

مقدمه

جنگل‌های آمیخته و خالص راش (*Fagus orienteilis* Lipsky) از مهمترین، غنی‌ترین و زیباترین جنگل‌های ایران بشمار می‌روند. جنگل‌های راش ۱۷/۶٪ از سطح جنگل‌های هیرکانی و ۲۳/۶٪ تعداد و حدود ۳۰٪ از حجم درختان جنگلی ایران را تشکیل می‌دهند (Resaneh *et al.*, 2001).

بنابراین از نظر اقتصادی جمعیت‌های راش باارزشترین جمعیت‌ها را تشکیل داده و بیشترین میزان تولید چوب در ایران را به خود اختصاص می‌دهند.

در جمعیت‌های راش، درختانی با ریخت‌شناسی خاص تنه (مثل تنه‌های چنگالی) اغلب به صورت گروهی مشاهده می‌شوند که علت آن انتشار محدود گرده و به‌ویژه بذر، در جمعیت‌های طبیعی و ساختار فامیلی است. یکی از عمده‌ترین معایب تنه راش چنگالی شدن تنه است. پیدایش چنگال بر روی تنه باعث کاهش چشمگیر طول محور اصلی (تنه درخت) شده و ارزش تجاری درخت بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (Ningre & Colin, 2007). نزدیک به یک قرن است که محققان و جنگل‌شناسان بر روی منشأ پیدایش چنگال‌ها و نحوه تحول آنها تحقیق می‌کنند. زیرا چنگالی شدن برای متخصص پرورش جنگل که به دنبال دستیابی به گرده‌بینه (تنه چوبی صنعتی) به اندازه کافی طویل می‌باشد امر نامطلوبی بوده و با توجه به اینکه راش بلند دوره است اشتباه در این زمینه می‌تواند مشکل‌ساز باشد.

ساختار ژنتیکی جوامع راش بوسیله مدل "جدا شدگی به وسیله فاصله" که توسط Wright (۱۹۴۳ و ۱۹٤٦) ارائه شده است توضیح داده می‌شود (Gregorius *et al.*, 1986; Cuguen *et al.*, 1988; Comps *et al.*, 1990, 1991). براساس این مدل، احتمال لقاح بین دو فرد نسبت عکسی با فاصله جغرافیایی آنها دارد. بنابراین بیشترین احتمال تولید مثل در جوامع راش ناشی از لقاح بین افراد خویشاوند است که باعث افزایش میزان خودگشنی می‌شود. نقص هتروزیگوتی (Heterozygote deficiency) مشاهده شده در بسیاری از جمعیت‌های راش درستی این فرضیه را تأئید می‌نماید (Merzeau *et al.*, 1994). گونه راش به‌عنوان یک گونه بادگرده‌افشان به‌رغم توان انتشار بالای گرده به نقاط دوردست ولی به علت سنگین بودن بذر (که منجر به انتشار محدود بذر می‌شود) دارای گوناگونی ژنتیکی کمتری در بین جوامع بوده و گوناگونی ژنتیکی آنها بیشتر در بین گروه‌هایی از افراد خویشاوند است که در فاصله چندمتری از هم قرار دارند، یعنی در آنها ساختار فامیلی مشاهده می‌شود (Hamrick *et al.*, 1993; Hamrick & Nason, 2000).

در سال‌های اخیر به علت پیشرفت ژنتیک مولکولی، روش‌های بسیاری ازجمله نشانگرهای ژنوم هسته‌ای، کلروپلاستی و میتوکندریایی برای مطالعه تمایز جمعیت‌ها ابداع شده است. هر دو نوع ژنوم سیتوپلاسمی(کلروپلاست و میتوکندری) در نهاندانگان دارای توارث مادری بوده، بنابراین فقط به وسیله بذر منتقل می‌شوند (Gao *et al.*, 2007).

مطالعات در مورد نشانگرهای DNA اندامکی ثابت نموده که وقتی انتشار بذر کمتر از جریان گرده باشد (چنانچه در بسیاری از نهاندانگان مشاهده می‌شود) چندشکلی DNA اندامکی در مقایسه با هسته‌ای دارای ساختار جغرافیایی و پراکندگی مشخصی است (Petit *et al.*, 1993). این واقعیت به‌ویژه در درختان نهاندانه که انتشار بذرهای سنگین‌شان از طریق جاذبه صورت می‌گیرد صحت دارد (Salvini *et al.*, 2001). وجود ساختار فامیلی راش توسط نشانگرهای مولکولی نیز قابل ردیابی است. به‌طوری‌که مطالعه توزیع فضایی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی راش توسط نشانگرهای آلوزیمی و ریزماهواره‌ای حکایت از وجود ساختار فامیلی در بین گروه‌های مختلف درختان یک جمعیت دارد (Vornam *et al.*, 2004; Wang, 2004; Asuka *et al.*, 2005.

ازآنجایی‌که در جمعیت‌های راش، درختانی با ریخت 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. هدف از انجام این تحقیق بررسی امکان استفاده از ریزماهواره‌های کلروپلاستی در تمایز درختان خوش‌فرم و بدفرم راش، و مطالعه کاربرد ریزماهواره‌های کلروپلاستی در حفاظت از جنگل‌های راش خزری است.

مواد و روش‌ها

جوانه‌های خواب درختان راش به صورت همزمان از ۱۳ جمعیت طبیعی راش که در شیب شمالی رشته‌کوه البرز در جنگل‌های هیرکانی ایران قرار دارند جمع‌آوری شدند (مناطق گرگان از استان گلستان؛ نکا، سنگده، خیرود و کلاردشت از استان مازندران؛ و اسالم از استان گیلان). مقداری DNA سیتوپلاسمی از جوانه‌های خواب ۱٤ درخت در هر جمعیت با استفاده از کیت (Germany, Macherey Negel) Nucleospin plant جداسازی گردید.

نه ریزماهواره با استفاده از آغازگرهای کلروپلاستی (جدول ۱) از طریق واکنش زنجیری پلی‌مراز (PCR) تکثیر شدند. محیط واکنش با حجم نهایی ۲۰ µl شامل ۱۰ نانوگرم DNA الگو، بافر واکنش Amersham ×۱۰ (Tris-HCl ۱۰۰mM، pH =۹، KCL ۵۰ mM، ۱۵ mM $MgCl_2$)، $MgCl_2$ با مقادیر جدول ۱، ۰/۲ mM از هر داکسی‌نوکلئوزیدتری فسفات (dNTP)، ۰/٤ µM از هر آغازگر و ۱ واحد *Taq* DNA polymeras می‌باشد که پس از نگهداری محلول واکنش به مدت ۵ دقیقه در ۹۰ ºC، محلول واکنش در معرض ۳۰ چرخه دمایی (یک دقیقه در دمای واسرشته‌سازی ۹۵ درجه سانتیگراد، یک دقیقه در دمای اتصال طبق جدول ۱ و یک دقیقه در دمای بسط رشته ۷۲ درجه سانتی‌گراد) تکثیر شدند. سپس فرآورده‌های تکثیر در ۷۲ ºC به مدت ۸ دقیقه نگهداری شدند. در این کار از دستگاه PCR مدل Perkin Elmer 9700 استفاده شد. طول قطعات تکثیر شده توسط توالی‌یاب خودکار (Alf Express, Pharmacia) اندازه‌گیری گردید و توسط برنامه نرم‌افزاری (Fragment Manager 1.2 Pharmacia) بررسی شد. هاپلوتایپ‌ها براساس ترکیب‌های مختلف قطعات چندشکل شناسایی شده (آلل‌ها) تعیین شدند

تجزیه و تحلیل داده‌ها: مطالعه تمایز ژنتیکی *Fst* (F-statistic) درختان خوش‌فرم و بدفرم راش توسط نرم‌افزار GenAlex (Peakal & Smouse, 2006) انجام شد. تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها و زیر جمعیت‌ها بوسیله *He* (هتروزیگوسیتی مورد انتظار) و تنوع هر جایگاه ژنتیکی بوسیله ضریب چندشکلی PIC (Polymorphism Index Content) مقایسه گردید (Anderson *et al.*, 1993). تسهیم تنوع ژنتیکی درون و میان‌گروهی توسط آزمون واریانس مولکولی (AMOVA؛ Excoffier *et al.*, 1992) و برنامه نرم‌افزاری ARLEQUIN 1.1 (Schneider *et al.*, 1997) تعیین شد. اهمیت هر جزء واریانس با آزمون پرموتیشن (Permutation) (Excoffier *et al.*, 1992) مطالعه شد. فاصله ژنتیکی میان جمعیت‌ها و گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم براساس معادله نی (Nei, 1978) برآورد شد. از روش PCoA (Principal Coordinate Analysis) تجزیه به مختصات اصلی (Gower, 1966) و Neighbor-Joining (NJ) برای تفسیر ماتریس فاصله ژنتیکی استفاده شد.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های ۹ ریزماهواره کلروپلاستی مطالعه شده

آغازگر	*توالی پرایمرها (۳'-۵')، رفت و برگشت	دمای اتصال (°C)	توالی تکراری	اندازه آلل‌ها (bp)	تعداد آلل مشاهده شده	PIC
Ccmp4	AATGCTGAATCGAYGACCTA CCAAAAATATTBGGAGGACTCT	۵۰	$(T)_{13}$	۱۲۰-۱۱۹	۲	۰/۳٦٤
Ccmp7	CAACATATACCACTGTCAAG ACATCATTATTGTATCATCTTTC	۵۰	$(A)_{13}$	۱۵۵-۱۵۰	٦	۰/٦۱۹
Ccmp10	TTTTTTTTTAGTGAACGTGTCA TTCGTCGDCGTAGTAAATAG	۵۰	$(T)_{14}$	۱۲۰	۱	۰/۰۰۰
Cmcs1	ATTCATTTCCTTTGCATTGA TTTACTTGTTACTAATAGGGTCTA CC	۵۵	$(AT)_7$	۱۱۵	۱	۰/۰۰۰
Cmcs2	GAGCCATTCCCTTTTAGAAT TTGAAAACCGGTATAGTTCG	۵۵	$(AT)_9$	۱۳۸	۱	۰/۰۰۰
Cmcs4	ATTCATTCCCCTTCTATATC CCTAGTATCCCACCAATTA	۵۵	$(TC)_5$	۱۱۱	۱	۰/۰۰۰
Cmcs6	GAAAAAGGACCCTTCCTAAT CTTATGATCGTCACGAATTG	۵۵	$(T)_{10}$	۱۸۸	۱	۰/۰۰۰
Cmcs8	GGTCTATTTTTCCACTCACAA AGAAATAAACACCCCCATTA	۵۵	$(A)_{10}$	۱۵۸	۱	۰/۰۰۰
Cmcs14	GGATTGTAACAAATTTTTCAGG GTGCAAGGAATGTCGAACTA	۵۵	$(AT)_7$	۱۸۰	۱	۰/۰۰۰

*: Primers sequences (5'-3') sense and antisense

دندروگرام NJ با نرم‌افزار MEGA4 (Tamura *et al*., 2007) ترسیم شد. به‌منظور تعیین رابطه همبستگی بین جفت فواصل ژنتیکی و جغرافیایی از آزمون مانتل (Mantel, 1967) و نرم‌افزار GenAlex (Peakal & Smouse, 2006) استفاده گردید.

نتایج

درختان مادری ۱۳ جمعیت در طول گستره راش در جنگل‌های خزری توسط ۹ نشانگر ریزماهواره cpDNA مورد مطالعه قرار گرفتند که از میان آنها در ۵ جمعیت گرگان-۱٤۰۰، گرگان-٦۰۰، خیرود-۱۲۰۰، کلاردشت-۱۳۰۰ و اسالم-۱۲۰۰ گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم به‌صورت مجزا مورد مطالعه قرار گرفتند. ضریب چندشکلی (PIC)، تعداد متغیرهای مشاهده شده (آلل‌ها) و گستره طولی آنها در ۹ مارکر ریزماهواره cpDNA در جدول ۱ نشان داده شده است. دو تا از نه ریزماهواره (ccmp4 و ccmp7) به‌ترتیب با ۲ و ٦ آلل، چندشکلی نشان دادند. براساس ترکیب‌های مختلف متغیرهای مشاهده شده در کل در ۱۰ هاپلوتیپ شناسایی شدند. تنوع هاپلوتیپی در جدول ۲ گزارش شده است.

توزیع هاپلوتیپ‌های ریزماهواره‌ای نشان داد که ۸ تا از ۱۳ جمعیت، گوناگونی درون جمعیتی دارند، درحالی‌که در ۵ جمعیت (گرگان-۱۹۰۰، گرگان-٦۰۰، نکا-۹۰۰، خیرود ۱۲۰۰ و اسالم-٦۰۰) فقط یک نوع هاپلوتیپ مشاهده گردید. به‌استثناء هاپلوتیپ شماره ۳ که در مناطق جغرافیایی دور از هم و گسسته (در ۲ جمعیت غربی، اسالم، و یک جمعیت مرکزی، سنگده) مشاهده شدند، سایر هاپلوتیپ‌ها در مناطق جغرافیایی نزدیک به هم و پیوسته دیده شدند. تنوع ژنتیکی

(*He*) از صفر تا ۰/۲۰۴ متغیر بود که بیشترین تنوع ژنتیکی مربوط به جمعیت اسالم-۱۲۰۰ است. از میان جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه که اغلب دارای یک یا ۲ هاپلوتیپ بودند فقط جمعیت اسالم-۱۲۰۰ با ۳ هاپلوتیپ متمایز بود. مقایسه فراوانی هاپلوتیپی درختان خوش‌فرم و بدفرم جمعیت‌های مختلف نتوانست تمایز خاصی نشان دهد. به‌طوری‌که در جمعیت‌های گرگان-۶۰۰، خیرود-۱۲۰۰ و کلاردشت-۱۳۰۰ هیچگونه تفاوتی بین فراوانی هاپلوتیپی درختان خوش‌فرم و بدفرم وجود نداشت. در جمعیت گرگان-۱۴۰۰ تنوع در درختان بدفرم بیشتر بود، درحالی‌که در جمعیت اسالم-۱۲۰۰ درختان خوش‌فرم، تنوع بیشتری نشان دادند.

توزیع هاپلوتیپ‌ها تمایز قابل ملاحظه‌ای را نشان دادند (*Fst*= ۸۰٪) که دارای ساختار جغرافیایی مشخصی بودند. طبق آزمون واریانس مولکولی (AMOVA) ۵۲٪ از تنوع کل ریزماهواره‌های کلروپلاستی به اختلافات میان منطقه‌ای، ۲۸٪ به تفاوت‌های میان‌جمعیتی و ۲۰٪ به اختلافات درون‌جمعیتی تعلق دارد.

جدول ۲- برخی ویژگی‌های مناطق مورد بررسی و تنوع هاپلوتیپی مشاهده شده نشانگر ریزماهواره کلروپلاستی

منطقه	ارتفاع	کد جمعیت	تعداد درخت	تعداد هاپلوتایپ‌های مشاهده شده در هر جمعیت										
				۱۱۹	۱۱۹	۱۱۹	۱۱۹	۱۱۹	۱۱۹	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	۱۲۰	
				۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	
				۱۵۰	۱۵۱	۱۵۲	۱۵۳	۱۵۴	۱۵۵	۱۵۱	۱۵۲	۱۵۳	۱۵۴	
				۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	
				۱*	۲*	۳*	٤*	۵*	٦*	۷*	۸*	۹*	۱۰*	***He***
گرگان	۱۹۰۰		۸	۰	۰	۰	۰	۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
گرگان	۱٤۰۰	گ-۱-۱٤۰۰	۷	۰	۰	۰	۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰
"	"	گ-۲-۱٤۰۰	۷	۰	۰	۰	۱	٦	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۰۸۲
گرگان	٦۰۰	گ-۱-٦۰۰	۷	۰	۰	۰	۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰
"	"	گ-۲-٦۰۰	۷	۰	۰	۰	۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰
نکا	۱٤۰۰	ن-۱٤۰۰	۱٤	۰	۰	۰	۰	۵	۹	۰	۰	۰	۰	۰/۱۵۳
نکا	۹۰۰	ن-۹۰۰	۱٤	۰	۰	۰	۰	۱٤	۰	۰	۰	۰	۰	۰
سنگده	۱۹۰۰	س-۱۹۰۰	۱٤	۰	۰	۹	۵	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۱۵۳
سنگده	۱٤۰۰	س-۱٤۰۰	۱٤	۰	۰	۰	۰	۳	۱۱	۰	۰	۰	۰	۰/۱۱۲
سنگده	۹۰۰	س-۹۰۰	۱٤	۰	۰	۰	۰	۱۳	۱	۰	۰	۰	۰	۰/۰٤٤
خیرود	۱۲۰۰	خ-۱-۱۲۰۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۷	۰
"	"	خ-۲-۱۲۰۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۷	۰
خیرود	٦۰۰	خ-٦۰۰	۱٤	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۳	۱۱	۰/۱۱۲
کلاردشت	۱۳۰۰	ک-۱-۱۳۰۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	٦	۱	۰	۰	۰/۰۹۳
"	"	ک-۲-۱۳۰۰	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	٦	۱	۰	۰	۰/۰۷۳
اسالم	۱۲۰۰	الف-۱-	۷	۳	۳	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۲۰٤
"	"	الف-۲-	۷	۷	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
اسالم	٦۰۰	الف-٦۰۰	۱٤	۰	۰	۱٤	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کل			۱۷٦	۱۰	۳	۲٤	٦	۷۰	۲۱	۱۲	۲	۳	۲۵	

[1] و [2] به‌ترتیب اندازه آلل‌های لوکوس Ccmp4 و Ccmp7 در واحد bp هستند.

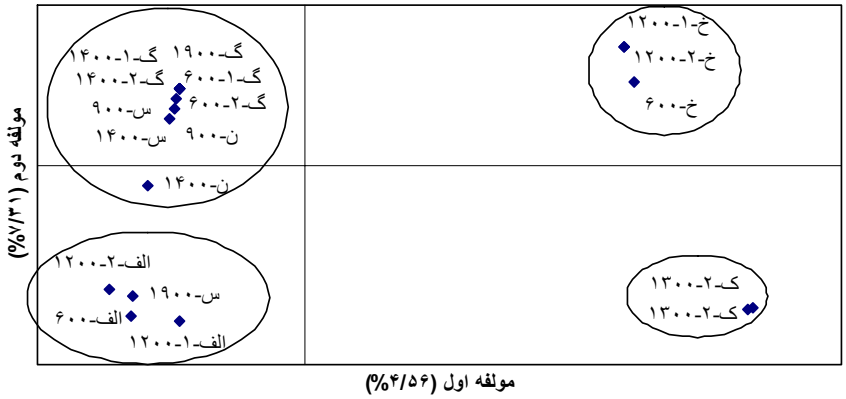
*: کد هاپلوتایپ‌ها می‌باشند.

در کد جمعیت حروف نشانه‌ی نام منطقه است، الف: اسالم، ک: کلاردشت، خ: خیرود، س: سنگده، ن: نکا، گ: گرگان؛ عدد ۱ و ۲ به‌ترتیب نشانه‌ی میان‌رو و چنگالی بودن و اعداد ۳ و ٤ رقمی‌نشانه‌ی ارتفاع منطقه است.

برای تشریح الگوی تمایز بین جمعیت‌ها و نیز گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم، شباهت ژنتیکی بین آنها به‌وسیله برآورد نااریب نی (Nei) محاسبه گردید که بین ۰/۳۳۳ و ۱/۰۰۰ در نوسان بود (جدول ۳). بیشترین شباهت ژنتیکی میان جمعیت‌ها و گروه‌های درختان گرگان و کمترین شباهت بین جمعیت‌های خیرود و اسالم مشاهده گردید. از ماتریس شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها و نیز گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم برای تجزیه به مختصات اصلی (PcoA) استفاده شد. با توجه به اینکه حدود ۹۵٪ گوناگونی در میان سه مؤلفه اصلی قرار دارد، بنابراین این سه مؤلفه به‌عنوان مختصات اصلی در نظر گرفته شدند. همانگونه که در شکل ۱ مشاهده می‌شود گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم هر جمعیت فاصله ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای از یکدیگر ندارند. البته به‌نظر می‌رسد فاصله مکانی یکی از عوامل جدایی جمعیت‌هاست، به‌طوری‌که مؤلفه اول جمعیت‌های خیرود و کلاردشت (جمعیت‌های مرکزی جنگل‌های خزری) را که در واقع جمعیت‌های دو سوی یک دره هستند را از جمعیت‌های شرقی و غربی جنگل‌های خزری جدا کرده و مؤلفه دوم جمعیت‌های خیرود را از کلاردشت و جمعیت‌های شرقی را از جمعیت‌های غربی (اسالم) متمایز نمود. تنها استثناء جمعیت سنگده-۱۹۰۰ بود که با جمعیت‌های اسالم در یک گروه قرار گرفتند.

الگوی تمایز ژنتیکی جمعیت‌ها و گروه‌های مختلف با استفاده از روش NJ نیز بررسی شد. وجود شاخه‌های انتهایی طویل در دندروگرام حاصل حکایت از تمایز مشخص بین جمعیت‌های مناطق مختلف داشت (شکل ۲). شاخه‌بندی جمعیت‌های اسالم (در غرب جنگل‌های خزری) و گرگان، نکا و سنگده (در شرق جنگل‌های خزری) حکایت از منشأ مشترک آنها دارد. ولی جدایی جمعیت‌های مرکزی جنگل‌های خزری (خیرود و کلاردشت) از جمعیت‌های شرقی و غربی می‌تواند به دلیل ویژگی‌های خاص رویشگاهی باشد.

ضرایب همبستگی بین ماتریسهای فاصله ژنتیکی و جغرافیایی جمعیت‌ها و نیز گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم با استفاده از آزمون منتل محاسبه گردید (شکل ۳). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فاصله‌های ژنتیکی و جغرافیایی (R^2 = ۰/۱۱٦، P = ۰/۰۱) مشاهده گردید.



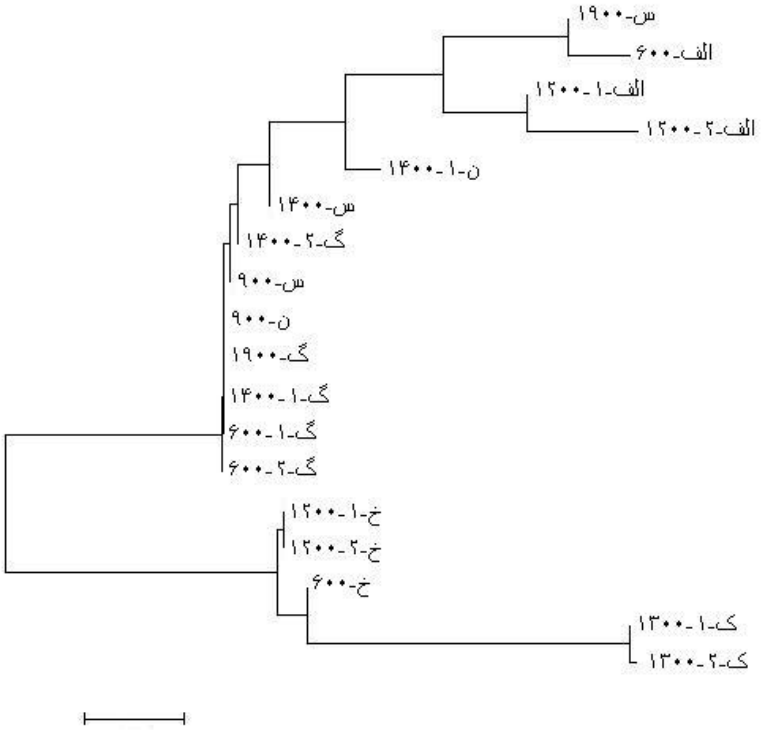
شکل ۱- نمودار دوبعدی موقعیت جغرافیایی مناطق مورد مطالعه براساس فاصله ژنتیکی ترسیم شده توسط داده‌های آزمون تجزیه به مختصات اصلی

در کد جمعیت حروف نشانه‌ی نام منطقه است، الف: اسالم، ک: کلاردشت، خ: خیرود، س: سنگده، ن: نکا، گ: گرگان؛ عدد ۱ و ۲ به‌ترتیب نشانه‌ی میان‌رو و چنگالی بودن و اعداد ۳ و ٤ رقمی‌نشانه‌ی ارتفاع منطقه است.

- ماتریس برآورد نااریب شباهت‌های ژنتیکی بین جمعیت‌ها و نیز گروهای درختان خوش‌فرم و بدفرم راش

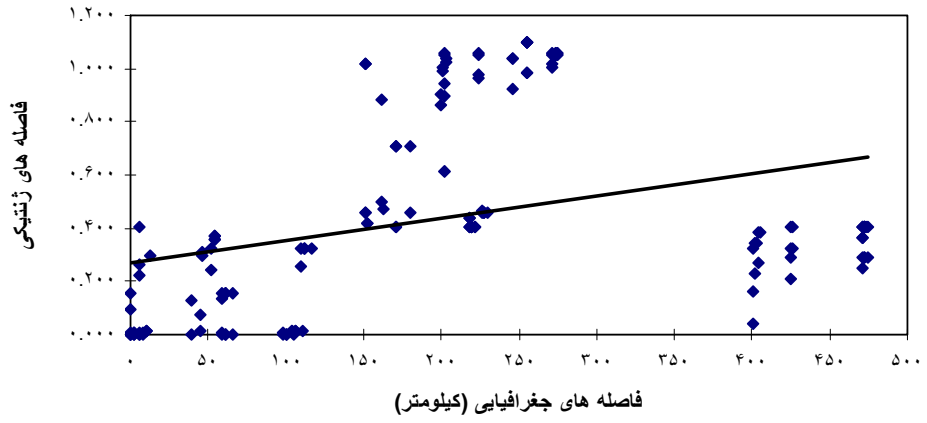
	گ-۱-۶۰۰	گ-۲-۶۰۰	ن-۱۴۰۰	ن-۹۰۰	س-۱۹۰۰	س-۱۴۰۰	س-۹۰۰	خ-۱-۱۲۰۰	خ-۲-۱۲۰۰	خ-۶۰۰	ک-۱-۱۳۰۰	ک-۲-۱۳۰۰	الف-۱-۱۲۰۰	الف-۲-۱۲۰۰	الف-۶۰۰
	۱/۰۰۰														
	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰													
	۰/۸۵۴	۰/۸۵۴	۱/۰۰۰												
	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰	۰/۸۵۴	۱/۰۰۰											
	۰/۷۲۴	۰/۷۲۴	۰/۷۸۷	۰/۷۲۴	۱/۰۰۰										
	۰/۹۸۶	۰/۹۸۶	۰/۹۳۰	۰/۹۸۶	۰/۷۶۹	۱/۰۰۰									
	۰/۹۹۹	۰/۹۹۹	۰/۸۸۱	۰/۹۹۹	۰/۷۴۱	۰/۹۹۳	۱/۰۰۰								
	۰/۶۶۷	۰/۶۶۷	۰/۴۹۲	۰/۶۶۷	۰/۳۶۲	۰/۶۳۲	۰/۶۵۸	۱/۰۰۰							
	۰/۶۶۷	۰/۶۶۷	۰/۴۹۲	۰/۶۶۷	۰/۳۶۲	۰/۶۳۲	۰/۶۵۸	۱/۰۰۰	۱/۰۰۰						
	۰/۶۳۲	۰/۶۳۲	۰/۴۹۲	۰/۶۳۲	۰/۴۱۴	۰/۶۰۷	۰/۶۲۶	۰/۹۸۶	۰/۹۸۶	۱/۰۰۰					
	۰/۳۵۰	۰/۳۵۰	۰/۳۸۰	۰/۳۵۰	۰/۴۲۱	۰/۳۷۱	۰/۳۵۸	۰/۷۰۰	۰/۷۰۰	۰/۷۴۳	۱/۰۰۰				
	۰/۳۴۶	۰/۳۴۶	۰/۳۷۶	۰/۳۴۶	۰/۴۰۶	۰/۳۶۷	۰/۳۵۴	۰/۶۹۲	۰/۶۹۲	۰/۷۳۵	۰/۹۹۹	۱/۰۰۰			
	۰/۷۴۷	۰/۷۴۷	۰/۸۱۲	۰/۷۴۷	۰/۸۴۹	۰/۷۹۳	۰/۷۶۴	۰/۳۷۴	۰/۳۷۴	۰/۳۹۷	۰/۵۴۲	۰/۵۴۰	۱/۰۰۰		
	۰/۶۶۷	۰/۶۶۷	۰/۷۲۴	۰/۶۶۷	۰/۷۲۴	۰/۷۰۸	۰/۶۸۲	۰/۳۳۳	۰/۳۳۳	۰/۳۵۴	۰/۳۵۰	۰/۳۴۶	۰/۹۰۷	۱/۰۰۰	
	۰/۶۶۷	۰/۶۶۷	۰/۷۲۴	۰/۶۶۷	۰/۹۵۷	۰/۷۰۸	۰/۶۸۲	۰/۳۳۳	۰/۳۳۳	۰/۳۵۴	۰/۴۰۸	۰/۳۸۹	۰/۸۰۱	۰/۶۶۷	۱/۰۰۰

الم، ک: کلاردشت، خ: خیرود، س: سنگده، ن: نکا، گ: گرگان؛ عدد ۱ و ۲ به‌ترتیب نشانه‌ی میان‌رو و چنگالی بودن و اعداد ۳ و ٤ رقمی‌نشانه‌ی ارتفاع منطقه است.



شکل ۲- دندروگرام جمعیت‌ها و گروه‌های درختان خوش‌فرم و بدفرم مناطق مختلف حاصل از مقادیر داده‌های فاصله ژنتیکی با روش NJ.

در کد جمعیت حروف نشانه‌ی نام منطقه است، الف: اسالم، ک: کلاردشت، خ: خیرود، س: سنگده، ن: نکا، گ: گرگان؛ عدد ۱ و ۲ به‌ترتیب نشانه‌ی میان‌رو و چنگالی بودن و اعداد ۳ و ٤ رقمی نشانه‌ی ارتفاع منطقه است



شکل ۳- همبستگی بین فواصل ژنتیکی و جغرافیایی نمونه‌های مورد مطالعه

بحث

سطح بالایی از تنوع ژنتیکی در میان ۱۳ جمعیت *Fagus orientalis* با ۱۰ هاپلوتیپ ریزماهواره کلروپلاستی مختلف مشاهده شد. این میزان در مقایسه با ١٤ هاپلوتیپی که با همان آغازگرها که در ٦٧ جمعیت راش اروپا *F. sylvatica* مشاهده شده است بسیار قابل توجه است (Vettori *et al*., 2004).

سطح بالایی از تمایز هاپلوتیپی بین جمعیت‌های مختلف *F. orientalis* مشاهده شد. این نتیجه می‌تواند به این دلیل باشد که ژنوم کلروپلاستی در بیشتر نهاندانگان دارای وراثت سیتوپلاسمی‌بوده و فقط بوسیله بذر منتقل می‌شود. مطالعات در مورد نشانگرهای DNA اندامکی ثابت نموده که وقتی انتشار بذر کمتر از جریان گرده باشد (همانگونه که در بسیاری از نهاندانگان مشاهده می‌شود) پلی‌مورفیسم DNA اندامکی در مقایسه با DNA هسته‌ای دارای ساختار مشخصی است (Petit *et al*., 1993). این واقعیت به‌ویژه در درختان نهاندانه که انتشار بذرهای سنگین‌شان از طریق جاذبه زمین صورت می‌گیرد صحت دارد (Salvini *et al*., 2001). طبق تئوری Birky و همکاران (١٩٨٩٤) در نشانگرهایی که وراثت سیتوپلاسمی‌دارند، بخش زیادی از تنوع ژنتیکی ناشی از تنوع در میان جمعیت‌هاست (نه در درون جمعیت‌ها). به‌طوری‌که سطوح بالایی از تمایز ژنتیکی را بین جمعیت‌ها نشان می‌دهند (Petit, 1999). برطبق آزمون واریانس مولکولی (AMOVA) نتایج این پژوهش ٥٢٪ از گوناگونی کل میکروساتلایت‌های کلروپلاستی به اختلافات میان‌منطقه‌ای، ٢٨٪ به تفاوت‌های میان‌جمعیتی و ٢٠٪ به اختلافات درون‌جمعیتی تعلق دارد. وضعیت مشاهده شده ناشی از کارآیی خوب انتشار ژن‌های هسته‌ای از طریق گرده به وسیله باد و عدم انتشار ژن‌های کلروپلاستی از طریق بذرهای سنگین به فواصل دور است.

در این پژوهش تنوع ریزماهواره‌های کلروپلاستی راش برای مطالعه فرضیه فشارهای انتخابی رویشگاه در گستره پراکنش راش در جنگل‌های خزری بررسی گردید. اختلافات محیطی زیادی به‌ویژه در میزان بارندگی، رطوبت هوا، نوع هوموس و سنگ مادری از شرق به غرب جنگل‌های خزری وجود دارد (Marvie-Mohadjer, 1976; Parsapajouh, 1976; Habibi, 1985). با توجه به اینکه گوناگونی محیطی دارای شیبی از غرب به شرق جنگل‌های خزری می‌باشد، بنابراین ویژگی‌های ژنتیکی نیز همبستگی محسوسی با فاصله جغرافیایی داشتند که از نظر آماری معنی‌دار نیز بود (R^2 = ٠/١١٦، P =٠/٠١). در تأیید این مسئله نمودار رسته‌بندی و دندروگرام NJ جمعیت‌ها و گروه‌های مختلف درختان خوش‌فرم و بدفرم حاصل از ویژگی‌های ژنتیکی، گروه‌بندی مشخصی از نظر مناطق اکولوژیکی ارائه داده بود. به‌طوری‌که گروه‌ها و جمعیت‌های هر یک از مناطق در هاپلوتیپ‌های مشابهی شریک بودند. البته استثناهایی نیز وجود داشت که می‌توان به جمعیت سنگده-١٩٠٠ (از جمعیت‌های شرقی) اشاره کرد که هاپلوتیپ ٣ را با جمعیت‌های غربی (اسالم) شریک شده است. این حالت ممکن است ناشی از ایجاد موتاسیون‌های مستقل در بین افراد یک گونه باشد. خوشه‌بندی جمعیت‌های مناطق مرکزی (خیرود و کلاردشت) از جمعیت‌های مناطق شرقی (گرگان، نکا، سنگده) و غربی (اسالم) می‌تواند به دلیل ویژگی‌های خاص رویشگاهی باشد. وجود اطلاعات جغرافیایی در ویژگی‌های ژنتیکی پیش از این در یافته‌های پژوهشگران

دیگری نیز گزارش شده بود. به‌طوری‌که در طی دهه گذشته مطالعات متعددی در مورد بررسی گوناگونی cpDNA در بسیاری از گیاهان ازجمله درختان گزارش شده است (Petit, 1999). پلی مورفیسم cpDNA و توزیع جغرافیایی آنها در برخی گونه‌های *Fagus* تشریح شده است: *Fagus sylvatica* L. (Magri *et al.*, 2006; Demesure *et al.*, 1996)، *F. crenata* (Fujii *et al.*, 2002) و *F. orientalis* Lipsky (Salehi Shanjani *et al.*, 2002, 2004). میانگین تمایز ژنتیکی اندازه‌گیری شده (*Fst*) در ۹۷ گونه گیاهی ۷۰٪ و در گونه‌های درختان نهاندانه ۷۳٪ می‌باشد.

گونه‌های متعلق به خانواده Fagaceae ازجمله *F. sylvatica*، *Quercus robur* و *Q. petraea* به علت تولید بذر سنگین، تمایز ژنتیکی بالایی در حدود ۸۳٪ تا ۹۰٪ نشان می‌دهند (Dumolin-Lapègue *et al.*, 1997; Demesure *et al.*, 1996). در این پژوهش نیز تنوع ژنتیکی بالایی (۸۰٪) در میان جمعیت‌های این گونه در ایران مشاهده گردید. این مقدار در مقایسه با مقادیر محاسبه شده توسط نشانگر PCR-RFLP (٦۹٪) برای همان جمعیت‌ها بیشتر بود (Salehi Shanjani *et al.*, 2004). برخلاف تمایز میان‌جمعیتی بالا، تمایز درون‌جمعیتی بسیار کمی در مطالعات ما مشاهده شد که در توافق با سایر پژوهش‌هایی است که از طریق ریزماهواره‌های کلروپلاستی حاصل شده است.

خوشه‌بندی جداگانه جمعیت‌های مناطق مختلف حکایت از وجود دودمان‌های مختلف در جمعیت‌های راش جنگل‌های خزری داشت. شواهد نشان می‌دهد که آبخیز البرز که در سواحل دریای خزر واقع شده جنگل‌های نیمه نم‌پسند (Mesophilous) بسیار قدیمی را شامل می‌شود که متعلق به دوران سوم زمین‌شناسی است. از آنجایی که دوران یخبندان بر روی جنگل‌های هیرکانی تأثیر مستقیم نگذاشته، راش در این جنگل‌ها تغییرات محیطی و جغرافیایی زیادی را تحمل کرده است (Mobayen & Tregubov, 1969). در چنان شرایط سخت محیطی *F. orientalis* فرصت داشته تا در مناطق مختلف پناه بگیرد و فقط انواع سازگار به شرایط مکانی و آب و هوایی موجود امکان ادامه استقرار بقاء را داشته باشند.

عدم تمایز درختان خوش‌فرم و بدفرم ناشی از اختلافات درون جمعیتی ناچیز مشاهده شده است (Dounavi, 2000). نتایج این پژوهش در توافق با نتایج تحقیقات دیگری است که نشان داده‌اند ارتباطی بین گوناگونی ژنوم کلروپلاستی با گوناگونی مورفولوژیکی وجود ندارد (Perrie & Brownsey, 2005).

کاربرد حفاظتی

تنوع ژنتیکی کل یک گونه عامل کلیدی در حفاظت آن گونه است (Rauch & Bar-Yam, 2005). حفظ و نگهداری تنوع ژنتیکی برای استمرار بقاء طولانی مدت گونه ضروریست (Frankel & Soulé, 1981)، زیرا از دست رفتن تنوع باعث محدود شدن سازگاری جمعیت‌ها به تغییرات محیطی می‌شود (Ge *et al.*, 2005). جمعیت‌های راش در سال‌های اخیر به دلیل بهره‌برداری صنعتی زیاد بشدت تخریب شده‌اند. به‌طوری‌که حفاظت جنگل‌های باقی‌مانده و جنگل‌کاری مناطق تخریب شده را ضروری نموده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داده است که سطوح بالایی از تمایز بین‌جمعیتی در جمعیت‌های راش خزری وجود دارد. یافته‌های این

پژوهش کاربرد مهمی برای حفاظت *in situ* تنوع ژنتیکی *F. orientalis* دارد. بنابراین حفاظت از یک ناحیه محدود منجر به از دست رفتن مقادیر بالایی از تنوع ژنتیکی کل می‌شود. برای حفظ قسمت عمده تنوع ژنتیکی، باید چندین جمعیت را که دارای هاپلوتیپ‌های مختلفی هستند هدف حفاظت قرار گیرند. با توجه به تمایز هاپلوتیپی، در بحث توسعه و جنگل‌کاری مناطق تخریب شده راش نیز باید توجه و دقت کافی در منشأ بذر مورد استفاده در جنگل‌کاری بعمل آید تا بذرها از جمعیت‌های مجاور جمع‌آوری گردد.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به شماره ۰۵-۰۳۱۱۲۹۱۰۰۰-۸۲ می‌باشد. به این وسیله مراتب سپاس و قدردانی خود را از آقای دکتر جوزپه جوانی وندرامین استاد انستیتو اصلاح درختان جنگلی فلورنس- ایتالیا که در تدوین این پژوهش از هیچ لطفی دریغ ننمودند اعلام می‌دارم.

منابع مورد استفاده

–Anderson, J.A., Churchill, G.A., Autrique, J.E., Tanksley, S.D. and Sorrells. M.E., 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. Genome, 36: 181–186

–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: 2565-2575.

–Birky, C.W., Fuerst, P. and Maruyama, T., 1989. Organelle gene diversity under migration and drift: Equilibrium expectations approach to equilibrium effects of heteroplasmic cells and comparison to unclear genes. Genetics, 121: 631-627

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

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

–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

–Demesure, B., Comps, B. and Petit, R.J. 1996. Chloroplast DNA phylogeography of the European beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe. Evolution, 50: 2515-2520

–Dounavi A., 2000. *Family structures in beech stands (Fagus sylvatica)* Dissertation for PhD degree, University of Göttingen, 108 p.

–Dumolin-Lapègue, S., Demesure, B., Fineschi, S., Lecorre, V. and Petit, R.J., 1997. Phylogenetic structure of white oaks throughout the European continent: Genetics, 146: 1475-1487.

–Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, J. 1992. Analysis of molecular variances among DNA restriction data. Genetics, 131: 479-491.

–Frankel, O.H. and Soulé, M.E., 1981. Conservation and Evolution. Cambridge University Press, Cambridge, Massachusetts.

–Fujii, N., Tomaru, N., Okuyama, K., Koike, T., Mikami, T. and Ueda, K., 2002. Chloroplast DNA phylogeography of *Fagus creneta* (Fagaceae) in Japan. Plant Systematics and Evolution, 232: 21-33.

–Gao, L., Moller, M.M., Zhang, X.M., Hollingsworth, M.L., Liu, J., Mill, R.R., Gibby, M. and Li, D.Z. 2007. High variation and strong phylogeographic pattern among cpDNA haplotypes in *Taxus wallichiana* (Taxaceae) in China and North Vietnam. Molecular Ecology, 16: 4684–4698.

–Ge, X.J., Zhou, X.L., Li, Z.C., Hsu, T.W., Schaal, B.A. and Ching, T.Y., 2005. Low genetic diversity and significant population structuring in the relict *Amentotaxus argotaenia* complex (Taxaceae) base on ISSR fingerprinting. Journal of Plant Research, 118: 415–422.

–Gower, J.C., 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. Biometrika, 53: 325-338.

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

–Petit, R.J., 1999. Diversité Génétique et Historie des Populations d' Arbres Forestiers. Dossier d' habilitaion à diriger des recherches Université de Paris- Sud Université Formation de Recherche Scientifique d' Orsay Paris, 59 p.

–Resaneh, y., Moshtagh, M. and Salehi, P., 2001. Quality and quantity investigation of Hyrcanian forests. International Symposium of Hyrcanian Forests Management and Sustainbility, p: 55-79. (In Persian).

–Rauch, E.M. and Bar-Yam, Y., 2005. Estimating the total genetic diversity of a spatial field population from a sample and implications of its dependence on habitat area. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 102: 9826–9829.

–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. Journal of Forest Genetics, 9: 297-297.

–Salehi Shanjani, P., Vettori, C., Giannini, R. and Khavari-Nejad, R.A., 2004. Intraspecific variation and geographic patterns of *Fagus orientalis* Lipsky chloroplast DNA. Silveae Genetica, 53: 193-197.

–Salvini, D., Anzidei, M., Fineschi, S., Malvoti, M.E., Taurchini, D. and Vendramin, G.G., 2001. Low genetic differentiation among Italian populations of *Populus tremula* L. (Salicacea) estimated using chloroplast PCR-RFLP and microsatellite markers. Forest Genetics, 8: 81-87.

–Schneider, S., Kueffer, J., Roessli, D. and Excoffier, L., 1997. Arlequin ver 11: software for population genetic data analysis Genetic and Biometry. Laboratory University of Geneva.

–Tamura, K., Dudley J., Nei M. and Kumar, S., 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. Mol Biology and Evolution, 24: 1596-1599

–Vettori, C., Vendramin, G.G., Anzidei, M., Pastorelli, R., Paffetti, D. and Giannini, R., 2004. Geographic distribution of chloroplast variation in Italian populations of beech (*Fagus sylvatica* L.). Theoretical and Applied Genetics, 109(1):1-9.

–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(4), 561-570.

–Wang, K.S., 2004. Gene flow in European beech (*Fagus Sylvatica* L.). Genetica, 122: 105-113.

–Wright, S., 1943. Isolation by distance. Genetics, 28: 114-138.

–Wright, S., 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. Genetics, 31: 39-9.

–Habibi, H., 1985. Investigation on soil of beech forests in Iran and its role on development of different type of beech forests. Iranian Journal of Natural Resources, 39: 6–18.

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

–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. Vegetation, 107/108: 281-297.

–Magri, D., Vendramin, G.G., Comps, B., Dupanloup, I. and Geburek, T., 2006. A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences**.** New Phytologist, 171: 199-221.

–Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. Cancer Research, 27**:**209–220.

–Marvie-Mohadjer, M.R., 1976. Some quantitative characteristics of Iranian beech forests. Iranian Journal of Natural Resources, 34: 77-97 (in Persian).

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

–Mobayen, S. and Tregubov, V., 1969. The vegetative map of Iran, No 14. Tehran University, Tehran, p 50.

–Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583-590.

–Ningre, F., and Colin, F., 2007. Frost damage on the terminal shoot as a risk factor of fork incidence on common beech (*Fagus sylvatica* L.). Annals of Forest Science, 64: 79-86.

–Parsapajouh, D., 1976. Research on physical characteristics of Iranian beech timbers in different growing stations. Iranian Journal of Natural Resources, 34:21–34. (in Persian).

–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.

–Perrie, L.R. and Brownsey, P.J., 2005. Insights into the biogeography and polyploid evolution of New Zealand *Asplenium* from chloroplast DNA sequence data. American Fern Journal, 95: 1-21.

–Petit, R., Kremer, A. and Wagner, D.B., 1993. Geographic structure of chloroplast DNA polymorphisms in European oaks. Theoretical and Applied Genetics, 87: 122-128.

Haplotypic variation in forked and monopodial beech (*Fagus orientalis* Lipsky) tree groups using chloroplast simple sequence repeat (cpSSR) markers

P. Salehi Shanjani[1*] and M.H. Asareh[2]

1*- Corresponding author, Asist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran, E-mail: psalehi1@gmail.com
2- Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran

Received:.05.23.2010 Accepted:.04.04.2011

Abstract

For the past 30 years or so, Iranian foresters have attempted to improve management of broad-leaved stands of Hyrcanian forests, of which beeches are among the most important species. Silviculture of beech requires skill, and the slightest error can cause reduced quality, often as a result of the formation of forks on the stem. This phenomenon can be related to species suggesting that there may be genetic determination in some species; and linked to external elements, which is improvable by appropriate management. Aim of this work is the investigation of a possible relation between the variability of the trunk morphology and the genetic variation. Based on two polymorphic chloroplast microsatellites that had been previously identified and sequence characterized, genetic variation was studied in a total of 176 individuals from the forked and monopodial beech (*Fagus orientalis* Lipsky) tree groups in 13 oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky) populations distributed all over the natural range in Hyrcanian forests. We found six and two different length variants at each locus, respectively, which combined into ten different haplotypes. Genetic distances between most of the populations were high and significant, whereas not between the forked and monopodial beech tree groups in each population. There is also evidence for spatial organization of the distribution of haplotypes, as shown by permutation tests, which demonstrate that genetic distances increase with spatial distances. Besides, the correlation between morphology and geographical distance matrices was significance (R^2=0.116, P=0.01), indicating existence of a relatively clinal trends in variation of microsatellite loci. A large heterogeneity in levels of diversity across populations was observed, but not between the forked and monopodial beech tree groups in each population. Furthermore, there is good congruence in the levels of allelic richness of the two loci across populations. The present organization of levels of allelic richness across the range of the species did not show any significant differentiation between the forked and monopodial beech tree groups.

Key words*:* Beech, Chloroplast Microsatellites, *Fagus orientalis* Lipsky, Genetic variation, Hyrcanian forests.