

## بررسی تنوع ژنتیکی جمیعت‌های مازودار (*Quercus infectoria*) و ویول (IRAP و ISSR) در جنگل‌های زاگرس شمالی براساس نشانگرهای

لیلا علیخانی<sup>۱</sup>، محمدشفیع رحمانی<sup>۲\*</sup>، نقی شبانیان<sup>۳</sup> و هدیه بدخشان<sup>۴</sup>

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

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس ارشد، بیوتکنولوژی گیاهی، آزمایشگاه بیولوژی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان  
پست الکترونیک: rahmanihama@gmail.com

۳- استادیار، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه کردستان

۴- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۲/۱۰

### چکیده

در این مطالعه با استفاده از داده‌های ژنتیکی حاصل از ۱۸ آغازگر توالی‌های تکراری ساده میانی (ISSR) و ۱۰ آغازگر چندشکلی تکثیر شده بین رتروترانسپوزون‌ها (IRAP)، تنوع ژنتیکی به ترتیب ۱۵۰ و ۱۰۹ پایه مازودار (*Quercus infectoria*) و ویول (Q. *infectoria*) از جنگل‌های زاگرس شمالی بررسی شد. در جمیعت‌های Q. *infectoria* از آغازگرها ISSR و IRAP به ترتیب ۲۰۲ و ۱۲۶ نوار تکثیر شد که از این تعداد ۱۹۴ و ۱۳۵ نوار چندشکل بودند. این آغازگرها در ژنوتیپ‌های Q. *libani* به ترتیب ۱۷۹ و ۱۳۴ نوار چندشکل را از مجموع ۱۸۷ و ۱۳۷ نوار تکثیر شده تولید کردند. در سطح گونه، تنوع ژنتیکی بالایی در هر دو گونه آشکار شد. تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) نشان داد که سهم عمدۀ تنوع ژنتیکی کل در گونه‌های مازودار و ویول مربوط به تنوع ژنتیکی درون جمیعت‌هاست. در هر دو گونه، شاخص تنوع ژنی نی برآورد شده براساس آغازگرها ISSR بیشتر از IRAP بود. همبستگی بین فواصل جغرافیایی جمیعت‌ها و فواصل ژنتیکی برآورده شده آنها از دو نشانگر مورد مطالعه معنی دار نبود. که نشان دهنده وجود ارتباط ژنتیکی بین جمیعت‌های جدا از هم این دو گونه از طریق جریان ژنی است. در دندروگرام UPGMA حاصل از تجزیه خوش‌های جمیعت‌های مورد بررسی هر دو گونه در خوش‌هایی مجزا گروه‌بندی شدند که بیانگر کارایی مطلوب این نشانگرها در مطالعه تنوع ژنتیکی بلوط‌هاست.

واژه‌های کلیدی: بلوط، شاخص تنوع ژنی نی، نشانگر مولکولی، تجزیه خوش‌های

اکولوژیکی برای اکوسیستم برخوردار باشد اهمیت بیشتری می‌یابد (Redkina *et al.*, 2008). از چنین جوامع و اکوسیستم‌هایی می‌توان به جنگل‌های بلوط زاگرس شمالی به عنوان مثال اشاره کرد، که اهمیت آن به لحاظ اکولوژیکی به‌خاطر برخورداری از ویژگی‌های پوشش گیاهی نه چندان متراکم جنگل‌های بلوط و بنه، در وجود رودهایی چون کارون، زاینده‌رود و سیمراه بر کسی پوشیده نیست (Namiranian *et al.*, 2007).

### مقدمه

در دهه‌های اخیر حفاظت از تنوع ژنتیکی به یکی از اولویت‌های اصلی برنامه‌های مدیریت اکوسیستم‌های طبیعی تبدیل شده است. مدیریت پایدار جنگل‌ها آگاهی از سطح تنوع ژنتیکی و شناسایی مراکز تنوع ژنتیکی برای حفاظت از آنها به عنوان ذخیره‌گاه‌های ژنتیکی را می‌طلبد (White *et al.*, 2007). این ضرورت در شرایطی که توده‌های طبیعی یک گونه از اهمیت اقتصادی برای جوامع محلی و یا اهمیت

(Mashayekhi *et al.*, 2010) با هدف بررسی تنوع ژنتیکی و انگشت‌نگاری ۵۰ پایه نخبه از نه توده انتخاب شده از چهار پروونانس *Q. suber* واقع در جنوب اسپانیا با استفاده از نشانگرهای SSR و ISSR مشخص شد که مقدار هتروزیگوستی مشاهده شده و تعداد موثر آلل‌ها با محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC) جمعیت‌های مورد مطالعه همبستگی دارد. محققین این گزارش با استفاده از الگوهای بین‌ماهواره‌ای ترسیم دندروگرام، به این نتیجه رسیدند که بدون وجود هیچ گونه رابطه ژنتیکی مشخصی بین مناطق پروونانسی، تنوع ژنتیکی بالایی بین درختان مورد مطالعه وجود دارد (Lopez-Aljorna *et al.*, 2007).

اگرچه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی گونه‌های مختلف بلوط، به ویژه در گونه‌های اروپائی *Quercus ilex* و *Q. robur* با استفاده از نشانگرهای مختلف مبتنی بر DNA، ریخت‌شناختی و بیوشیمیابی به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است، تاکنون هیچ مطالعه‌ای بر روی ژنتیک جمعیت گونه‌های بلوط زاگرس شمالی با استفاده از نشانگرهای مولکولی گزارش نشده است. بنابراین، این تحقیق با هدف بررسی تنوع ژنتیکی بین و درون‌جمعیتی دو گونه مهم جنگلهای زاگرس شمالی (*Q. infectoria*) و (*Q. libani*) با استفاده از نشانگرهای ISSR و IRAP انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

جمعیت‌های هدف این مطالعه از جنگلهای بلوط شهرستان‌های مریوان و بانه، واقع در غرب استان کردستان، انتخاب شدند (جدول ۱). نمونه‌برداری به شیوه جنگل‌گردشی انجام شد و در هر جامعه حداقل ۱۰ پایه سالم (به لحاظ ظاهری) به صورت تصادفی با رعایت حداقل فاصله ۱۰۰ متری (به منظور جلوگیری از نمونه‌گیری از پایه‌های دارای ساختار ژنتیکی مشابه) از هم انتخاب شدند.

از برگ‌های سالم، تازه و جوان به ترتیب ۱۵۰ و ۱۰۹ پایه مازودار و ویول نمونه‌برداری انجام گرفت و نمونه‌ها پس از جدا شدن از پایه مادری تا زمان انتقال به آزمایشگاه در کیسه‌های حاوی سیلیکاژل و در آزمایشگاه تا زمان استخراج DNA در ۴۰°C با نگهداری شدند. با استفاده از روش مبتنی بر CTAB با کمی تغییرات (Doyle & Doyle, 1990) DNA از نمونه‌ها استخراج شد.

ساکنان محلی بر جنگلهای غالباً بلوط زاگرس نگرانی‌ها را در زمینه پایداری منابع ژنتیکی بلوط‌ها، به عنوان مولفه‌های اصلی و ارزشمند این اکوسیستم‌های طبیعی افزایش داده است. مطالعه تغییرپذیری ژنتیکی جوامع مختلف گونه‌های گیاهی برای بی‌بردن به توان سازگاری آنها با محیط و فراوانی جریان ژنی به منظور پیش‌بینی پایداری حیات آنها در آینده بسیار مهم و امری ضروری است (White *et al.*, 2007).

روش‌های سنتی و مرسوم ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی بر استفاده از مشخصه‌های ریخت‌شناختی مبتنی هستند. با استفاده از ترکیبی از انواع نشانگرهای مختلف برخوردار از سازوکار توارث متنوع و تأثیرپذیر از عوامل تکاملی مختلف، می‌توان تصویری جامع‌تر، قابل اعتمادتر و بهتر از تنوع ژنتیکی به دست آورد (Fortini *et al.*, 2009). مطالعه تنوع ژنتیکی با استفاده از صفات ریختاری در بسیاری از گونه‌های درختی گزارش شده است. با وجود این، بهره‌گیری از این صفات به تهابی به دلیل اینکه صفات ریختاری عمده‌تاً تحت تأثیر شرایط محیطی بوده و بسته به مرحله نموی گیاه تغییرپذیرند چندان مورد قبول نیست (Kercher & Sytsma, 2000). به همین دلیل، در سال‌های اخیر از تکنیک‌های مولکولی برای تکمیل نتایج به دست آمده از صفات ریختاری در ارزیابی تنوع ژنتیکی جوامع گیاهی به طور وسیعی استفاده شده است. نشانگرهای مبتنی بر DNA به دلیل برخورداری از توارث بالا و عدم تأثیرپذیری از محیط نسبت به نشانگرهای ریختاری از مزایای متعددی برخوردارند (Duran *et al.*, 2009). در میان نشانگرهای متعدد مبتنی بر DNA از نشانگر توالی تکراری ساده میانی (ISSR) و چندشکلی تکثیرشده بین رتروترانسپوزون‌ها (IRAP) (که وابسته به واکنش زنجیره‌ای پلیمراز هستند)، در مطالعات ژنتیکی استفاده شده است. این نشانگرها به دلیل طولانی بودن توالی آغازگرها به لحاظ تکرارپذیری به نشانگرهای ریزماهواره‌ای شبیه‌اند (Kalender *et al.*, 1999).

با ارزیابی تنوع ژنتیکی ۴۵ پایه برگ‌رفته از هشت جمعیت از جوامع بلوط ایرانی استان چهارمحال و بختیاری با استفاده از نشانگر چندشکلی طول قطعات تکثیرشده (AFLP) تنوع ژنتیکی درون‌جمعیتی بالایی در جمعیت‌های یادشده آشکار شد. از ۳۹۸ نوار تکثیرشده با ۱۳ ترکیب آغازگرهای AFLP این گزارش، ۳۷۱ نوار چندشکل بودند

جدول ۱- منشأ جغرافیایی جمعیت‌ها و تعداد پایه‌های نمونه‌برداری شده

جمعیت	شاخص	ارتفاع از سطح دریا (متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	تعداد پایه	مازودار	ویول
کال	CA	۱۳۵۰-۱۴۷۰	۴۶° ۱۰' ۴۳"	۲۵° ۲۵' ۲۷"	-	۱۸	-
گمارلنگ	GL	۱۲۸۰-۱۶۰۰	۴۶° ۱۷' ۴۹"	۲۵° ۳۴' ۲۱"	۱۰	۲۰	۱۰
دویسه	DW	۱۴۰۰-۱۶۰۰	۴۶° ۱۸' ۳۳"	۲۵° ۳۶' ۲۱"	۱۲	۱۰	۱۲
قامیشه	GM	۱۵۰۰-۱۷۰۰	۴۶° ۱۵' ۴۵"	۲۵° ۴۰' ۲۸"	۱۵	۱۹	۱۵
کنده‌سوره	KD	۱۳۶۰-۱۴۸۰	۴۵° ۴۸' ۴۶"	۲۵° ۵۰' ۳۲"	۱۳	۱۴	۱۳
بلکه	BL	۱۳۷۰-۱۵۰۰	۴۵° ۶۴' ۴۹"	۲۵° ۵۱' ۲۴"	۱۴	۱۸	۱۴
ههواره‌خوول	HA	۱۶۰۰-۱۸۵۰	۴۶° ۰۰' ۴۹"	۲۵° ۵۶' ۲۴"	۱۲	۱۲	۱۲
آرمده	AR	۱۶۰۰-۱۸۰۰	۴۵° ۴۴' ۴۷"	۲۵° ۵۵' ۲۳"	۱۰	۱۰	۱۰
تازان	TJ	۱۴۱۰-۱۵۱۰	۴۵° ۴۶' ۴۸"	۲۵° ۵۶' ۲۶"	۱۳	۱۸	۱۳
سالوک	SL	۱۳۵۰-۱۴۸۰	۴۵° ۴۸' ۴۹"	۲۵° ۵۸' ۲۵"	۱۰	۱۱	۱۰
کل					۱۰۹	۱۵۰	

به منظور برآورد پارامترهای ژنتیکی با فرض وجود تعادل هاردی-وینرگ تجزیه و تحلیل شدند. این پارامترها شامل درصد نوارهای چندشکل (PPB%), هتروزیگوستی مورد انتظار (h) یا شاخص تنوع ژنی نی (Nei, 1978)، شاخص اطلاعات شانون (I) (Lewontin, 1972) و ضریب تمایز ژنتیکی ( $G_{ST}$ ) بودند. فاصله ژنتیکی (D) بین جمعیت‌ها با استفاده از مدل ارائه شده توسط نی (Nei, 1978) محاسبه شد. برآورد جریان ژنی ( $N_m$ ) بین جمعیت‌ها براساس تابع Slatkin & Barton, 1989  $N_m = (1 - G_{ST})/4G_{ST}$  محضی (40 میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر نمونه DNA ژنومی ( $Mg^{2+}$ , ۱/۸ میلی مولار dNTP و یک واحد تک‌پلیمراز) و ۱۵۰ میکرومولار آب دیونیزه انجام شد. محصولات PCR در ژل میکروولیتر آب تفکیک و پس از رنگ‌آمیزی نوارهای DNA با محلول ۱/۰ درصد اتیدیوم بروماید، با استفاده از دستگاه ژل داکیومنت نوارهای تکثیریافتۀ آشکارسازی شدند.

### نتایج

از ۱۸ آغازگر ISSR و ۱۰ آغازگر IRAP مورد استفاده در ۱۵۰ ژنوتیپ مازودار به ترتیب ۲۰۲ و ۱۳۶ و در ۱۰۹ ژنوتیپ ویول به ترتیب ۱۸۷ و ۱۳۷ نوار قابل نمره‌دهی تکثیر شد. در ژنوتیپ‌های مازودار از نوارهای تکثیر شده از آغازگرهای ISSR ۱۹۴ نوار (۹۶/۵۳ درصد) و از نوارهای

### تجزیه و تحلیل آغازگرهای ISSR و IRAP

از میان ۳۱ آغازگر ISSR مورد غربالگری اولیه، ۱۸ آغازگر دارای نوارهای واضح و قابل نمره‌دهی برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در کل مطالعه انتخاب شدند (جدول ۳). همه ۱۰ آغازگر Kalendar et IRAP (1999) به دلیل تکثیر نوارهای قابل نمره‌دهی مورد استفاده قرار گرفتند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با حجم نهایی ۱۰ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر نمونه DNA ژنومی (۴۰ نانوگرم)، ۳ میکرولیتر مسترکیت ۱/۸ میلی مولار

۱۵۰ میکرومولار آب دیونیزه انجام شد. محصولات PCR در ژل میکروولیتر آب تفکیک و پس از رنگ‌آمیزی نوارهای DNA با محلول ۱/۰ درصد اتیدیوم بروماید، با استفاده از دستگاه ژل داکیومنت نوارهای تکثیریافتۀ آشکارسازی شدند.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

با توجه به غالب بودن نشانگرهای IRAP و ISSR، هر نوار به عنوان فنوتیپ یک مقر ژنی دوآلی در نظر گرفته شد (Williams et al., 1990). نمره‌دهی نوارهای واضح به کمک نرم‌افزار تجزیه و تحلیل تصاویر ژل داکیومنت به صورت ۱ و صفر نمره‌دهی شدند. داده‌های ژنتیکی با استفاده (Peakall & Smouse, 2006) GenAIEx از نرم‌افزار

تکثیرشده از آغازگرهای ISSR ۱۷۹ نوار (۹۹/۷ درصد) و از نوارهای تکثیرشده از آغازگرهای IRAP ۱۳۴ نوار (۹۷/۹۵ درصد) چندشکل بودند (جدول ۲).

در سطح گونه چندشکل بودند (جدول ۲). در مقابل در ژنوتیپ‌های ویول از نوارهای تکثیرشده از آغازگرهای

جدول ۲- آغازگرهای ISSR و IRAP مورد استفاده و اطلاعات چندشکلی برآورده شده از آنها

h	<i>Q. libani</i>		<i>Q. infectoria</i>			توالی ۳ → ۵	آغازگر
	PL (%)	PB/TB	H	PL (%)	PB/SB		
۰/۲۶	۱۰۰	۱۵/۱۵	۰/۴۵	۹۱/۶	۱۱/۱۲	AGAGAGAGAGAGAGAGT	UBC 807
۰/۲۴	۱۰۰	۱۰/۱۰	۰/۳۹	۱۰۰	۹/۱۰	AG AGAGAGAGAGAGAGC	UBC 808
۰/۲۵	۱۰۰	۱۴/۱۴	۰/۳۲	۱۰۰	۱۱/۱۱	AGAGAGAGAGAGAGAGG	UBC 809
۰/۲۳	۱۰۰	۱۰/۱۰	۰/۲۹	۱۰۰	۱۰/۱۰	GAGAGAGAGAGAGAGAC	UBC 811
۰/۲۲	۸۸/۸	۸/۹	۰/۲۴	۱۰۰	۱۱/۱۱	GAGAGAGAGAGAGAGAA	UBC 812
۰/۲۶	۱۰۰	۱۴/۱۴	۰/۳۵	۱۰۰	۱۳/۱۳	CACACACACACACACAG	UBC 818
۰/۲۴	۱۰۰	۱۴/۱۴	۰/۳۱	۱۰۰	۱۴/۱۴	GTGTGTGTGTGTGTGTT	UBC 821
۰/۲۹	۶۶/۶	۴/۶	۰/۴۲	۱۰۰	۱۲/۱۲	ACACACACACACACACT	UBC 825
۰/۲۷	۸۷/۵	۷/۸	۰/۲۹	۱۰۰	۱۲/۱۲	AGAGAGAGAGAGAGAGYT	UBC 834
۰/۲۵	۱۰۰	۱۳/۱۳	۰/۲۲	۹۲/۸	۱۳/۱۴	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	UBC 840
۰/۲۳	۱۰۰	۸/۸	۰/۳۸	۱۰۰	۹/۹	GAGAGAGAGAGAGAGYC	UBC 841
۰/۴۴	۱۰۰	۹/۹	۰/۴۶	۱۰۰	۱۰/۱۰	TCTCTCTCTCTCTCRT	UBC 853
۰/۲۲	۸۸/۸	۸/۹	۰/۳۵	۸۷/۳	۷/۸	ACCACCACCACCACCACC	UBC 861
۰/۴۰	۱۰۰	۸/۸	۰/۳۹	۱۰۰	۱۲/۱۲	CTCCTCCTCCTCCTCCTC	UBC 866
۰/۲۷	۷۷/۷	۷/۹	۰/۳۱	۹۴/۴	۱۷/۱۸	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	UBC 868
۰/۴۱	۱۰۰	۸/۸	۰/۳۳	۸۷/۳	۷/۸	GACAGACAGACAGACA	UBC 873
۰/۲۷	۹۲/۳	۱۲/۱۳	۰/۳۱	۸۱/۸	۹/۱۱	CAGCAGCAGCAGCAG	nIssr1
۰/۳۰	۱۰۰	۱۰/۱۰	۰/۴۰	۱۰۰	۷/۷	AGGGAGAGGAGGAGGAGG	nIssr3
۰/۲۳	۹۹/۷		۰/۳۵	۹۶/۴	-	میانگین	
						IRAP	
۰/۲۳	۱۰۰	۱۹/۱۹	۰/۲۳	۱۰۰	۱۸/۱۸	CACGATTCACCTTAATATCTGACA	Hana
۰/۲۷	۹۴/۴۴	۱۷/۱۸	۰/۲۵	۱۰۰	۱۴/۱۴	TAACCGCTAGGGTCGTAACA	Gagi
۰/۴۰	۱۰۰	۱۰/۱۰	۰/۳۱	۹۹/۳۳	۱۴/۱۵	GGGAACCAACCGTCACA	Gaga
۰/۲۷	۱۰۰	۱۳/۱۳	۰/۲۶	۱۰۰	۱۱/۱۱	ACAACCTTATACGGGATCTCCGTT	5'LTR1
۰/۳۱	۱۰۰	۱۳/۱۳	۰/۲۸	۱۰۰	۱۲/۱۲	CTTAATACGGGATCTCCTTACTA	5'LTR2
۰/۳۰	۱۰۰	۱۳/۱۳	۰/۲۸	۱۰۰	۱۲/۱۲	CTCGCTGCCACACATCAACCGCGTTA	LTR6149
۰/۲۷	۱۰۰	۱۲/۱۲	۰/۳۱	۱۰۰	۱۲/۱۲	ATGTACACACCTATGTATCTGTACCCGGC	LTR6150
۰/۳۱	۹۲/۲	۱۲/۱۳	۰/۲۵	۱۰۰	۱۲/۱۲	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCCAACAA	3'LTR
۰/۳۶	۹۲/۸۵	۱۳/۱۴	۰/۲۴	۱۰۰	۱۲/۱۲	GATAGGGTCGCATCTGGCGTGAC	Sukkula
۰/۳۰	۱۰۰	۱۲/۱۲	۰/۲۳	۱۰۰	۱۵/۱۵	CGCATTGTTCAAGCCTAAACC	Nikita
۰/۳۰	۹۷/۹۵		۰/۲۶	۹۹/۹۳	-	میانگین	

\*PB: تعداد نوار چندشکل؛ SB: تعداد نوار قابل نمره‌دهی؛ PL: درصد چندشکلی؛ /: شاخص تنوع ژنتی نی

نshanگرهای ISSR و IRAP به ترتیب ۰/۳۲ و ۰/۲۵ و در جمعیت‌های ویول ۰/۲۴ و ۰/۳۰ محسوبه شد (جدول ۳). براساس پارامترهای ژنتیکی مورد مطالعه بر مبنای آغازگرهای ISSR و IRAP از ۱۰ جمعیت موردنطالعه مازودار، جمعیت گمارلنگ (PPB%) دارای بیشترین تنوع ژنتیکی بود. در ویول، جمعیت تازان بیشترین تنوع ژنتیکی را نشان داد (جدول ۳). فراوانی جریان ژنی (Nm) برآورده شده براساس آغازگرهای ISSR و IRAP در جمعیت‌های مازودار به ترتیب برابر با ۰/۲۱ و ۰/۲۶ و در جمعیت‌های ویول به ترتیب برابر با ۰/۲۲ و ۰/۲۴ پایه در هر نسل بود (جدول ۳). ضریب تمایز ژنتیکی ( $G_{ST}$ ) به دست آمده از آغازگرهای ISSR و IRAP بین جمعیت‌های مازودار به ترتیب ۰/۲۳ و ۰/۲۷ بود. این شاخص بین جمعیت‌های ویول ۰/۲۷ (ISSR) و ۰/۱۹ (IRAP) برآورد شد (جدول ۴).

تجزیه واریانس مولکولی (AMOVA) براساس داده‌های ژنتیکی مبتنی بر دو نشانگر ISSR و IRAP نشان داد که به ترتیب ۲۱ و ۳۰ درصد از تنوع ژنتیکی کل در *Q. infectoria* ناشی از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها و مابقی آن به تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های این گونه ISSR مربوط می‌شود. در *Q. libani* نیز براساس نشانگر ۲۵ درصد و براساس نشانگر ۱۸ IRAP ۱۸ درصد از تنوع ژنتیکی کل ناشی از تنوع ژنتیکی بین جمعیت‌ها بود (جدول ۵).

در جدول ۶ فاصله ژنتیکی بین جفت جمعیت‌ها براساس دو نشانگر ISSR و IRAP نشان داده شده است. براساس آزمون مانتل در هر دو گونه همبستگی بین فاصله ژنتیکی جفت جمعیت‌ها با فاصله جغرافیایی آن‌ها براساس داده‌های ISSR و IRAP معنی‌دار نبود (شکل‌های ۱ و ۲). براساس این روش، با استفاده از هر دو نشانگر ۱۰ جمعیت *Q. infectoria* در شش خوش‌تفکیک شدند (شکل ۳). بر همین اساس، تجزیه خوش‌های داده‌های هر دو نشانگر جمعیت‌های ویول را نیز در شش خوش‌هه گروه‌بندی کرد (شکل ۳). کارایی دو نشانگر ISSR و IRAP در آشکارسازی تنوع ژنتیکی مقایسه شد (جدول ۷).

بیشترین و کمترین مقدار شاخص تنوع ژنی (h) براساس آغازگرهای ISSR به ترتیب در UBC853 (۰/۴۴) و UBC812 (۰/۲۲) و براساس آغازگرهای IRAP به ترتیب در Gaga (۰/۳۱) Hana (۰/۲۳) ثبت شد. تعداد نوار تکثیرشده از آغازگرهای ISSR و IRAP به ترتیب با میانگین ۱۰/۴۱ و ۱۳/۶ نوار بسته به آغازگر تفاوت چشم‌گیری داشت، به طوری که این تعداد از ۷ nIssr3 در مازودار) تا ۱۸ UBC868 (در مازودار) در ISSR و az ۱۰ Gaga (در مازودار) تا ۱۹ در Hana (در ویول) در IRAP متفاوت بود (جدول ۲). در سطح جمعیت در ژنوتیپ‌های مازودار براساس آغازگرهای ISSR، درصد نوارهای چندشکل با میانگین ۶۹/۸ درصد از ۶۰/۴ (ههواره‌خول) تا ۸۵/۶ درصد (گمارلنگ) و براساس آغازگرهای IRAP با میانگین ۵۶/۹۹ درصد از ۴۴/۸ (ههواره‌خول) تا ۶۶/۹ درصد (گمارلنگ) متفاوت بود. به طور مشابه درصد نوارهای چندشکل در ژنوتیپ‌های ویول نیز براساس آغازگرهای ISSR با میانگین ۵۲/۶۴ درصد از ۴۴/۴ (آرمده) تا ۶۰/۹ درصد (دویسه) و براساس آغازگرهای IRAP با میانگین ۶۸/۶۹ درصد از ۵۱/۰ (گمارلنگ) تا ۸۶/۹ درصد (بلکه) متفاوت بود.

شاخص تنوع ژنی (h) در ژنوتیپ‌های مازودار براساس نشانگر ISSR با میانگین ۰/۲۱ در سطح جمعیت و ۰/۲۷ در سطح گونه، از ۰/۱۸ (ههواره‌خول) تا ۰/۲۶ (گمارلنگ) و براساس نشانگر IRAP با میانگین ۰/۱۶ در سطح جمعیت و ۰/۲۱ در سطح گونه، از ۰/۱۳ (ههواره‌خول) تا ۰/۱۹ (گمارلنگ) متفاوت بود (جدول ۳). در ژنوتیپ‌های ویول در سطح جمعیت میانگین h براساس آغازگر ISSR ۰/۱۶ و در سطح گونه ۰/۲۳ با دامنه ۰/۱۳ (کنده‌سوره) تا ۰/۲۰ (تازان) برآورد شد. میانگین این شاخص براساس آغازگرهای IRAP در سطح جمعیت ۰/۱۹ و در سطح گونه ۰/۲۴ با دامنه ۰/۱۴ (کنده‌سوره) تا ۰/۲۲ (سالوک) ثبت شد. میانگین شاخص اطلاعات شانون (I) براساس آغازگرهای ISSR و IRAP در ژنوتیپ‌های مازودار به ترتیب ۰/۴۲ و ۰/۳۵ و ۰/۳۸ در ژنوتیپ‌های ویول ۰/۳۶ و ۰/۳۸ برآورد شد؛ در سطح جمعیت این میانگین در مازودار براساس

جدول ۳- تجزیه تنوع ژنتیکی \* ISSR و IRAP در جمعیت‌های *Q. libani* و *Q. infectoria*

<i>Nm</i>		I		<i>H<sub>E</sub></i>		PPL		جمعیت
IRAP	ISSR	IRAP	ISSR	IRAP	ISSR	IRAP	ISSR	<i>Q. infectoria</i>
۰/۲۶	۰/۳۳	۰/۱۷	۰/۲۲	۶۱/۰	۷۳/۳	CA		
۰/۲۹	۰/۳۹	۰/۱۹	۰/۲۶	۶۶/۹	۸۵/۶	GL		
۰/۲۷	۰/۳۳	۰/۱۷	۰/۲۱	۶۱/۷	۶۷/۳	DW		
۰/۲۳	۰/۲۹	۰/۱۵	۰/۱۹	۵۵/۱	۶۹/۳	GM		
۰/۲۷	۰/۲۱	۰/۱۸	۰/۲۱	۵۵/۸	۷۰/۳	KD		
۰/۲۵	۰/۳۳	۰/۱۶	۰/۲۱	۶۰/۳	۷۲/۷	BL		
۰/۲۰	۰/۳۳	۰/۱۳	۰/۱۸	۴۴/۸	۶۰/۴	HA		
۰/۲۵	۰/۲۸	۰/۱۶	۰/۱۹	۵۰/۷	۶۱/۴	AR		
۰/۱۹	۰/۳۴	۰/۱۲	۰/۲۲	۵۴/۴	۷۴/۷	TJ		
۰/۲۶	۰/۲۹	۰/۱۶	۰/۱۹	۵۸/۸	۶۲/۹	SL		
۰/۲۵	۰/۳۲	۰/۱۶	۰/۲۱	۵۶/۹۹	۶۹/۸	<i>H<sub>Po</sub></i>		
۰/۲۶	۰/۲۱	۰/۳۵	۰/۴۲	۰/۲۱	۰/۲۷	۹۹/۲۶	۹۶/۵۲	<i>H<sub>Sp</sub></i>
<i>Q. libani</i>								
۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۱۷	۰/۱۴	۵۱/۰	۴۵/۹	GL		
۰/۳۱	۰/۲۷	۰/۲۰	۰/۱۷	۷۴/۴	۶۰/۹	DW		
۰/۳۲	۰/۲۷	۰/۲۱	۰/۱۷	۶۷/۲	۵۷/۲	GM		
۰/۲۳	۰/۲۰	۰/۱۴	۰/۱۳	۵۶/۹	۴۵/۵	KD		
۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۲	۰/۱۶	۸۶/۹	۵۷/۷	BL		
۰/۳۰	۰/۲۵	۰/۱۹	۰/۱۶	۶۴/۹	۵۴/۵	HA		
۰/۳۲	۰/۲۲	۰/۲۱	۰/۱۴	۷۲/۹	۴۴/۴	AR		
۰/۳۳	۰/۳۰	۰/۲۰	۰/۲۰	۷۳/۷	۶۰/۴	TJ		
۰/۳۳	۰/۲۲	۰/۲۲	۰/۱۴	۷۰/۰	۴۷/۰	SL		
۰/۳۰	۰/۲۴	۰/۱۹	۰/۱۶	۶۸/۶۹	۵۲/۶۴	<i>H<sub>Po</sub></i>		
۰/۲۴	۰/۲۲	۰/۳۸	۰/۳۶	۰/۲۴	۰/۲۳	۹۸/۵۴	۹۵/۱۹	<i>H<sub>Sp</sub></i>

\*: PPL درصد لوکوس‌های چندشکل؛ *H<sub>E</sub>*: هتروزیگوستی مورد انتظار؛ I: شاخص اطلاعات شانون؛ *H<sub>Po</sub>*: میانگین در سطح جمعیت؛ *H<sub>Sp</sub>*: میانگین در سطح گونه

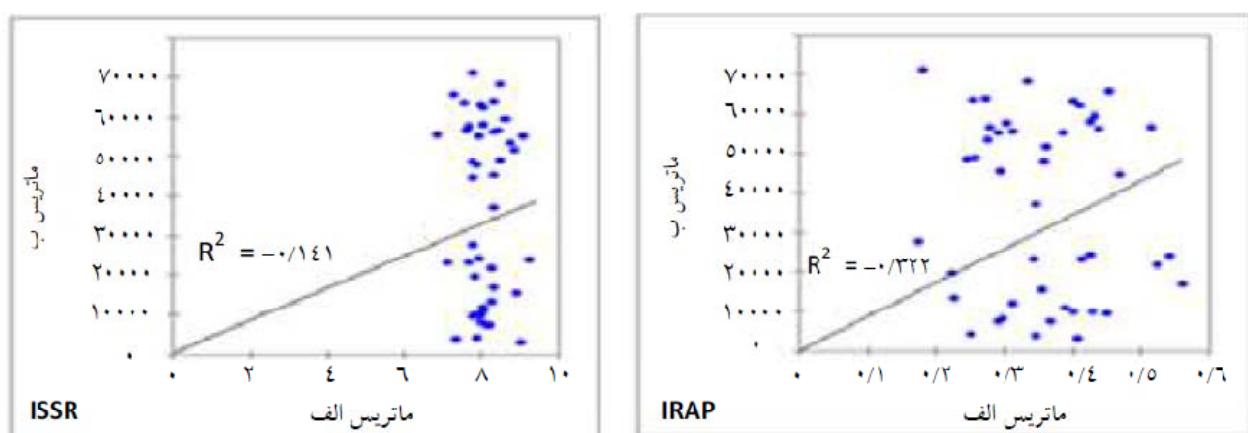
جدول ۴- برآورد پارامترهای تنوع ژنتیکی ISSR و IRAP در سطح گونه *Q. libani* و *Q. infectoria*

(H <sub>Sp</sub> - H <sub>Po</sub> )/H <sub>Sp</sub> )	ISSR	G <sub>ST</sub>		گونه
		IRAP	IRAP	
۰/۲۸	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۲۳	<i>Q. infectoria</i>
۰/۲۱	۰/۳۳	۰/۱۹	۰/۲۷	<i>Q. libani</i>

جدول ۵- تجزیه AMOVA در گروهیت‌های *Q. libani* و *Q. infectoria* با استفاده از نشانگرهای ISSR و IRAP

$\Phi_{pt}$	PV%	VC	MS	SS	df	منبع تغییرات
<i>Q. infectoria</i>						
ISSR						
۰/۲۱	۲۱	۷/۱۹	۱۳۳/۹**	۱۲۰۵/۶	۹	بین گروهیتی
	۷۹	۲۶/۸	۲۶/۸	۳۷۵۹/۱	۱۴۰	درون گروهیتی
IRAP						
۰/۳۰	۳۰	۵/۹	۱۰۱/۷**	۹۱۵/۵	۹	بین گروهیتی
	۷۰	۱۲/۸	۱۳/۷	۱۹۲۷/۵	۱۴۰	درون گروهیتی
<i>Q. libani</i>						
ISSR						
۰/۲۵	۲۵	۶/۲	۹۳/۷**	۷۴۹/۳	۸	بین گروهیتی
	۷۵	۱۸/۴	۱۸/۴	۱۸۳۸/۲	۱۰۰	درون گروهیتی
IRAP						
۰/۱۷	۱۸	۳/۷	۶۲/۱**	۴۹۶/۹	۸	بین گروهیتی
	۸۲	۱۷/۲	۱۷/۲	۱۷۲۵/۲	۱۰۰	درون گروهیتی

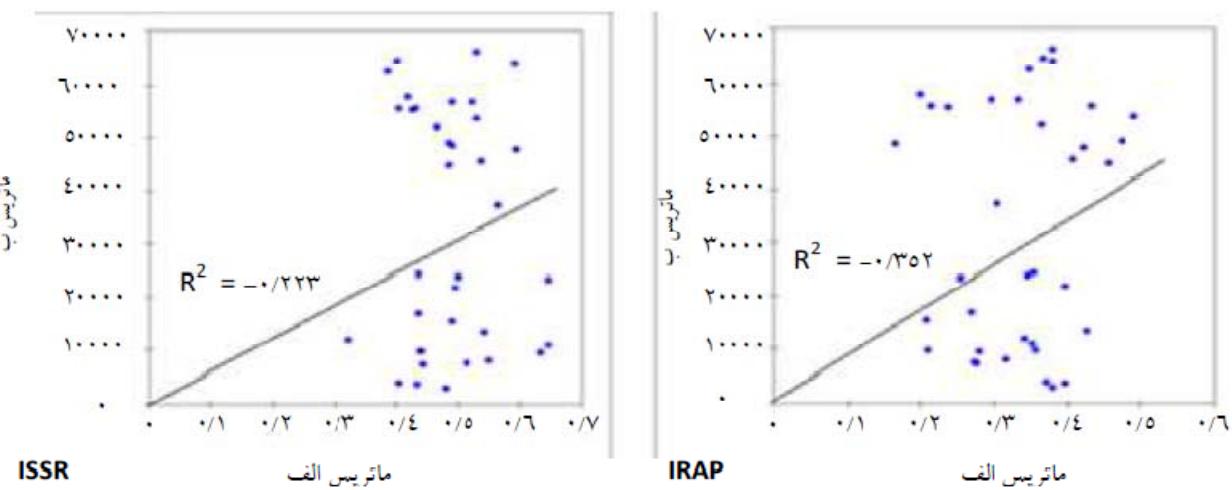
df: درجه آزادی؛ SS: مجموع مربعات؛ MS: میانگین مربعات؛ VC: اجزاء واریانس؛ PV%: درصد اجزاء واریانس؛  $\Phi_{pt}$ : تمايز ژنتیکی بین گروهیت‌ها

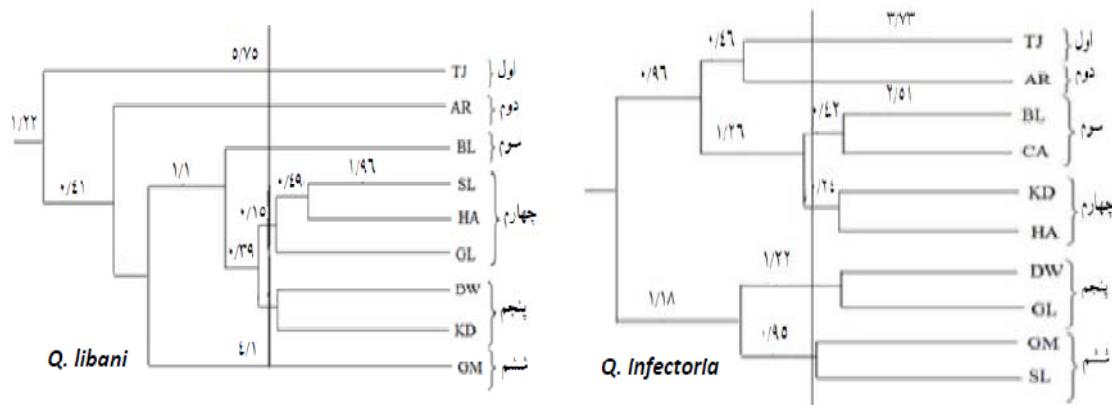
شکل ۱- همبستگی بین فواصل ژنتیکی و جغرافیایی گروهیت‌های *Q. infectoria* براساس نشانگرهای ISSR و IRAP

جدول ۶- فواصل ژنتیکی ناریب‌نی میان جفت جمعیت‌های *Q. libani* و *Q. infectoria* با استفاده از نشانگرهای ISSR و IRAP

SL	TJ	AR	HA	BL	KD	GM	DW	GL	CA	فاصله ژنتیکی
<i>Q. infectoria</i>										
۰/۰۳۴	۰/۰۳۵	۰/۰۸۲	۰/۰۷۳	۰/۰۴۳	۰/۰۸۰	۰/۰۷۹	۰/۰۵۷	۰/۰۵۷	----	CA
۰/۱۴۰	۰/۱۰۴	۰/۱۱۹	۰/۰۵۲	۰/۱۱۵	۰/۰۹۹	۰/۰۵۷	۰/۰۵۷	----	۰/۱۲۳	GL
۰/۱۰۴	۰/۰۵۵	۰/۰۷۷	۰/۰۹۰	۰/۰۵۳	۰/۰۵۳	۰/۰۹۰	----	۰/۰۹۱	۰/۰۶۹	DW
۰/۱۰۵	۰/۱۴۰	۰/۱۶۷	۰/۱۰۰	۰/۱۴۸	۰/۱۳۷	----	۰/۰۶۰	۰/۰۵۵	۰/۱۴۷	GM
۰/۰۵۴	۰/۰۳۴	۰/۰۴۷	۰/۰۹۶	۰/۰۳۵	----	۰/۰۹۷	۰/۰۶۲	۰/۰۸۳	۰/۰۶۳	KD
۰/۰۳۵	۰/۰۲۴	۰/۰۲۶	۰/۰۷۴	----	۰/۰۶۷	۰/۱۰۳	۰/۰۷۸	۰/۰۸۶	۰/۰۷۰	BL
۰/۰۵۵	۰/۰۵۴	۰/۰۵۲	----	۰/۰۴۳	۰/۰۷۲	۰/۱۰۱	۰/۰۷۷	۰/۰۶۵	۰/۰۲۹	HA
۰/۰۲۴	۰/۰۴۵	----	۰/۱۳۲	۰/۱۰۲	۰/۱۳۰	۰/۱۴۹	۰/۱۳۰	۰/۱۲۸	۰/۱۳۵	AR
۰/۰۴۵	----	۰/۰۹۶	۰/۱۰۴	۰/۱۰۸	۰/۱۴۰	۰/۱۵۸	۰/۱۰۷	۰/۱۴۳	۰/۱۱۱	TJ
----	۰/۱۰۵	۰/۱۲۸	۰/۱۰۵	۰/۱۲۹	۰/۱۰۰	۰/۰۵۲	۰/۰۸۸	۰/۰۷۲	۰/۱۰۴	SL
<i>Q. libani</i>										
۰/۱۶۷	۰/۱۶۷	۰/۰۸۸	۰/۱۰۲	۰/۰۶۶	۰/۰۴۶	۰/۱۰۰	۰/۰۵۴	----	----	GL
۰/۱۰۶	۰/۱۰۶	۰/۰۶۶	۰/۰۶۸	۰/۰۵۵	۰/۰۴۳	۰/۰۵۹	----	۰/۰۵۶	----	DW
۰/۰۸۷	۰/۰۸۷	۰/۰۶۵	۰/۰۳۵	۰/۰۳۷	۰/۰۴۱	----	۰/۰۴۴	۰/۰۷۲	----	GM
۰/۱۳۳	۰/۱۳۳	۰/۰۶۹	۰/۰۳۳	۰/۰۴۷	----	۰/۰۴۰	۰/۰۴۲	۰/۰۹۲	----	KD
۰/۱۱۰	۰/۱۱۰	۰/۰۳۸	۰/۰۸۶	----	۰/۰۶۱	۰/۰۶۰	۰/۰۶۷	۰/۱۱۱	----	BL
۰/۱۰۸	۰/۱۰۸	۰/۱۱۵	----	۰/۰۷۶	۰/۰۶۴	۰/۰۵۸	۰/۰۲۸	۰/۰۹۹	----	HA
۰/۰۹۰	۰/۰۹۰	----	۰/۱۱۵	۰/۰۷۹	۰/۱۰۰	۰/۱۱۳	۰/۱۰۱	۰/۱۲۵	----	AR
۰/۰۸۷	----	۰/۰۹۷	۰/۱۴۳	۰/۱۰۲	۰/۱۱۴	۰/۰۹۵	۰/۱۱۵	۰/۱۶۶	----	TJ
----	۰/۰۸۹	۰/۰۹۷	۰/۱۴۳	۰/۱۰۲	۰/۱۱۴	۰/۰۹۵	۰/۱۱۵	۰/۱۶۶	----	SL

\*فواصل ژنتیکی نی براساس نشانگر ISSR در بالا و براساس نشانگر IRAP در پایین محور قطری نشان داده شده‌اند

شکل ۲- همبستگی بین فواصل ژنتیکی و جغرافیایی جمعیت‌های *Q. libani* براساس نشانگرهای ISSR و IRAP



شکل ۳- دندروگرام UPGMA روابط ژنتیکی میان جمعیت‌های *Q. libani* و *Q. infectoria* براساس فواصل ژنتیکی به دست آمده از نشانگرهای ISSR و IRAP

جدول ۷- مقایسه نشانگرهای ISSR و IRAP در ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *Q. libani* و *Q. infectoria*

<i>Q. libani</i>		<i>Q. infectoria</i>		نشانگر مولکولی
IRAP	ISSR	IRAP	ISSR	
۱۳۷	۱۸۷	۱۳۶	۲۰۲	تعداد کل نوار قابل نمره‌دهی
۱۳۴	۱۷۸	۱۲۵	۱۹۴	تعداد نوار چندشکل
۹۹/۹۳	۹۹/۷	۹۹/۹۳	۹۶/۴	درصد چندشکلی
۰/۲۹	۰/۳۳	۰/۲۶	۰/۳۵	تنوع ژئی نی
۱۰۰-۴۰۰	۱۰۰-۳۰۰	۱۰۰-۴۰۰	۱۰۰-۲۸۰۰	دامنه اندازه قطعات تکثیر شده
۱۰	۱۸	۱۰	۱۸	تعداد آغازگر

و در سطح گونه ۰/۲۴ بود. نتایج مشابهی از این شاخص در بررسی گونه *Quercus suber* Lopez-Aljorna و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده شد. در بررسی تنوع ژنتیکی درون و بین ۱۲ جمعیت گونه گرمسیری *Hagenia abyssinica* ساخته اطلاعات شانون (I) ۰/۳۰ تا ۰/۵۰ و تنوع ژنتیکی نی ۰/۲۱ تا ۰/۳۵ برآورد شده است (Feyissa et al., 2007). بدین ترتیب نشانگرهای مورد استفاده در این مطالعه در هر دو گونه تنوع ژنتیکی بالایی را آشکار کردند؛ بالا بودن تنوع ژنتیکی در گونه‌های *Quercus* احتمالاً به دلیل سیستم تلاقی آنها، فاصله کم میان توده‌ها و اینتروگرسیون میان گونه‌های یک توده باشد (Lopez-Aljorna et al., 2007). براساس داده‌های ژنتیکی مبتنی بر هر دو آغازگر IRAP و ISSR، تمایز ژنتیکی معنی‌داری بین جمعیت‌های هر دو گونه ول و مازودار مشاهده شد. میزان جریان

بحث  
پی‌بردن به ساختار تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی برای مدیریت پایدار حیات آن‌ها بخصوص در اکوسیستم‌های طبیعی از اهمیت بالایی برخوردار است (White et al., 2007). از مجموع نوارهای تکثیر شده از ۱۸ آغازگر *Q. infectoria* و ۱۰ آغازگر ISSR، در بررسی ژنتوتیپ‌های *Q. libani* ۹۶/۵۳ و ۹۹/۹۳ درصد و در ژنتوتیپ‌های *Q. libani* ۹۷/۹۵ و ۹۹/۷ گونه چندشکل بودند (جدول ۳). میانگین تنوع ژئی نی (H<sub>E</sub>) برآورد شده در ژنتوتیپ‌های مازودار براساس نشانگر ISSR در سطح جمعیت ۰/۲۱ و در سطح گونه ۰/۲۶ و براساس نشانگر IRAP در سطح جمعیت ۰/۱۶ گونه ۰/۲۱ برآورد شد. در ژنتوتیپ‌های ول این میانگین براساس ISSR در سطح جمعیت ۰/۱۶ و در سطح گونه ۰/۲۲ و براساس نشانگر IRAP در سطح جمعیت

درجه دوم، حفاظت خارج از محل و ایجاد بانک ژرم پلاسم برای این دو گونه با استفاده از بذر و نهال برگرفته از مناطق مختلف و نگهداری آنها در بانک‌های بذری برای بهره‌برداری از آنها در نسل‌های بعد نیز توصیه می‌شود. بنابراین، داشتن آگاهی از پراکنش و تنوع ژنتیکی نقشی کلیدی در ارائه راهکارهای حفاظتی ایفا می‌کند. براساس نتایج این مطالعه، نمونه‌برداری باید از جمعیت‌های برخوردار از بالاترین تنوع ژنتیکی انجام گیرد.

### منابع مورد استفاده

- Doyle, J.J., and Doyle, J.L., 1990. Isolation of Plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.
- Duran, C.N., Appleby, T., Clark, D., Wood, M., Batley, I.J., and Edwards, D., 2009. AutoSNPdb: an annotated single nucleotide polymorphism database for crop plants. *Nucleic Acids Research*, 37: 951-953.
- Feyissa, T., Nybom, H., Bartish, I.V., and Welander, M., 2007. Analysis of genetic diversity in the endangered tropical tree species *Hagenia abyssinica* using ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54:947-958.
- Fortini, P., Viscosi, V., Maiuro, L., Fineschi, S., and Vendramin, G.G., 2009. Comparative leaf surface morphology and molecular data of five oaks of subgenus *Quercus* Oerst. (Fagaceae)". *Plant Biosystems*, 143: 543-554.
- Hamrick, J.L., and Godt, M.J.W., 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, 351:1291-1298.
- Kalendar, R., Grob, T. Regina, M. Suoniemi A. and Schulman, A., 1999. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 704-711.
- Kercher, S.M., and Sytsma, K.J., 2000. Genetic and morphological variation in populations of the rare prairie annual *Agalinis skinneriana* (Wood) Britton (Scrophulariaceae). *Natural Areas Journal*, 20: 166-175.
- Lewontin, R.C., 1972. Testing the theory of natural selection. *Nature*, 236: 181-182.
- Lopez-Aljorna, A., Bueno, M.A., Aguinagalde, I., and Martin, J.P., 2007. Fingerprinting and genetic variability in cork oak (*Quercus suber* L.) elite trees using ISSR and SSR markers. *Annals of Forest Science*, 64: 773-779.
- Mantel, N., 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27: 209-220.
- Mashayekhi, Sh., Shiran, B., Jahanbazi, H., Houshmand, S.A., Soltani, A., and Sorkheh, K., 2010. Study of genetic variation of *Quercus brantii* in Chaharmahal va Bakhtiari province using AFLP molecular markers. *Journal of Forest and Wood Products (JFWP)*, 63:77-90.

ژئی برآورده شده براساس نشانگرهای ISSR و IRAP در جمعیت‌های مازودار به ترتیب ۰/۲۱ و ۰/۲۶ و در جمعیت‌های ویول به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۲۴ پایه در هر نسل برآورده شد که نشان‌دهنده نرخ پایین مهاجرت در این دو گونه است (جدول ۳). جریان ژئی از طریق پخش‌شدن دانه گرده و بذر اتفاق می‌افتد. مقادیر برآورده شده جریان ژئی از یک کمتر بودند؛ و این میزان مهاجرت اندک می‌تواند از تداوم واگرایی ژنتیکی جمعیت‌ها جلوگیری کند. بهدلیل بادخیز بودن مناطق مورد مطالعه و امکان جابجایی دانه‌های گرده در فواصل طولانی، باد می‌تواند عامل مهمی در تقویت جریان ژئی در بلوط‌ها باشد. با وجود این، در *Q. infectoriae libani* بهدلیل پایین بودن نرخ جوانه‌زنی بذر در جنگل هنوز پایین است، و مقادیر برآورده شده جریان ژئی در این مطالعه این واقعیت را به اثبات رسانده‌اند. از طرف دیگر، به هم خوردن بستر مناسب برای استقرار موفق زادآوری بهدلیل دخالت‌های شدید انسان در جنگل، یکی دیگر از عوامل عدم مشاهده جریان بالای ژئی در جمعیت‌های بلوط جنگل‌های زاگرس شمالی است.

آگاهی از الگوی پراکنش تنوع ژنتیکی پیش‌نیاز پایه‌ریزی اقدامات حفاظتی موثر و کارآمد ذخایر ژنتیکی گونه‌های گیاهی است. هدف نهایی چینن اقداماتی اطمینان از تداوم بقای جمعیت‌های یک گونه و حفظ ظرفیت تکاملی آن‌هاست (Hamrick & Godt, 1996). ساختار ژنتیکی جمعیت‌های *Q. libani* و *Q. infectoriae* را به طور خلاصه می‌توان به این صورت توصیف کرد که تنوع ژنتیکی در سطح جمعیت پایین و در سطح گونه بالاست و بخش عمده تنوع ژنتیکی در درون جمعیت‌ها وجود دارد. همان‌طور که مشخص است عامل اصلی تهدیدکننده بقاء و پایداری این گونه‌ها نبود تنوع ژنتیکی نیست، بلکه دخالت‌های انسانی (مانند بهره‌برداری‌های بیش از حد، تخریب زیستگاه، آلودگی‌های صنعتی، عدم استقرار موفق زادآوری) و نظام تولید مثلی این گونه‌ها هستند.

با توجه به خاص‌بودن زیستگاه این دو گونه، حفاظت در محل در درجه اول برای حفظ ذخایر ژنتیکی این گونه‌ها توصیه می‌شود، چراکه زیستگاه‌های مناسب و مطلوب رشد این دو گونه به واسطه فعالیت‌ها و دخالت‌های انسانی و بهره‌برداری‌های بیش از حد تخریب شده‌اند. در

- genotypes in isolated population of pedunculate oak *Quercus robur* L. (Fagaceae). Russian Journal of Genetics, 44: 997-999.
- Slatkin, M., and Barton, N.H., 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. Evolution, 43: 1349-1368.
  - White, T.L., Adams, W.T., and Neale, D.B., 2007. Forest Genetics. CABI Publishing, Cambridge, Massachusetts, USA. 682 pp.
  - Williams, J.G. K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., and Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, 18: 6531-6535.
  - Namiranian, M.A., Henareh Khalyani, Gh., Zahedi Amiri Gh., and Ghazanfari, H., 2007. Study of different restoration and regeneration techniques in northern Zagros (Case study: Armardeh oak forest, Baneh). Iranian Journal of Forests and Poplar Research, 15: 386-397.
  - Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 101: 139-155.
  - Peakall, 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.
  - Redkina, N.N., Mullagulov, R.Y., Yanbaev, Y.A., and Degen, B., 2008. Fine spatial structure of allozyme

## Genetic diversity assessment of *Quercus infectoria* and *Q. libani* populations in North-Zagros forests based on ISSR and IRAP markers

L. Alikhani<sup>1</sup>, M. S. Rahmani<sup>2\*</sup>, N. Shabanian<sup>3</sup>, H. Badakhshan<sup>4</sup>

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

2- Corresponding author: M.Sc. Forest Biology Laboratory, Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I.R.Iran.

E-mail: rahmanihama@gmail.com

3- Assis. Prof., Faculty of Natural Resources, University of Kurdistan, I.R.Iran.

4- Assis. Prof., Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, I.R.Iran.

Received: 12.25.2013

Accepted: 04.30.2014

### Abstract

Eighteen inter-simple sequence repeats (ISSR) and 10 inter-retrotransposal amplified polymorphism (IRAP) markers were applied to investigate the genetic diversity of 150 natural gall oak (*Quercus infectoria*) and 109 Lebanon oak (*Q. libani*) individuals in North-Zagros forests. Among the *Q. infectoria* populations, ISSR and IRAP primers amplified 202 and 136 bands, respectively, of which 194 and 135 bands were polymorphic. While, the primers amplified 178 and 134 polymorphic bands from a total of 187 and 137 amplicones in *Q. libani* genotypes, respectively. High level of genetic diversity at the specific level was revealed in both species. Analysis of molecular variance showed that a major proportion of total genetic diversity belonged to within populations. In both species, the Nie's gene diversity index (*h*) was higher for ISSR than IRAP primers. No significant genetic relationship was detected among genetic distance of the populations and their geographical distribution, demonstrating the genetic relationships among isolated *Q. infectoria* and *Q. libani* populations via gene flow. Cluster analysis grouped the populations of both species into distinct groups, showing efficiency of studied markers to assessment of genetic polymorphism of oaks natural populations.

**Keywords:** Oak, Nie's genetic diversity index, Molecular marker, Cluster analysis.