

تمایز ژنتیکی در میان گروههای درختان بدفرم و خوش فرم راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky)

پروین صالحی شانجانی*، محمد حسن عصاره و محسن کلاگری

تهران، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۱۶

چکیده

پیدایش چنگال بر روی تنه درخت مهم ترین نقص در کیفیت تنه درختان راش است. نقص چنگالی عامل مهمی در کاهش کیفیت چوب است. در برنامه‌های اصلاح درختان، شناخت دلایل پیدایش چنگالها و سهم ژنتیک در آن بسیار مهم است. تمایز ژنتیکی بذور درختان بدفرم (چنگالی) و خوش فرم در هفت توده طبیعی خالص و آمیخته راش در گستره جنگلهای خزری تشریح گردید. در هر توده بذور ده درخت بدفرم و خوش فرم، هر درخت ۷ بذر (در کل ۷۰ بذر)، جمع‌آوری گردید. پس از آزمایش شش جایگاه وراثتی ریزماهوره‌ای (میکروساتلایتی) که در اصل برای گونه *Fagus sylvatica* L. طراحی شده بود، ژنوتیپ هر بذر در چهار جایگاه وراثتی میکروساتلایتی چندشکل مشخص شد. ساختار ژنتیکی جمعیتها براساس میانگین فاصله ژنتیکی بذور هر درخت مطالعه گردید. تمایز جمعیتی متوسط ولی معنی‌داری ($F_{st} = 0.13 - 0.22$) میان بذور درختان بدفرم و خوش فرم وجود داشت. اگرچه ساختار خویشاوندی متمایزی میان بذور ژنوتیپهای بدفرم و خوش فرم مشخص بود، نتایج این تحقیق نشان داد که ساختارهای ژنتیکی جمعیت تحت تأثیر عوامل غیرقابل پیش‌بینی مثل جهت باد در زمان گرده‌افشانی نیز قرار دارد که می‌تواند سال به سال متفاوت باشد. توصیه می‌شود که جمع‌آوری بذر با هدف حفاظت می‌بایست در یک ناحیه وسیع از تعداد زیادی درخت صورت بگیرد تا از کاهش تنوع ژنتیکی و به تبع آن کاهش پتانسیل نسل بعد ممانعت به عمل آید.

واژه های کلیدی: *Fagus orientalis*، میکروساتلایت، تمایز ژنتیکی، راش، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۴۴۵۸۰۲۷۶ پست الکترونیکی: psalehi@gmail.com

مقدمه

متضاد در منابع اشاره شده است: (۱) انتشار گرده به تنهایی کافی است تا گوناگونی جمعیت‌های جنگلی گسترده، از نظر ژنتیکی همگن باشد؛ (۲) فواصل کوتاه انتشار بذر و گرده باعث ایجاد خویشاوندی‌هایی در گروههایی از افراد در این جمعیتها می‌شود (۲۷). نتایج بسیار متفاوتی در این رابطه گزارش شده است. Smouse و همکاران (۲۰۰۱) خویشاوندی بالایی بین درختان *Quercus alba* L. مشاهده نمودند که بر اساس مطالعات آنها حرکت گرده در بلوط در دایره‌ای با شعاع ۱۷ متر بسیار مؤثر است (۴۰). Müller

برخلاف بسیاری از گیاهان دیگر، درختان جنگلی طول عمر (دیرزیستی) زیادی داشته و لزوماً در گیاهانی با چنین شرایطی که می‌بایست ناهمگونی محیطی و فضایی قابل ملاحظه‌ای را تحمل کنند، تنوع ژنتیکی اهمیت زیادی برای استمرار بقاء گونه‌ها دارد. گوناگونی ژنتیکی پیش شرط استمرار بقاء در شرایط ناهمگون زمانی و مکانی پیش‌رو و توانایی حفظ سازگاری برای نسل‌های آینده است (۲۷). با این وجود مکانیسم‌های ایجاد و حفظ این گوناگونی هنوز به خوبی شناخته نشده است. در این رابطه به دو دیدگاه

افزایش یابد (۱۰). یکی از مهم ترین اثرات لقاح درون گروهی در جمعیت‌هایی از گونه‌های دگر لقاح، کاهش سازگاری گونه است (۶). بنابراین یکی از پیش‌شرط‌های ارائه استراتژی‌های جمع‌آوری بذر با هدف حفاظت، آنالیز ساختارهای ژنتیکی مکانی است.

پس از به‌کارگیری میکروساتلایت‌ها به عنوان نشانگرهای خنثی (که به فراوانی در نواحی غیر کدشونده یافت می‌شوند) در مطالعات تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها، Morgante و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که میکروساتلایت‌ها در نسخه‌های رونویسی شده و سایر نواحی تک نسخه‌ای ژنوم گیاهی به فراوانی یافت می‌شوند (۲۲). در ژنوم‌های میکروبی نیز میکروساتلایت‌ها به وفور در ژنهای مقاومت به استرس یافت می‌شوند (۴۴). این یافته‌ها نشان می‌دهد که میکروساتلایت‌ها نشانگر مفیدی نه تنها برای تعیین ساختار ژنتیکی مکانی بلکه برای برآورد و پایش ظرفیت سازگاری جمعیت‌ها نیز کاربرد زیادی می‌توانند داشته باشند (۴۵). با توجه به اینکه فرم درخت و بویژه چنگالی شدن تنه عموماً ناشی از سرمازدگی درخت در سالهای اولیه زندگی است و از آنجایی که پاسخ به سرمازدگی از ویژگی‌های سازگاری محسوب می‌شود (۲۷)، در پژوهش حاضر از نشانگرهای میکروساتلایتی برای بررسی وجود ساختار ژنتیکی مکانی در بذر درختان بدفرم و خوش‌فرم راش استفاده شده است. این موضوع از این جهت اهمیت دارد که می‌تواند به روشن شدن مسئله ژنتیکی بودن چنگالی شدن راش کمک کند. یکی از نگرانی‌هایی که در مورد حفاظت و توسعه پایدار راشستان‌های ایران وجود دارد نحوه نشانه‌گذاری انتخابی جنگلبانان است که با انتخاب پایه‌های خوش‌فرم سعی در اصلاح توده‌ها دارند ولی از طرف دیگر این نوع انتخاب ممکن است باعث فرسایش ژنتیکی توده‌ها شود.

(۱۹۷۷) نیز خویشاوندی بالایی بین درختان *Pinus sylvestris* L. مشاهده نمود (۲۳). درحالی که Linhart و همکاران (۱۹۸۱) نشان دادند که دسته‌هایی از درختان *Pinus ponderosa* Laws. که در فاصله ۳۰ متری از هم قرار دارند می‌توانند فاصله ژنتیکی به بزرگی جمعیت‌هایی که کیلومترها از هم دور هستند داشته باشند (۱۷). این مطالعات ترجیحی بودن سیستم تولید مثل را بین درختان جنگلی مجاور تأیید می‌نماید.

راش شرقی (*Fagus orientalis* Lipsky) یک گونه درختی کلیماکس متعلق به مناطق آب و هوایی کوهستانی معتدل و یا بحری با نیاز رطوبتی بالا بوده که می‌تواند در شرایط متنوع اکولوژیکی به خوبی گسترش پیدا کند. مطالعات نشان داده‌اند که گونه‌های *Fagus* در مقایسه با سایر گیاهان چوبی دارای تنوع ژنتیکی بالاتری هستند (۸ و ۹). تاکنون نشانگرهای SSR، PCR-RFLP و آلوزیمی در جمعیت‌های راش ایران برای برآورد پارامترهای ژنتیکی جمعیتی استفاده شده است (۳۳، ۳۴، ۳۵ و ۳۶). در این بررسی‌ها تنوع ژنتیکی بالا و تمایز ژنتیکی نسبتاً کم ولی معنی‌داری در میان جمعیت‌های راش ایران مشاهده شده است. راش شرقی یک گونه تک پایه است که گرده‌افشانی آن از طریق باد صورت می‌گیرد و شیوه تولید مثل آن اساساً دگرلقاحی است ولی خود لقاحی نیز در آن مشاهده می‌گردد. Starke و Müller-Stark (۱۹۹۶) براساس آنالیزهای آلوزیمی نشان دادند که ترکیب ابرهای گرده و لذا الگوهای دگرلقاحی در توده‌های راش متأثر از توزیع مکانی درختان است (۴۱). میانگین و بیشینه فاصله انتقال گرده مؤثر در راش به وسیله آنالیز آلوزیمی کمتر از ۱۷ متر (۱۶، ۱۹، ۲۰، ۲۴ و ۳۱)، به وسیله میکروساتلایت‌ها حدوداً ۱۰ تا ۳۰ متر (۳۷ و ۴۵) و به وسیله داده‌های AFLP ۱۱۰ متر برآورد شده است (۱۳). شناخت ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها اهمیت کاربردی برای حفاظت و استفاده از منابع ژنتیکی درختان جنگلی دارد. زیرا کاهش تراکم جمعیت می‌تواند منجر به تولید مثل بیشتر در بین درختان مجاور شده و لقاح درون گروهی

مواد و روشها

در طول گستره پراکنش راش در ایران ۷ جمعیت گرگان-۶۰۰، نکا-۱۴۰۰، نکا-۹۰۰، سنگده-۱۴۰۰، خیرود-۱۲۰۰، خیرود-۶۰۰، و اسالم-۶۰۰ انتخاب گردید. در هر جمعیت بذور ۱۰ درخت مادری بدفرم (چنگالی) و خوش فرم (میان رو)، هر درخت ۷ بذر، به عنوان نسل نتاج جمع آوری گردید. ژنوتیپ کلیه بذور با استفاده از میکروساتلایت های هسته ای تعیین گردید.

DNA کل از بذور درختان (۱۰۰ میلی گرم به عنوان ماده اولیه) با استفاده از کیت (Germany, Macherey Negel) Nucleospin plant جداسازی گردید. عصاره ها (یک میکرولیتر به ازای هر چاهک) به وسیله دستگاه الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد (W/V) با نیروی برق ۱۰ ولت در سانتیمتر به مدت یک ساعت و بافر ۱۰ X TEA حاوی 0.5 mg ml^{-1} (W/V) اتیدیوم برماید کنترل شده و ژلها پس از عکس برداری با یک اسکنر UVP تجزیه شدند. میکروساتلایت های FS3-04, FS1-11, FS1-03, FS1-15, FCM5 و FS4-46 (جدول ۱) ارائه شده توسط Pastorelli و همکاران (۲۰۰۳) از طریق PCR تکثیر شدند (۲۹). برای تکثیر با PCR محیط فرآیند (Tris-HCl, 9=pH, mM ۱۰۰; mM ۵۰۰ KCL; mM ۱۵ MgCl₂; از هر داکسی نوکلئوزید تری فسفات ۲۰۰ μM ; از هر آغازگر ۰/۴ μM و Taq DNA polymerase یک واحد) با حجم نهایی ۲۵ μl تهیه گردید. پس از نگهداری محلول واکنش به مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتیگراد، محلول واکنش در معرض چرخه های دمایی زیر قرار گرفتند: ۳۰ چرخه: ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، دمای اتصال (جدول ۱) به مدت یک دقیقه، ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه. سپس فرآورده های تکثیر در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه نگهداری شدند. در این کار از دستگاه PCR ساخت شرکت Perkin Elmer 9700 استفاده شد. طول قطعات تکثیر شده توسط توالی یاب خودکار (Alf

Express, Pharmacia) اندازه گیری گردید و نتیجه توسط برنامه نرم افزاری (Fragment Manager 1.2 Pharmacia) بررسی شد.

تجزیه تحلیل آماری: پس از اینکه برای هر فرد، ژنوتیپ های دیپلوئید شماره گذاری و فراوانی های آللی محاسبه شد، مطالعه تمایز ژنتیکی درختان خوش فرم و بدفرم راش توسط نرم افزار GeneAlex (۳۰) با معیارهای زیر انجام گرفت: میانگین تعداد آلل بر جایگاه وراثتی *Na*، تعداد آللهای نادر *Nr*، تعداد آللهای محلی عمومی *Nlc*، تعداد مؤثر آللهای *Ne*، ضریب شانون *I*، هتروزیگوسیتی مشاهده شده *Ho*، هتروزیگوسیتی مورد انتظار از معادله هاردی-وینبرگ *He*، ضریب لقاح درون گروهی یا ضریب ثبات *Fis* (Fixation Index)، انحراف فراوانی های ژنوتیپی از نسبت های هاردی-وینبرگ با برنامه نرم افزاری GENEPOP (نسخه 3.4D; ۳۱) به دست آمد. فاصله ژنتیکی میان بذور درختان بدفرم و خوش فرم هر جمعیت بر اساس معادله Nei (۱۹۸۷) برآورد شد (۲۵). از روش تجزیه به مؤلفه های اصلی (۷) طبق Nei (۲۵) برای تفسیر ماتریکس فاصله ژنتیکی استفاده شد. ساختار ژنتیکی جمعیتی کل نمونه ها با آماره *F* توسط نرم افزار ARLEQUIN (۳۸ و ۳۹) محاسبه شد. ضریب لقاح درون گروهی کلی (*Fit*)، و نسبت واریانس ژنتیکی از طریق اجزاء زیر محاسبه شد: گوناگونی در میان کل جمعیتها (*Fst*)، گوناگونی در میان جمعیت های هر منطقه و گوناگونی میان مناطق.

نتایج

در ۷ توده گرگان-۶۰۰، نکا-۱۴۰۰، نکا-۹۰۰، سنگده-۱۴۰۰، خیرود-۱۲۰۰، خیرود-۶۰۰، و اسالم-۶۰۰ بذور درختان بدفرم و خوش فرم با استفاده از ۶ میکروساتلایت هسته ای (جدول ۱) بررسی گردید که ۴ میکروساتلایت F1-03, F1-11, F3-04 و FS1-15 به ترتیب با ۹، ۴ و

۱۲ آلل، چندشکلی بالایی داشته و برای برآورد پارامترهای ژنتیکی از آنها استفاده گردید.

جدول ۱ - ویژگیهای ۶ نشانگر میکروساتلایت هسته‌ای به کار رفته برای مطالعه تمایز درختان بدفرم و خوش فرم راش

Gene Bank	اندازه آللهای تعداد	تکرار	غلظت	دمای	توالی آغازگر	جایگاه
AF528095	۱۲ ۱۳۳-۸۳	(GA) ₂₆	۲۵	۶۰	TCAAACCCAGTAAATTTCTCA GCCTCAATGAACTCAAAAAC	FS1-15*
AF528090	۱۲ ۱۱۲-۸۶	(GA) ₁₈	۱۵	۶۰	CACAGCTTGACACATTCCAAC TGGTAAAGCACTTTTTCCCACT	FS1-03*
AF528091	۹ ۱۲۰-۹۸	(GA) ₁₅	۲۵	۶۳	TGAATTCAATCATTTGACCATTTC GGAAGGGTGCTTCAATTTGG	FS1-11*
AF528092	۴ ۲۰۴-۱۹۲	(GCT) ₅ (GTT) ₃ (GCT) ₆	۱۵	۶۰	AGATGCACCACTTCAAATTC TCTCCTCAGCAACATACCTC	FS3-04*
AF528094	۲ ۲۷۲-۲۷۰	(TGA) ₂₃	۱۵	۶۰	GCAGTCCTCCACCATTACTA TACAACAGCAGGCTATCCAT	FS4-46*
(1)	۲ ۲۷۶-۲۷۴	(AG) ₁₀	۱۵	۶۰	ACTGGGACAAAAAACAAAA GAAGGACCAAGGCACATAAA	FCM5*

۱: منبع ۴۳، * منبع ۲۹

جدول ۲ - برخی ویژگیهای ژنتیکی بذور درختان خوش فرم و بدفرم توده‌ها، بر اساس جایگاههای وراثتی میکروساتلایت هسته‌ای نتاج

توده	گرگان	گرگان	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	کنا	
ارتفاع از سطح دریا (متر)	۲۰۰	۲۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	۱۴۰۰	
فرم تنه درختان	بدفرم	بدفرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	خوش فرم	
کد	۲۰۰-۱-۱	۲۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	۱۴۰۰-۱-۲	۱۴۰۰-۱-۱	
Na	۶/۰۰	۸/۰۰	۷/۲۵	۵/۷۵	۵/۰۰	۶/۵۰	۶/۲۵	۷/۲۵	۷/۵۰	۷/۲۵	۶/۲۵	۷/۵۰	۷/۲۵	۶/۲۵	۷/۵۰	۷/۲۵	۶/۲۵	۷/۵۰	۷/۲۵	۶/۲۵	۷/۵۰	۷/۲۵
Nlc	۳/۰۰	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵	۳/۷۵
Ne	۲/۵۷	۲/۸۹	۲/۶۶	۲/۴۵	۲/۷۲	۲/۵۴	۱/۸۱	۲/۶۵	۲/۵۸	۲/۵۲	۲/۷۷	۲/۶۴	۲/۹۲	۱/۹۶	۱/۹۶	۱/۹۶	۱/۹۶	۱/۹۶	۱/۹۶	۱/۹۶	۱/۹۶	۱/۹۶
I	۱/۱۷	۱/۲۹	۱/۱۸	۱/۰۲	۱/۰۶	۱/۱۰	۰/۸۸	۱/۲۳	۱/۲۵	۱/۰۸	۱/۲۶	۱/۲۶	۱/۲۶	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
Nr	۰/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۳/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰	۱/۰۰
Fis	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۵	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۱۱	۰/۱۷	۰/۰۹	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۱
Ho	۰/۵۴	۰/۵۷	۰/۶۰	۰/۵۴	۰/۵۶	۰/۵۳	۰/۴۱	۰/۴۰	۰/۵۵	۰/۶	۰/۶۸	۰/۶۲	۰/۶	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹
He	۰/۵۹	۰/۵۸	۰/۵۶	۰/۵۱	۰/۵۵	۰/۵۶	۰/۴۰	۰/۵۸	۰/۵۶	۰/۵۳	۰/۵۸	۰/۵۸	۰/۵۸	۰/۵۹	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴	۰/۴۴

جدول ۳ - اطلاعاتی در مورد آللهای نادر میکروساتلایت‌های هسته‌ای مشاهده شده در میان توده‌ها و بذور درختان خوش فرم و بدفرم راش

جمعیت	لوکوس	اندازه آلل (bp)	فراوانی
گ-۲-۶۰۰	FS1-03	۱۱۰	۰/۰۵۶
ن-۱-۱۴۰۰	FS1-15	۱۱۹	۰/۰۱۴
ن-۲-۹۰۰	FS1-15	۱۲۵	۰/۰۱۲

۰/۰۱۴	۱۲۱	FS1-15	س-۱-۱۴۰۰
۰/۰۲۹	۱۱۲	FS1-03	س-۲-۱۴۰۰
۰/۰۱۵	۱۱۴	FS1-03	س-۲-۱۴۰۰
۰/۰۲۹	۱۲۲	FS1-11	س-۲-۱۴۰۰
۰/۰۱۵	۸۰	FS1-03	خ-۱-۱۲۰۰
۰/۱۰۹	۸۱	FS1-15	خ-۱-۱۲۰۰
۰/۰۴۷	۹۹	FS1-15	خ-۲-۱۲۰۰

جدول ۴ - هتروزیگوسیتی کل، مشاهده شده و مورد انتظار، مقادیر آماری F و برآورد جریان ژن آغازگرهای مطالعه شده میکروساتلایت‌های هسته‌ای در نتاج توده‌های مطالعه شده

تمام جمعیتها	FS1-15	F3-04	F1-11	F1-03	میانگین
<i>He</i>	۰/۶۹	۰/۲۸	۰/۵۶	۰/۶۵	۰/۵۳۶
<i>Ho</i>	۰/۶۵	۰/۲۹	۰/۶۷	۰/۶۵	۰/۵۵۶
مقادیر آماری F					
<i>Fis</i>	۰/۰۵	-۰/۰۷	-۰/۲۰	۰/۰۱	-۰/۰۵
<i>Fit</i>	۰/۱۲	-۰/۰۲	-۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۰۳
<i>Fst</i>	۰/۰۷	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۱۴	۰/۰۸
جریان ژن	۳/۳	۵/۷۳	۴/۳۶	۱/۵۸	۳/۰۱

جدول ۵ مقادیر آماری F ، برآورد جریان ژن و درصد چندشکلی در نتاج توده‌های مورد مطالعه

گرگان-۶۰۰	ن-۱۴۰۰	نکا-۹۰۰	سنگده-۱۴۰۰	خ-۱۲۰۰	خ-۶۰۰	الف-۶۰۰	
۰/۱۹۷	-۰/۲۰۶	-۰/۲۳۴	-۰/۲۵۷	-۰/۲۲۲	-۰/۲۹۷	-۰/۲۵۳	<i>Fis</i>
۰/۰۳۲	-۰/۰۶۱	۰/۰۱۰	۰/۰۲۰	۰/۰۳۳	-۰/۱۰۹	۰/۰۰۲	<i>Fit</i>
۰/۱۹۲	۰/۱۲۲	۰/۱۹۹	۰/۲۱۷	۰/۲۰۹	۰/۱۳۳	۰/۱۹۸	<i>Fst</i>
۱/۰۵۱	۱/۷۹۳	۱/۰۰۸	۰/۹۰۸	۰/۹۴۷	۱/۶۲۶	۱/۰۱۲	جریان ژن
۹۰/۹۱	۹۷/۵۰	۹۰	۸۷/۵۰	۹۲/۵	۹۶/۸۸	۹۶/۸۸	درصد چندشکلی

درختان خوش‌فرم و بدفرم مشاهده شد (جدول ۳) که ۴ تا از آنها در توده سنگده-۱۴۰۰، ۳ تا در خیرود-۱۲۰۰ بوده درحالی که در توده اسالم هیچ آلل نادری مشاهده نگردید.

تمام توده‌ها تنوع ژنتیکی بالایی نشان دادند. مقدار میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار از ۰/۴۰ (سنگده-۱۴۰۰) تا ۰/۵۹ در اسالم-۶۰۰ متغیر بود. از ۷ توده مورد بررسی در ۴ توده (گرگان-۶۰۰، نکا-۹۰۰، خیرود-۱۲۰۰ و خیرود-

مقایسه میانگین تعداد آلل در جایگاه وراثتی، تعداد آللهای نادر و عمومی و برآوردهای تنوع ژنتیکی در میان توده‌های مختلف و یا بذور درختان بدفرم و خوش‌فرم در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین تعداد آلل در جایگاه وراثتی از ۵ در بذور درختان خوش‌فرم توده نکا-۹۰۰ تا ۸ در بذور درختان بدفرم توده گرگان-۶۰۰ متغیر بود و احتمال اینکه دو آللی که به صورت تصادفی در یک توده نمونه‌گیری شوند متفاوت باشند ۵۵/۶ درصد است (He) (۰/۵۳۶). در کل ۱۰ آلل نادر در میان توده‌ها و بذور

خوش‌فرم و بدفرم راش برآورد شد. از فاصله ژنتیکی بین جمعیتها برای آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد. نمودار تشکیل شده نشان داد که در برخی توده‌ها (اسالم-۶۰۰ و خیرود-۱۲۰۰) درختان بدفرم و خوش‌فرم در خوشه‌های جداگانه دسته بندی می‌شوند که نشانگر شباهت ژنتیکی بین بذور درختان بدفرم و خوش‌فرم است. در تأیید این مسئله، آنالیز تک‌تک ژنوتیپهای بدفرم و خوش‌فرم هر توده به وسیله آزمون assignment، نشان داد که تمایز قابل ملاحظه‌ای بین پایه‌های توده‌های اسالم-۶۰۰ و خیرود-۱۲۰۰ وجود دارد درحالی که در سایر توده‌ها تمایز بین پایه‌های بدفرم و خوش‌فرم امکان‌پذیر نمی‌باشد (شکل‌های ۱ تا ۷).

بحث

میکروساتلایت‌های به کار برده شده در این پژوهش از نظر تعداد آلل بسیار چندشکل بودند. مقدار هتروزیگوزیتی مورد انتظار که گوناگونی ژنتیکی راش را در سطح درون جمعیتی نشان می‌دهد، قابل مقایسه با آزمایشاتی بود که بر روی راش اروپا در ایتالیا (۲۹)، اسپانیا (۱۳) و لهستان (۱۵) انجام شده است.

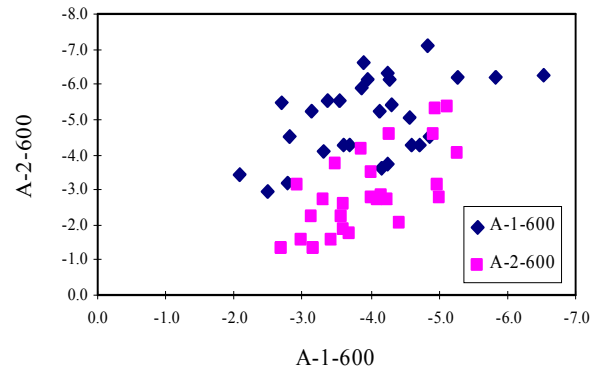
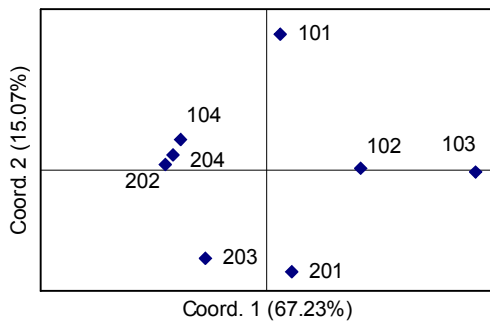
Salehi Shanjani و همکاران (۲۰۰۲، ۲۰۰۴، ۲۰۰۵ و ۲۰۰۸) مقادیر بالایی از *He* را با استفاده از نشانگرهای ایزوزیمی و میکروساتلایتی کلروپلاستی و هسته‌ای که نماینده کل ژنوم راش شرقی در هر دو نواحی کدشونده و غیرکدشونده است را به دست آورده‌اند (۳۳-۳۶). این موضوع نشان دهنده وجود سطوح بسیار بالایی از چندشکلی در جمعیت‌های مورد مطالعه است. در واقع راش در جمعیت‌های راش برای حفظ انعطاف‌پذیری بالای فنوتیپی و ویژگی‌های سازگاری، استراتژی تکاملی خاصی را به کار گرفته است.

۶۰۰) تفاوتی از نظر هتروزیگوسیتی بین درختان بدفرم و خوش‌فرم وجود نداشت، در ۲ توده (نکا-۱۴۰۰ و اسالم-۶۰۰) تنوع درختان خوش‌فرم و فقط در یک توده (سنگده-۱۴۰۰) تنوع درختان بدفرم بیشتر بود. از میان مقادیر برآوردهای مختلف تنوع ژنتیکی، تعداد آللهای مؤثر (*Ne*) نسبت به ضریب شانون (*I*) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار (*He*)، اختلاف بیشتری بین بذور درختان خوش‌فرم و بدفرم هر توده نشان دادند.

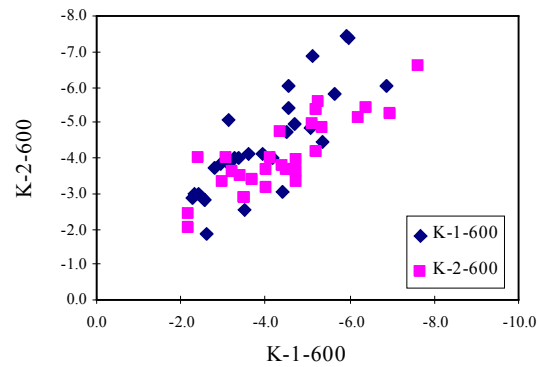
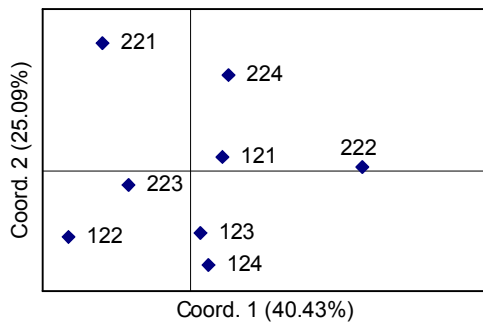
برآورد تنوع ژنتیکی به صورت جایگاه وراثتی به جایگاه وراثتی و نیز میانگین کل جایگاههای وراثتی در جدول ۴ نشان داده شده است. هتروزیگوسیتی مشاهده شده ($Ho = 0/556$) به طور جزئی بیش از هتروزیگوسیتی مورد انتظار ($He = 0/536$) بود که این مسئله موجب منفی بودن میانگین ضریب درون لقاحی می‌گردد ($Fis = -0/05$). کم بودن *Fis* نشانگر مهم نبودن پدیده درون لقاحی در توده‌های راش است. به طور کلی در بیشتر توده‌ها انحراف از معادله هاردی-وینبرگ مهم نبود. همان گونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود از میان مقادیر آماره *F* ارائه شده هیچ برآوردی صفر نشد. میانگین *Fst* در کل جایگاههای وراثتی ۰/۰۸ بود.

بررسی آماره *F* و جریان ژن در میان بذور گروههای درختان خوش‌فرم و بدفرم (جدول ۵) حاکی از تمایز ژنتیکی بالا در میان بذور درختان مذکور در هر توده است. به طوری که مقدار *Fst* از ۰/۱۳۳ در خیرود-۶۰۰ تا ۰/۲۱۷ در سنگده-۱۴۰۰ متغییر بود و در تمام موارد انحراف فراوانیهای ژنوتیپی از نسبت‌های هاردی-وینبرگ معنی‌دار بود ($p > 0/001$). به همین ترتیب بیشترین جریان ژن بین بذور درختان مذکور در خیرود-۶۰۰ (۱/۶۳) و کمترین جریان ژن در توده سنگده-۱۴۰۰ (۰/۹۱) مشاهده گردید.

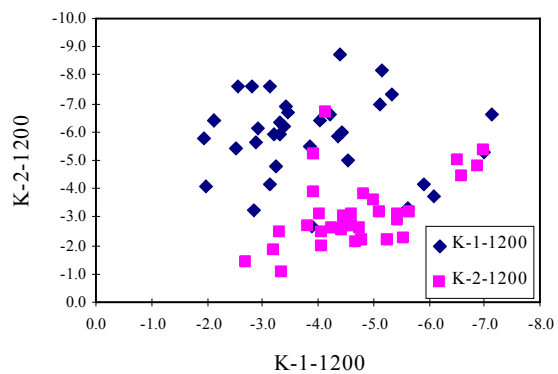
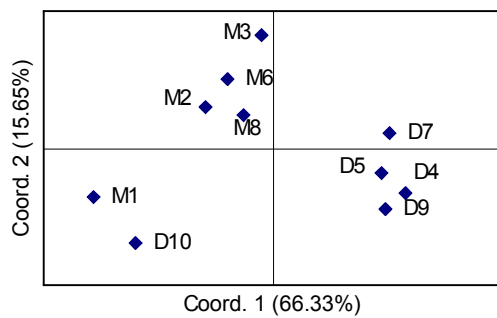
برای تشریح الگوی تمایز، فاصله ژنتیکی بر اساس برآورد unbiased فاصله ژنتیکی (*Nei*) بین بذور درختان



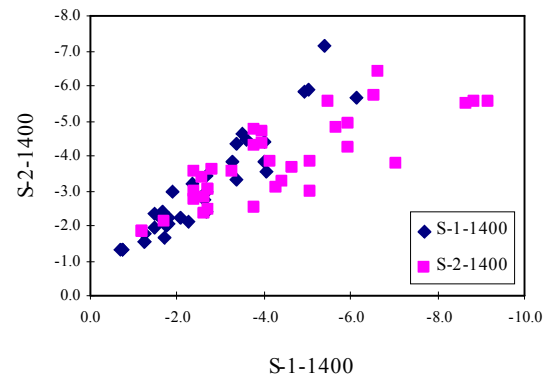
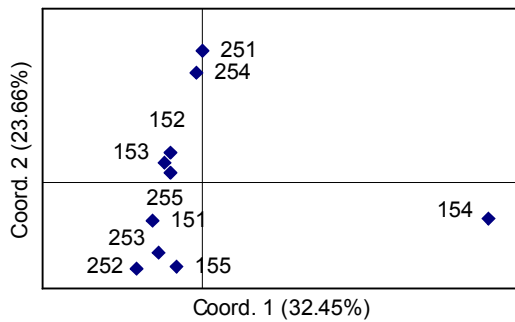
شکل ۱ - نمودار رسته‌بندی بذور درختان خوش‌فرم (۱۰۱ تا ۱۰۴) و بدفرم (۲۰۱ تا ۲۰۴) بر اساس فاصله ژنتیکی جایگاه‌های وراثتی میکروساتلایت‌های هسته‌ای در توده اسالم-۶۰۰ (شکل چپ) و شمای شباهت ژنتیکی همان خانواده‌ها به وسیله لگاریتم فراوانیهای آلی مورد انتظار (ضرایب assignment) (شکل راست)



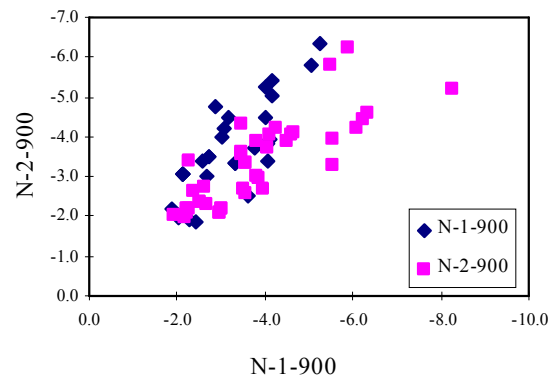
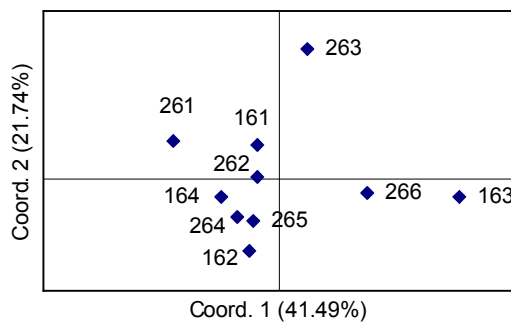
شکل ۲ - نمودار رسته‌بندی بذور درختان خوش‌فرم (۱۲۱ تا ۱۲۴) و بدفرم (۲۲۱ تا ۲۲۴) بر اساس فاصله ژنتیکی جایگاه‌های وراثتی میکروساتلایت‌های هسته‌ای در توده خیرود-۶۰۰ (شکل چپ) و شمای شباهت ژنتیکی همان خانواده‌ها به وسیله لگاریتم فراوانیهای آلی مورد انتظار (ضرایب assignment) (شکل راست)



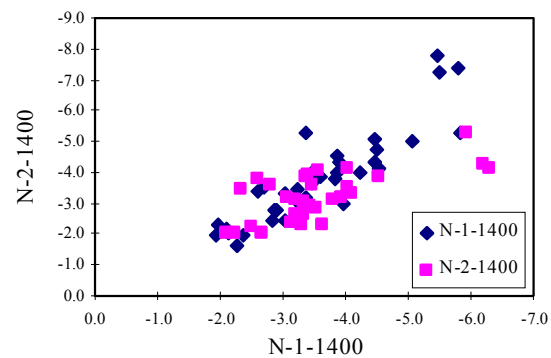
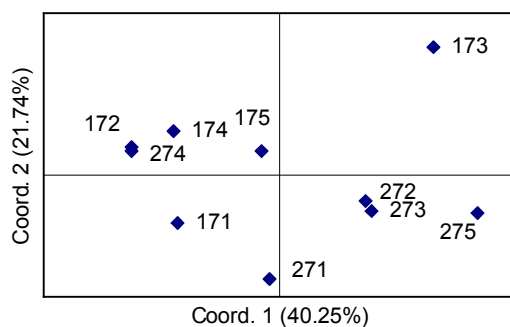
شکل ۳ - نمودار رسته‌بندی بذور درختان خوش‌فرم (با پیشوند M) و بدفرم (با پیشوند D) بر اساس فاصله ژنتیکی جایگاه‌های وراثتی میکروساتلایت‌های هسته‌ای در توده خیرود-۱۲۰۰ (شکل چپ) و شمای شباهت ژنتیکی همان خانواده‌ها به وسیله لگاریتم فراوانیهای آلی مورد انتظار (ضرایب assignment) (شکل راست)



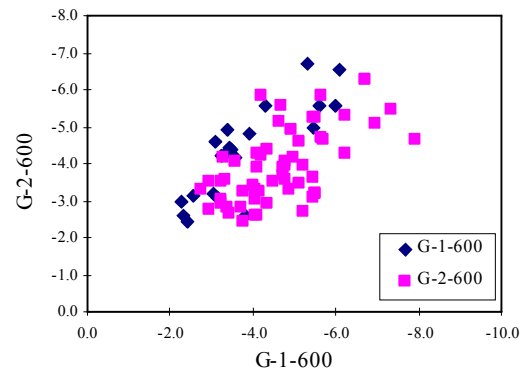
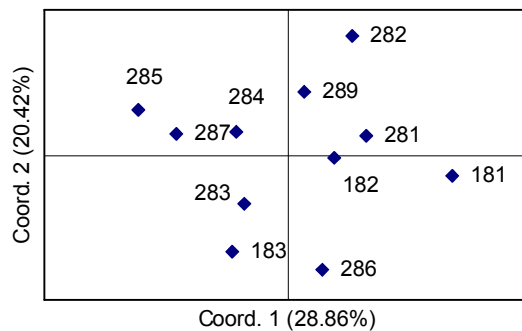
شکل ۴ - نمودار رسته‌بندی بذور درختان خوش‌فرم (۱۵۱ تا ۱۵۵) و بدفرم (۲۵۱ تا ۲۵۵) بر اساس فاصله ژنتیکی جایگاههای وراثتی میکروساتلایت‌های هسته‌ای در توده سنگه-۱۴۰۰ (شکل چپ) و شمای شباهت ژنتیکی همان خانواده‌ها به وسیله لگاریتم فراوانیهای آلی مورد انتظار (ضرایب assignment) (شکل راست)



شکل ۵ - نمودار رسته‌بندی بذور درختان خوش‌فرم (۱۶۱ تا ۱۶۴) و بدفرم (۲۶۱ تا ۲۶۶) بر اساس فاصله ژنتیکی جایگاههای وراثتی میکروساتلایت‌های هسته‌ای در توده نکا-۹۰۰ (شکل چپ) و شمای شباهت ژنتیکی همان خانواده‌ها به وسیله لگاریتم فراوانیهای آلی مورد انتظار (ضرایب assignment) (شکل راست)



شکل ۶ - نمودار رسته‌بندی بذور درختان خوش‌فرم (۱۷۱ تا ۱۷۵) و بدفرم (۲۷۱ تا ۲۷۵) بر اساس فاصله ژنتیکی جایگاههای وراثتی میکروساتلایت‌های هسته‌ای در توده نکا-۱۴۰۰ (شکل چپ) و شمای شباهت ژنتیکی همان خانواده‌ها به وسیله لگاریتم فراوانیهای آلی مورد انتظار (ضرایب assignment) (شکل راست)



شکل ۷ - نمودار رسته‌بندی بذور درختان خوش‌فرم (۱۸۱ تا ۱۸۳) و بدفرم (۲۸۱ تا ۲۸۹) بر اساس فاصله ژنتیکی جایگاههای وراثتی میکروساتلایت‌های هسته‌ای در توده گرگان-۶۰۰ (شکل چپ) و شمای شباهت ژنتیکی همان خانواده‌ها به وسیله لگاریتم فراوانیهای آلی مورد انتظار (ضرایب assignment) (شکل راست)

همکاران (۲۰۰۴) مطابقت دارد (۴۵). پیش از این هم مطالعات نشان داده‌اند که برخلاف طبیعت سیستم تولیدمثل درختان جنگلی باد-گرده‌افشان، تولیدمثل راش بین افراد نزدیک هم روی می‌دهد ساختار ژنتیکی‌شان به خوبی توسط مدل "جدا شدگی" به وسیله فاصله قابل توضیح است (۴۷ و ۴۸).

بررسی تمایز بین فرم درختان و منشاء پیدایش چنگالها بر روی تنه درختان و نحوه تحول آنها مورد بحث بسیاری قرار گرفته است زیرا پیدایش چنگال بر روی تنه باعث کاهش چشمگیر طول محور اصلی (تنه درخت) شده و ارزش تجاری درخت به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد (۲۷ و ۲۸). نقش سرمازدگی در بدفرمی تنه راش از مسائلی است که مدتهاست بر روی آن تحقیق می‌گردد (۲۱). سرمازدگی بهاره نقش مهمی به عنوان یک عامل انتخابی در گونه‌های چوبی مثل راش بازی می‌کند (۱۸). جوانه‌های نهالها و درختان جوان برخلاف درختان مادری در لایه‌های پایین تر نزدیک سطح خاک قرار می‌گیرند و بنابراین در معرض خطر بیشتری برای سرمازدگی واقع می‌شوند. سرمازدگی با خشکاندن جوانه‌های نهالها و درختان آسیب زیادی به آنها وارد می‌کند. آسیب ممکن است به تمام درخت یا بخشی از درخت وارد آید که غالباً

مقایسه تعداد آللها و هتروزیگوزیتی در بذور درختان خوش‌فرم و بدفرم هر جمعیت نشان دادند که این ضرایب در میان فرمهای مختلف درختی متمایز نیستند. به طوری که ارتباط روشنی بین فرمهای مختلف درختی و تعداد آللها مشاهده نشد. این نتایج در تأیید یافته‌های Kraja و Sztorc (۲۰۰۹) بود، که آنها نیز نتوانستند ارتباطی بین ضرایب فوق و فرمهای فنولوژیکی (با شکوفایی زود، میان و دیرهنگام) درختان راش اروپا پیدا کنند (۱۵). یافته‌های حاصل از ساختار فراوانی ژنوتیپی خلاصه شده در جدول ۲ حاکی از تصادفی بودن تولید مثل در بذور درختان جمعیت‌های مورد مطالعه است. ولی یافته‌های حاصل از تمایز بذور درختان خوش‌فرم و بدفرم به سختی می‌تواند انتشار تصادفی آللها را به وسیله بذر و گرده توضیح دهد. چنانچه آنالیز تجزیه به مؤلفه‌های اصلی درختان بدفرم و خوش‌فرم برخی توده‌ها (اسالم-۶۰۰ و خیرود-۱۲۰۰) را در خوشه‌های جداگانه دسته بندی نمود که حاکی از شباهت ژنتیکی بین درختان خوش‌فرم و بدفرم و تولید مثل غیر تصادفی بین درختان راش هر توده است. از آنجایی که اثر بخشی انتشار گرده راش محدود به فاصله‌های نزدیک است، الگو مکانی گروهی آللها می‌تواند تمایز مشاهده شده را توضیح دهد (۴۶). این نتایج با یافته‌های Vornam و

منجر به کاهش رشد ارتفاعی یا قطر درخت می‌شود. خطر سرمای دیررس نه تنها باعث از دست رفتن شادابی درخت می‌گردد بلکه از آن مهم‌تر روی شکل درخت تأثیر می‌گذارد. در حقیقت، چنگالی شدن عموماً ناشی از سرمازدگی است (۲۷). فشار سرمازدگی بهاره برای فرمهای فنولوژیکی (شکوفایی زود، میان و دیرهنگام) متفاوت است. سرمازدگی برای افرادی که شکوفایی زودهنگام دارند نسبت به افرادی که شکوفایی دیرهنگام دارند خطر بیشتری محسوب می‌شود. زیرا آمادگی کمتری برای مقاومت در برابر سرمازدگی دارند (۵). در بهار هر چه زمان شکوفایی دیرهنگام‌تر باشد آمادگی در برابر سرمازدگی بیشتر و خطر آسیب کمتر می‌شود (۴).

اختلاف در گوناگونی ژنتیکی فرمهای فنولوژیکی راش دارای دو منشاء است: (۱) سازگاری تکاملی در طول تاریخچه فیلولوژیکی گونه و (۲) فشارهای محیطی موجود بر فرمهای فنولوژیکی راش در توده‌های مختلف است. هر دو عامل روی انتخاب فنوتیپی اثر گذاشته و باعث تکامل سازگاری درون جمعیت‌های طبیعی می‌شوند. ویژگیهای فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی فرمهای فنولوژیکی راش پیوسته است. این صفات دارای ویژگیهای QTL هستند که نه تنها تحت تأثیر ویژگیهای ژنتیکی موجودات است بلکه تحت تأثیر محیط نیز قرار دارد (۱۴ و ۳۲). Nielsen و Jørgensen (۲۰۰۳) نشان دادند که گوناگونی ژنتیکی در متغیرهای فیزیولوژیکی قویاً تحت تأثیر محیط است (۲۶). Sztorc و Kraj (۲۰۰۹) با مطالعه پارامترهای ژنتیکی در فرمهای فنولوژیکی راش توسط نشانگرهای میکروساتلایتی نشان دادند که فرمهای راش که شکوفایی دیرهنگام‌تری دارند شانس بیشتری برای استمرار بقاء در شرایط محیطی نامناسب داشته و گوناگونی ژنتیکی درون جمعیتی بیشتری دارند (۱۵). برعکس در فرمهایی که شکوفایی زودهنگام‌تری دارند و تحت فشارهای محیطی بیشتری واقع هستند گوناگونی ژنتیکی کمتر است.

جایگاههای وراثتی میکروساتلایتی نشانگرهای خنثایی هستند که مستقیماً ارتباطی با گوناگونی ژنتیکی سازگاری نداشته و در نتیجه اختلافات ژنتیکی حاصل از این نشانگرها که بین فرمهای فنولوژیکی راش مشاهده می‌شود نبایست اثر مستقیمی روی شایستگی (برازندگی) این فرمها داشته باشد (۱۲). ولی طبق برخی مدارک، ارتباط قوی بین گوناگونی ژنتیکی خنثی و سازگاری وجود دارد. به طوری که برخی جایگاههای وراثتی خنثی وابسته به جایگاههای وراثتی ویژگیهای کمی (QTLs) بوده و از آنها برای تهیه نقشه‌های لینکاژ (پیوستگی ژنی) در گونه‌های درختی استفاده می‌شود (۳۷). وجود ارتباط بین زمان شروع رویش فرمهای فنولوژیکی راش (که ویژگیهای سازگاری هستند) با گوناگونی ژنتیکی مناطق غیر کدشونده ژنوم بسیار جالب و با ارزش است. فرمی از راش که دارای شکوفایی دیر هنگام است بیشتر در مناطقی که فراوانی بروز سرماهای دیر هنگام بهاره بالاتر است وجود دارد. زیرا در چنین مناطقی طی تکامل، نهالهای فرمهایی که شکوفایی زودهنگامی داشته بر اثر سرماهای دیرهنگام بهاره آسیب دیده و حذف شدند و در مقابل فرمهایی که شکوفایی دیرهنگامی داشتند از آسیبها در امان مانده و غلبه پیدا کردند. سازمانهای جنگلداری در چنین مناطقی این فرم راش را برای جنگل کاری به بقیه ترجیح می‌دهند. اخیراً بیشتر برنامه‌های اصلاحی در جهت انتخاب چنین انواعی است (۳). چنین انتخابی فشاری است که ساختار ژنتیکی گونه راش را نیز تغییر می‌دهد.

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر به روشنی نشان دادند که تنوع ژنتیکی به صورت همگن در توده‌های مورد مطالعه توزیع نشده است. علی‌رغم پتانسیل بالای جریان کرده در گونه‌های بادگرده‌افشان (برای به هم ریختن تمایز ژنتیکی مکانی) نتایج حاکی از وجود تمایز ژنتیکی مکانی در توده‌های مختلف مورد مطالعه بود. جریان ژن محدود از طریق انتشار بذر و

مکانی جمعیت‌های راش طبیعی نیز باید شناخته شود. توصیه می‌شود که جمع‌آوری بذر با هدف حفاظت می‌بایست در یک ناحیه وسیع از تعداد زیادی درخت صورت بگیرد تا از کاهش تنوع ژنتیکی و بنابراین کاهش پتانسل نسل بعدی ممانعت به عمل آید. از آنجایی که ساختار ژنتیکی بذور تحت تأثیر عوامل بسیاری از جمله تراکم درختان مادری و جهت باد است، مقایسه بذور جمع‌آوری شده سالهای مختلف می‌تواند بسیار مفید باشد.

تشکر و قدردانی: بدین وسیله از آقای دکتر جوزپه جوانی و ندرامین استاد مؤسسه اصلاح درختان جنگلی فلورنس-ایتالیا که در تدوین این پژوهش از هیچ لطفی دریغ ننمودند سپاس و قدردانی می‌گردد.

گرده و ترجیحی بودن سیستم تولید مثلی بین درختان مجاور محتمل‌ترین دلایل چنین ساختاری می‌تواند باشد (۱، ۲، ۱۱، ۱۳ و ۴۲). اگرچه ساختار خویشاوندی متمایزی میان بذور ژنوتیپ‌های بدفرم و خوش‌فرم مشخص بود، نتایج نشان داد که ساختارهای ژنتیکی جمعیتها تحت تأثیر عوامل غیرقابل پیش‌بینی مثل جهت باد در زمان گرده‌افشانی نیز قرار دارد که می‌تواند سال به سال متفاوت باشد.

وجود ساختار ژنتیکی مکانی در جمعیتها، مهارت جنگل‌شناسی ویژه‌ای را می‌طلبد تا تمام آله‌ها بدون اینکه تحت تأثیر تغییرات ناشی از عملکرد انسان قرار گیرند به نسل بعد منتقل شوند. همچنین برای عملیات جمع‌آوری تجاری بذر از توده‌ها نه‌تنها ترکیب ژنتیکی بلکه ساختار ژنتیکی

منابع

- Asuka, Y., Tomaru, N., Nisimura, N., Tsumura, Y. and Yamamoto, S., 2004. Heterogeneous genetic structure in a *Fagus crenata* population in an old-growth beech forest revealed by microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 13, 1241–1250.
- Bacilieri, R., Labbe, T. and Kremer, A., 1994. Intraspecific genetic structure in a mixed population of *Quercus petraea* (Matt) Leibl and *Quercus robur* L. *Heredity*. 73, 130–141.
- Chmura, D.J. and Rozkowski R., 2002. Variability of beech provenances in spring and autumn phenology. *Silvae Genetica*. 51: 123–127.
- Dittmar, C., Fricke, W. and Elling W., 2006. Impact of late frost events on radial growth of common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Southern Germany. *European Journal of Forest Research*. 125: 249–259.
- Dolnicki, A. and Kraj, W., 2001. Leaf morphology and the dynamics of frost-hardiness of shoots in two phenological forms of European beech (*Fagus sylvatica* L.) from Southern Poland. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*. 4(2).
- Frankham R (1995) Conservation genetics. *Annual Review of Genetics*. 29: 305–327.
- Gower, J.C., 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, 53: 325–338
- Hamrick, J.L. and Godt, M.J.W., 1990. Allozyme diversity in plant species. In: A.H.D. Brown, M.T., Clegg, A.L. Kahler and B.S. Weir (Eds.). *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources*. Sunderland: Sinauer Associates Inc.
- Hamrick, J.L., Godt, M.J.W. and Sherman-Broylers, S.L., 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forestry*. 6: 95–124.
- Hattemer, H.H., Ziehe, M., Finkeldey, R., Fromm, M., 2001. Genetic diversity and differentiation of individual effective pollen clouds in trees. In: Genetic Response of Forest Systems to Changing Environmental Conditions (eds. Müller-Starck, G., Schubert R.) pp. 223–237. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, ISBN 1-4020-0236-X.
- Heuertz, M., Vekemans, X., Hausman, J.F., Palada, M., Hardy, O.J., 2003. Estimating seed vs. pollen dispersal from spatial genetic structure in the common ash. *Molecular Ecology*. 12: 2483–2495.
- Holderegger, R., Kamm, U., and Gugerli, F., 2006. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecology*. 21: 797–807.
- Jump, A.S. and Peñuelas, J., 2007. Extensive spatial genetic structure revealed by AFLP but not SSR molecular markers in the

- windpollinated tree, *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology*. 16: 925–936.
14. Kingsolver, J.G. and Pfennig D.W., 2007. Patterns and Power of Phenotypic Selection in Nature. *BioScience*. 57: 561–572.
 15. Kraj W. and Sztorc A., 2009. Genetic structure and variability of phenological forms in the European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Annals of Forest Science*. 66: 203p1-p7
 16. Leonardi, S. and Menozzi, P. 1996. Spatial structure of genetic variability in natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech) in Italy. *Heredity*, 77, 359–368.
 17. Linhart, Y.B., Sturgeon, K.B. and Davis, M.L. 1981. Genetic variation in Space and time in a population of ponderosa pine. *Heredity*. 46: 407-426.
 18. Linkosalo, T., Häkkinen, R., and Hänninen, H., 2006. Models of the spring phenology of boreal temperate trees; is there something missing? *Tree Physiology*. 26: 1165–1172.
 19. 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
 20. Merzeau D., Comps B., Thiebaut B., Cuguen J., and Letouzey, J., 1994. Genetic structure of natural stands of *Fagus sylvatica* L. (beech). *Heredity*. 72: 269–277.
 21. Miller, A.D. (1953). Factors affecting the growth and form of young beech at Gardingr forest Wiltshire. *Forestry*. 26, 111-122.
 22. Morgante M, Hanafey M, Powell W (2002) Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nature Genetics*. 30, 194–200.
 23. Müller, G., 1977. Cross-fertilization in a conifer stand inferred from enzyme gene markers in seeds. *Silvae Genetica*. 26: 223-226.
 24. Müller-Starck, R., 1996. Genetische Aspekte der Reproduktion der Buche (*Fagus sylvatica* L.) unter Berücksichtigung waldbaulicher Gegebenheiten. Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme, Reihe A, Bd. 135, Göttingen.
 25. Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89: 583-590.
 26. Nielsen, C.N. and Jørgensen, F.V., 2003. Phenology and diameter increment in seedlings of European beech (*Fagus sylvatica* L.) as affected by different soil water contents: variation between and within provenances. *Forest Ecology and Management*. 174: 233–249.
 27. 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.
 28. Ningre, F., 1997. Une définition raisonnée de la fourche du hêtre. *Revue Forestière Française*. 59: 32–40.
 29. Pastorelli, R., Smulders, M.J.M., Westende, W.P.C., Vosman, B. and Giannini, R., 2003. Characterization of microsatellite markers in *Fagus sylvatica* L. and *Fagus orientalis* Lipsky, *Molecular Ecology Notes*. 3: 76-78.
 30. 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
 31. Raymond, M. and Rousset, F. 1995. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*. 86: 248-249.
 32. Riesberg, L.H., Widmer, A., Arntz, A.M. and Burke, J.M., 2002. Directional selection is the primary cause of phenotypic diversification. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 99: 12242–12245.
 33. Salehi Shanjani, P., Vendramin, G.G. and Calagari, M., 2008. Assessment of genetic structure within and among Iranian populations of beech (*Fagus orientalis* Lipsky): Implications for in situ gene conservation. The 8th IUFRO International Beech Symposium, Japan.
 34. Salehi Shanjani, P. and Vendramin, G.G., 2005. Analysis of genetic diversity of Oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky) populations as the basis for development of gene conservation strategy in Hyrcanian forests, Iran. The 22th IUFRO World Congress, Brisbane, Australia.
 35. Salehi Shanjani P, Paule L, Khavari-Nejad RA, 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.
 36. Salehi Shanjani P, Vettori C, Giannini R and Khavari-Nejad RA (2004) Intraspecific variation and geographic patterns of *Fagus orientalis*

- Lipsky chloroplast DNA. *Silvae Genetica*. 53: 193-197.
37. Scalfi M., Troglio M., Piovani P., Leonardi S., Magnaschi G., Verdrmin G.G., and Menozzi P.A., 2004. RAPD, AFLP and SSR linkage map, and QTL analysis in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 108: 433-441.
38. 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
39. Schneider, S., Roessli, D., and Excoffier, L. 2000. *Arlequin, Version 2.0: A Software for population genetics data analysis*. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva.
40. Smouse, P., Dyer, R.J., Westfall, R.D. and Sork, V.L. 2001. Two-generation analysis of pollen flow across a landscape. I. Male gamete heterogeneity among females. *Evolution*. 55: 260-271.
41. Starke, R. and Müller-Starck, G. 1992. Genetische Untersuchungen über die Reproduktion in zwei Beständen der Buche (*Fagus sylvatica* L.). In: Biochemische Untersuchungen zur Genetik von Waldbaumpopulationen. pp. 57-67 Schriftenreihe der Landesanstalt für Forstwirtschaft Nordrhein-Westfalen.
42. Streiff, R., Labbe, T., Bacilieri, R., Steinkellner, H., Glössl, J. and Kremer, A., 1998. Within-population genetic structure in *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. assessed with isozymes and microsatellites. *Molecular Ecology*, 7: 317-328.
43. Tanaka, K., Tsumura, Y. and Nakamura, T., 1999. Development and polymorphism of microsatellite markers for *Fagus crenata* and the closely related species, *F. Japonica*. *Theoretical and Applied Genetics*. 99: 11-15.
44. Rocha, E.P.C., Matic, I. and Taddei, F., 2002. Over-representation of repeats in stress response genes: a strategy to increase versatility under stressful conditions. *Nucleic Acid Research*. 30: 1886-1894.
45. 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.
46. Wang, X.R. and Szmidt, A.E., 2001. Molecular markers in population genetics of forest trees. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 16: 199-220.
47. Wright S., 1943. Isolation by distance. *Genetics*, 28: 114-138.
48. Wright S., 1946. Isolation by distance under diverse systems of mating. *Genetics*, 31: 39-9.

Genetic differentiation among the forked and monopodial beech (*Fagus orientalis* Lipsky) groups

Salehi Shanjani P., Asareh M.H. and Calagari M.

Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. of IRAN

Abstract

Forking defect is probably the most serious stem-quality problem in beech trees. Forking defect greatly reduces wood yield and wood quality. For tree breeding program, it is important to know about the causes of the forking and the genetic component of it. Genetic differentiation of forked and monopodial tree groups is described in seven naturally regenerated, mixed and pure beech (*Fagus orientalis*) populations along Hyrcanian forests consisting of seeds of ten forked and monopodial 100 trees (each tree 7 seeds). After testing 6 microsatellite loci originally developed for *F. sylvatica*, each seed was genotyped at four well-scorable microsatellite loci. Based on the mean genetic distance between seeds of each tree genetic structures were studied. Population differentiation was moderate and differed significantly ($F_{st}=0.13-0.22$) among forked and monopodial tree groups. Although, tendency of a strong family structure among seeds of forked and monopodial genotypes is obvious, but the results show that population genetic structures are also influenced by unpredictable factors such as wind direction at anthesis and can be therefore, varied from year to year. It is recommended that seed collections should cover large areas in order to prevent a preponderance of few families and a reduction of the adaptive potential of the next generation.

Keywords: *Fagus orientalis*, microsatellites, genetic differentiation, beech, Iran